

Ministério da Saúde

FIOCRUZ

Fundação Oswaldo Cruz



ESCOLA NACIONAL DE SAÚDE PÚBLICA
SERGIO AROUCA
ENSP

Denise Alves de Lima Lyra

Diagnóstico da Situação Epidemiológica da Leishmaniose Visceral Canina na Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro-RJ

Rio de Janeiro

2021

Denise Alves de Lima Lyra

Diagnóstico da Situação Epidemiológica da Leishmaniose Visceral Canina na Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro-RJ

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Orientador: Dr. Raimundo Wilson de Carvalho.

Rio de Janeiro

2021

Título do trabalho em inglês: Diagnosis of the Epidemiological Situation of Canine Visceral Leishmaniasis in Ilha da Marambaia, municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro-RJ.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Catálogo na fonte
Fundação Oswaldo Cruz
Instituto de Comunicação e Informação Científica e Tecnológica em Saúde
Biblioteca de Saúde Pública

L992d Lyra, Denise Alves de Lima.
Diagnóstico da situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina na Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro-RJ / Denise Alves de Lima Lyra. — 2021.
120 f. : il. color. ; mapas ; tab.

Orientador: Raimundo Wilson de Carvalho.
Tese (doutorado) – Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2021.

1. Leishmaniose Visceral. 2. Cães. 3. Demografia. 4. Fatores Sociais. 5. Meio Ambiente. 6. Fatores de Risco. 7. Epidemiologia. 8. Ensaio de Imunoadsorção Enzimática. I. Título.

CDD – 23.ed. – 616.9364

Denise Alves de Lima Lyra

Diagnóstico da Situação Epidemiológica da Leishmaniose Visceral Canina na Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro-RJ

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública e Meio Ambiente, do Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, como requisito parcial para obtenção do título de Doutora em Ciências na área de Saúde Pública e Meio Ambiente.

Aprovada em: 25 de agosto de 2021.

Banca Examinadora

Prof. Dr. Antônio Nascimento Duarte
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública

Prof. Dr. Antonio Teva,
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública

Prof. Dr. Ronald Rodrigues Guimarães
Universidade Estácio de Sá

Prof. Dr. Renato da Silva Jr
Fundação Oswaldo Cruz – Instituto Oswaldo Cruz

Prof. Dr. Raimundo Wilson de Carvalho
Fundação Oswaldo Cruz – Escola Nacional de Saúde Pública

Rio de Janeiro

2021

Ao meu amado pai, Levy Alves de Lima, que a vida inteira foi meu maior exemplo de força e determinação. Deus o levou aos seis meses do início do doutorado, mas sua presença sempre esteve comigo, em todos os momentos.

Pai, eu senti sua falta todos os dias, mas meu amor me deu forças para chegar até aqui.

Te amarei até o meu último suspiro!

AGRADECIMENTOS

Agradeço antes de mais nada, à Deus!! Foi Ele que me mostrou que desistir de tentar não era a melhor opção. Vencer as dores, o desânimo, o luto e as lutas foram uma questão de sobrevivência e fé. Obrigada, meu Deus!

A minha mãe, Dulce Maria Gomes de Lima e meus irmãos, por terem entendido o quão importante este momento era para mim. Me ausentei algumas vezes, várias vezes, mas acreditem, foi tudo pensando em vocês. Nós conseguimos!!! O nosso título chegou!!

Ao meu orientador Dr. Raimundo Wilson de Carvalho, que no meio da confusão, segurou a minha mão e me deu a segurança que eu precisava para chegar até aqui. Quase no fim, ele chegou para dar sentido a um trabalho que nem eu mais acreditava.

Ao meu incansável colaborador Dr. Antônio Teva!!! Trabalhar ao lado deste homem é ter uma verdadeira aula de humildade, humanidade e uma inteligência que nunca vi igual. Ah Teva!!! Me pergunto todos os dias como teria sido tudo sem você...

A Dra. Janaina Pinho da Silva, chefe do Departamento de Ciências Biológicas, por ter acreditado em mim, e por ter lutado para que eu pudesse retornar a minha área de estudo.

A Dr. Elvira Maria Godinho de Seixas, por ter me aberto as portas para o doutorado, por ter acreditado e confiado em mim e ter me dado o melhor de todos os presentes, permitindo o meu retorno ao Departamento de Ciências Biológicas, o lugar onde comecei a escrever minha história na Fiocruz.

Aos coordenadores do programa de pós-graduação stricto sensu Saúde Pública e Meio Ambiente professores Dra. Andréa Sobral de Almeida e Dr. André Reynaldo Santos Perissé, pelo carinho e cuidado conosco, e pelo pronto atendimento a cada chamada nossa, os alunos da pós-graduação. O meu sincero muito obrigada!

As lindas professoras Dra. Ariane Leites Laurentis e Dra. Liliane Reis Teixeira, coordenadoras do programa de pós-graduação no ano do meu ingresso, por todo carinho, amizade, simpatia e solidariedade. Aquelas que tiraram minha bolsa de estudos da “cartola” quando eu já não tinha mais recursos para continuar o doutorado. Vocês são lindas em todos os sentidos!

A Dra. Fernanda Nunes Santos, por sua importante colaboração inicial no meu trabalho e na minha vida. Os desencontros fazem parte da caminhada, mas os reencontros também. E eu acredito nisso!

Ao meu grande amigo Luis Sauchay Romero pela ajuda incansável nas análises estatísticas, pela paciência e parceria nos meus dois últimos anos de doutorado. Muito obrigada, meu amigo querido!!

Aos amigos técnicos laboratoriais e de trabalho de campo, César dos Santos Ponte, Antônio Meira, Nilton Francisco da Conceição, Silvio Montenegro Marins, Ronei de Oliveira Dutra, Sidnei da Silva Alves e Wallace Guimarães Osório que dividiam comigo o pânico das travessias para a Ilha da Marambaia, as horas intermináveis de caminhada, as noites geladas e o prazer de estar naquele lugar encantador. Vou morrer de saudades!

Aos meus eternos amigos do Departamento de Ciências Biológicas, Emilson Domingos da Silva, Silvio de Souza Alves Montenegro Marins, Marcos Quintela da Silva por tanta amizade e parceria ao longo de todos esses anos e a partir de agora, por toda minha vida. Eu amo vocês!!!

Ao CADIM/Marinha do Brasil por gentilmente nos receber e nos acomodar nos hotéis de trânsito para a realização deste estudo.

A CAPES pela bolsa de estudos que foi fundamental para minha formação.

Aos meus amigos, minha mais nova família de BioManguinhos, Sara Farias, Mariana Masello, Felipe Consoline e Leonardo Secundino por serem tão solidários e tão parceiros em tão pouco tempo de convivência. Eu já amo vocês de coração!! Obrigada por coisas que só nós cinco sabemos!!!

A todos os professores do curso do Programa de Saúde Pública e Meio Ambiente, em especial aqueles que foram mais que professores, e sim grandes amigos.

Ao meu grupo do WhatsApp “Razão que Crer” que me mostrou, através da razão, que os cientistas podem e devem falar e acreditar na palavra de Deus. Fé e ciências podem andar juntas sim!

Pai

*Eu escreveria um milhão de páginas em agradecimento a você, inteiramente para você...,
mas não temos muito tempo. Prometo ser breve...*

*Sei que no dia de hoje, ninguém ficaria mais feliz, mais orgulhoso do que o senhor... Já
posso ver em minha imaginação seus olhinhos brilhando e dizendo: “minha filha é
Doutora” ... sim pai, a filha do pedreiro humilde e semialfabetizado agora é uma doutora
da Fundação Oswaldo Cruz.*

*Mas Deus quis diferente...o coral celestial estava ansioso por sua chegada e não pode
esperar mais...você partiu aos seis meses do meu início no doutorado.*

*Todos os dias são difíceis, uns mais do que os outros, hoje por exemplo...queria tanto seu
abraço, queria tanto ver sua alegria! Tem dias que dói tanto que parece que me falta o
ar... mas prometi seguir! Prometi chegar até o fim, mesmo vivendo no frio que o silêncio
de sua partida deixou em meus dias...*

*Hoje meu ciclo como aluna da Fiocruz se encerra...e sei que onde quer que o senhor esteja,
está muito feliz e orgulhoso. Ainda que tenha sido dessa maneira tão sofrida, eu consegui,
pai. Eu te dei o título que tanto queria. E agora prometo honrá-lo assim como honro seu
sobrenome. Prometo lutar pela saúde pública, aquela que cuidou do senhor a vida inteira e
que cuida de tantas outras pessoas.*

*Prometo continuar te dando orgulho, e te pedir perdão por cada vez que eu falhar!
O senhor sempre será o meu maior exemplo e o meu grande incentivador, até o fim dos
meus dias...*

*Como eu sempre disse, “Doutora pra ele” ... e o “ele” era sempre o senhor...
Eu te amo, pai!*

RESUMO

A Ilha da Marambaia, localizada no município de Mangaratiba é uma área de proteção ambiental, administrada pela Marinha do Brasil. A população residente é composta por militares e civis. Esta região apresenta casos de leishmaniose visceral canina desde 2009, porém sem registro de casos humanos até o momento. A existência de mata nas proximidades das residências, a presença de cães soro reativos para a *Leishmania infantum* circulando livremente, a ocupação humana desordenada, assim como a ausência de saneamento básico e de tratamento de resíduos são fatores que podem estar associados a manutenção da zoonose na região. Tendo como base essas informações, este estudo objetivou avaliar a magnitude da doença na ilha através de inquérito sorológico censitário da população canina e entomológico, analisar os fatores sociodemográficos e ambientais que possam estar correlacionados com a transmissão da doença, bem como sua distribuição espacial. A infecção canina foi avaliada através dos testes TR-DPP® como triagem e o ELISA como confirmatório. De um total de 75 cães avaliados, quatro revelaram-se positivos para TR-DPP® e deles três foram confirmados no ELISA, apurando-se prevalência de 5%. O inquérito entomológico indicou baixa densidade dos vetores, com apenas 135 espécimes pertencentes a duas espécies somente, foram elas: *Nyssomyia intermedia*, com 129 e *Migonemyia migonei*, com 6, este último já incriminado na transmissão da *L. infantum*. Observou-se que a população civil da Ilha vive em condições precárias de saneamento, com acúmulo de matéria orgânica no peridomicílio e muito próxima à mata nativa, fatores que favorecem a presença e adaptação dos flebotomíneos ao ambiente. Conforme a distribuição espacial apurou a leishmaniose visceral canina está concentrada na região Leste e Oeste, onde se detectou também a maior vulnerabilidade social e ambiental da ilha. Os resultados obtidos apontam para a necessidade de se manter a ilha sob vigilância rotineira anual, desenvolvendo-se inquéritos canino e entomológico e busca ativa e ou passiva de casos humanos. Além de orientação sanitária da população ilhoa, uma vez que, a prevalência apurada foi cinco vezes maior que o limite considerado de segurança para o Ministério da Saúde.

Palavras-Chaves: leishmaniose visceral canina; inquérito canino; distribuição espacial; fatores sociais e ambientais.

ABSTRACT

Ilha da Marambaia, located in Mangaratiba Township is an area of environmental protection, administered by the Brazilian Navy. Military and civilians constitute the resident population. This region has been reporting cases of canine visceral leishmaniasis since 2009, although without human cases until now. The existence of a forest near the residences, the presence of dogs carriers *Leishmania infantum* infection circulating freely around the Island, the disorderly human occupation, often without adequate housing conditions, as well as the lack of sanitation and of adequate residues treatment are factors that may be associated with the maintenance of zoonosis in this region. Based on this information, this research aimed to evaluate the disease magnitude in the island through a census survey of the canine population and entomological study, to analyze the sociodemographic and environmental factors that may be correlated with disease transmission, as well as its spatial distribution. Canine infection was assessed using TR-DPP® tests as a screening and ELISA as confirmatory. Of 75 dogs tested, four were positive for TR-DPP® and three of them confirmed in the ELISA test, with a prevalence of 5%. The entomological survey indicated a low density of the sandflies, with 135 caught specimens belonging to two species, *Nyssomyia intermedia* and *Migonemyia migonei*, the latter already reported as *L. infantum* vector. Moreover, the civilian population of the Island lives in precarious conditions of sanitation, with accumulation of organic matter in the backyard and very close to the native forest, factors that foment the presence and development of the insects in the environment. As the spatial distribution found, canine visceral leishmaniasis is concentrated in the East and West regions, exactly where the greatest social and environmental vulnerability of the island was also detected. The results obtained, point out to the need to keep the island under annual environmental and epidemiological surveillance as routine, developing canine and entomological surveys, active and passive search for human cases. In addition to health guidance for the island population, since the prevalence was found to be five times greater than the considered safety limit for the Ministry of Health.

Key words: canine visceral leishmaniasis; canine survey; spatial distribution; social and environmental factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

| | | |
|-----------|---|----|
| Figura 1 | Ciclo biológico da leishmaniose visceral..... | 21 |
| Figura 2 | Ciclo biológico da subfamília Phlebotominae..... | 23 |
| Figura 3 | Mapa de distribuição geográfica mundial da LV – Ano 2018..... | 35 |
| Figura 4 | Mapa de Localização da Ilha da Marambaia no Estado do Rio de Janeiro..... | 44 |
| Figura 5 | Locais de desenvolvimento do estudo na Ilha da Marambaia..... | 45 |
| Figura 6 | Pontos onde foram colocadas as armadilhas para a captura dos flebotomíneos. | 47 |
| Figura 7 | Vetor Flebotomíneo <i>Nyssomyia intermedia</i> após o processo de clarificação visualizado por um microscópio óptico..... | 48 |
| Figura 8 | Espermateca – estrutura de classificação dos flebotomíneos visualizada pelo microscópio óptico após processo de clarificação..... | 48 |
| Figura 9 | Flebotomíneos processados e armazenados em microtubos..... | 49 |
| Figura 10 | Ilustração do teste rápido TR-DPP..... | 52 |
| Figura 11 | Mapa de distribuição da população canina nas regiões estudadas na Ilha da Marambaia – período 2018 a 2021..... | 65 |
| Figura 12 | Mapa de distribuição dos cães infectados por <i>L. infantum</i> na Ilha da Marambaia..... | 66 |
| Figura 13 | Mapa de distribuição da variável ambiental presença de galinheiro ao longo das regiões Leste-Oeste na Ilha da Marambaia..... | 67 |
| Figura 14 | Mapa de distribuição da variável ambiental presença de bananeira ao longo das regiões Leste-Oeste na Ilha da Marambaia..... | 67 |
| Figura 15 | Mapa de distribuição da presença do vetor na região Leste na Ilha da Marambaia – período 2018 a 2021..... | 68 |

LISTA DE TABELAS

| | | |
|----------|--|-------|
| Tabela 1 | Informações sociodemográficas e de condições de moradia da população estudada..... | 57/58 |
| Tabela 2 | Abundância de espécies de flebotomíneos da Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, capturadas entre agosto de 2018 e maio de 2021..... | 60 |
| Tabela 3 | Estratificação das espécies de flebotomíneos de acordo com o ecótono onde foram capturados na Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, capturas realizadas entre agosto de 2018 a maio de 2021..... | 60 |
| Tabela 4 | Prevalência da infecção por <i>Leishmania infantum</i> entre cães domésticos apuradas através dos testes imunocromatografia (Dual Path Platform, TR-DPP) e enzyme linked immunosorbent assay (ELISA)..... | 61 |
| Tabela 5 | Inferência a cerca de alguns fatores de risco para a transmissão da <i>Leishmania infantum</i> para cães domésticos residentes na Ilha da Marambaia, tendo em conta a presença e ausência do vetor biológico em número absoluto. Estudo realizado entre 2019 e 2020..... | 62 |
| Tabela 6 | Valores estimados pela análise de regressão logística dos fatores de risco significativos relacionados a presença do vetor biológico da <i>Leishmania infantum</i> na Ilha da Marambaia..... | 63 |

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|--------------------|--|
| μL | Microlitros |
| AIDS | Síndrome da Imunodeficiência Adquirida |
| BHC | Hexaclorobenzeno |
| CADIM | Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia |
| DAT | teste de aglutinação direta |
| DCB | Departamento de Ciências Biológicas |
| DDT | Diclorodifeniltricloroetano |
| DNA | ácido desoxirribonucleico |
| ELISA | enzyme-linked immunosorbent assay (ensaio de imunoabsorção enzimática) |
| ENSP | Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca |
| GPS | Sistema de Posicionamento Global |
| IBGE | Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística |
| IgG | Imunoglobulina G |
| LV | leishmaniose visceral |
| LVC | leishmaniose visceral canina |
| LVH | leishmaniose visceral humana |
| MAPA | Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento |
| mL | Mililitros |
| $^{\circ}\text{C}$ | graus Celsius |
| PCR | reação da polimerase em cadeia |
| pH | potencial hidrogênio |
| PMO | punção de medula óssea |
| qPCR | reação da polimerase em cadeia quantitativa (em tempo real) |
| RIFI | reação da imunofluorescência indireta |
| rK 39 | antígeno recombinante |
| RNA | ácido ribonucleico |
| Rpm | rotação por minuto |
| WHA | World Health Assembly (Assembleia Mundial de Saúde) |
| WHO | World Health Organization (Organização Mundial de Saúde) |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 14 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 17 |
| 2.1 A LEISHMANIOSE VISCERAL (LV)..... | 17 |
| 2.2 O AGENTE ETIOLÓGICO..... | 19 |
| 2.3 O VETOR..... | 22 |
| 2.4 OS RESERVATÓRIOS..... | 25 |
| 2.5 A LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA (LVC)..... | 27 |
| 2.6 FATORES ASSOCIADOS A OCORRÊNCIA DA LVC..... | 28 |
| 2.7 DIAGNÓSTICO CANINO..... | 29 |
| 2.8 FATORES SOCIAIS E AMBIENTAIS RELACIONADOS À TRANSMISSÃO DA LV | 31 |
| 2.9 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA..... | 33 |
| 2.10 APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA HUMANA..... | 35 |
| 2.11 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA HUMANA..... | 37 |
| 2.12 CONTROLE DA DOENÇA..... | 39 |
| 3 OBJETIVOS..... | 42 |
| 3.1 OBJETIVO GERAL..... | 42 |
| 3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 42 |
| 4 MATERIAL E MÉTODOS..... | 43 |
| 4.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ÁREA DE ESTUDO..... | 43 |
| 4.2 DESENHO DE ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA E HUMANA | 46 |
| 4.3 ESTUDO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA | 47 |
| 4.3.1 A CAPTURA DOS ESPÉCIMES..... | 47 |
| 4.3.2 IDENTIFICAÇÃO E PROCESSAMENTO DOS FLEBOTOMÍNEOS. | 48 |
| 4.4. AVALIAÇÃO DO PERFIL SÓCIODEMOGRÁFICO DA POPULAÇÃO HUMANA | 49 |
| 4.5 ESTUDO DO RESERVATÓRIO CANINO..... | 50 |
| 4.5.1 Exame Clínico..... | 50 |
| 4.5.2 Coleta Sanguínea Dos Cães Domésticos..... | 51 |
| 4.5.3 Processamento Dos Testes Sorológicos..... | 51 |
| 4.5.3.1 Teste Rápido Imunocromatográfico Dual Path Plataform (Dpp)..... | 51 |

| | |
|---|------------|
| 4.5.3.2 Teste Imunoenzimático (Elisa)..... | 52 |
| 4.6 GEORREFERENCIAMENTO E ANÁLISE ESPACIAL DA PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELA LEISHMANIA INFANTUM NA POPULAÇÃO CANINA DA ILHA DA MARAMBAIA E FATORES SOCIAIS E AMBIENTAIS RELACIONADOS COM A TRANSMISSÃO DA LVC..... | 56 |
| 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS FATORES EPIDEMIOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA LVC E CARACTERÍSTICAS SOCIODEMOGRÁFICAS E AMBIENTAIS PERIDOMICILIARES DA POPULAÇÃO CIVIL DA ILHA DA MARAMBAIA..... | 54 |
| 4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS..... | 55 |
| 5 RESULTADOS..... | 56 |
| 5.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DOMICILIARES DA POPULAÇÃO CIVIL RESIDENTE NA ILHA..... | 56 |
| 5.2 CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA | 59 |
| 5.3 INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA POPULAÇÃO CANINA..... | 60 |
| 5.4 FATORES DE RISCO DA INFECÇÃO CANINA..... | 64 |
| 5.5 DISPERSÃO GEOGRÁFICA DOS CASOS DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA ASSOCIADOS COM A PRESENÇA DO VETOR, ALÉM DE OUTROS FATORES DE RELEVÂNCIA SOCIAL E AMBIENTAL..... | 65 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 69 |
| 7 CONCLUSÃO..... | 78 |
| 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 79 |
| REFERÊNCIAS..... | 80 |
| APÊNDICE A - QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICAS E CONDIÇÕES DE MORADIA | 106 |
| APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO APLICADO AOS PARTICIPANTES DO ESTUDO | 111 |
| APÊNDICE C - FICHA DE INVESTIGAÇÃO E INFORMAÇÕES CANINA..... | 116 |
| APÊNDICE D - TERMO DE CONSENTIMENTO PARA COLETA E ANÁLISE DA AMOSTRA CANINA..... | 119 |
| APÊNDICE E - TERMO DE RECUSA DE COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA CANINA..... | 120 |

1 INTRODUÇÃO

A Ilha da Marambaia, por sua posição geográfica estratégica, serviu de ponto de recepção das embarcações negreiras oriundas da África, que traziam escravos que se destinavam ao trabalho nas lavouras de café (MCMICHAEL, 2004). A população civil que reside na Ilha da Marambaia é de origem variada. Podem ser encontrados descendentes de diversos grupos e etnias, que por razões diversas passaram por lá. A população local atualmente é composta de descendentes de índios tupis, familiares e empregados do Comendador Breves, primeiro proprietário da Ilha, negros, trabalhadores e alunos da extinta Escola de Pesca Darcy Vargas (NÓBREGA, 2004). Essas características de formação e das condições que originaram a atual situação da população da ilha caracterizam uma historicidade que revela o processo de reprodução social da população no seu território distinto, onde as condições sociais, econômicas, culturais e políticas estão ligadas ao processo de desenvolvimento social e, no caso em tela, ao processo saúde-doença e às interpretações que a população tem sobre o mesmo (CASTELLANOS, 1997). Tal processo antropocêntrico também vem resultar na formação de um sistema populacional humano, cultural, social, ambiental, físico-geográfico, que não se pode descaracterizar como um sistema social.

O Censo de 2010 declara que a população civil da Ilha da Marambaia possui 94,1 % de negros e pardos dos 424 moradores; são alfabetizados 177 mulheres e 213 homens, a maior parte das mulheres possuem idade entre 15 e 19 anos e maior parte dos homens possuem idade entre 45 e 49 anos. Existem 152 residências das quais 89% são próprias, a maior parte com média de 3 moradores por residência, com 9% das residências possuindo formas de abastecimento de água alternativas, 99 % das residências possuem banheiros ou sanitários, a maior parte das residências tem o lixo coletado e maior a parte das residências não possuía energia elétrica à época do censo (IBGE, 2010). Parte dessas informações não são exatas ou já estão desatualizadas: as residências não são próprias, pois que nenhum residente é proprietário da terra na Ilha da Marambaia, são na realidade posseiros, com demanda judicial para definir tal situação. A recente introdução da rede de abastecimento elétrico modificou sobremodo a situação, de modo que a totalidade das residências atualmente possui energia elétrica.

A comunidade quilombola tem grande interação com a paisagem natural da ilha, caracterizada pela Mata Atlântica bem preservada, além de áreas de restinga, campinas, mangues, igarapés e praias. Tal paisagem congrega grande quantidade de espécies animais

e vegetais que podem significar risco sanitário, quando interagem com vetores biológicos e ou mecânicos, com agentes etiológicos variados e hospedeiros silvestres e ou domésticos, tornando possível a manutenção da patobiocenose, moldada pelos aspectos paisagísticos e abióticos. O homem ao adentrar esse ambiente pode passar a fazer parte do ciclo de diversos patógenos. O estudo, o conhecimento e o monitoramento dessas interações servem de subsídios a programas de educação sanitária e ambiental, assim como para possíveis marcação de áreas de risco a serem evitadas pela comunidade (GUIMARÃES *et al.* 2016).

O panorama epidemiológico não deixa dúvidas sobre a gravidade da situação e a franca expansão geográfica da LV no país. De 1980 a 2008 foram notificados mais de 70 mil casos, levando mais de 3.800 pessoas à morte. O número médio de casos registrados anualmente cresceu de 1.601 (1985-1989), para 3.630 (2000 a 2004), estabilizando-se a partir de então. Na década de 1990, apenas 10% dos casos ocorriam fora da região Nordeste, mas em 2007 esta cifra chegou a 50% dos casos. Entre os anos de 2006 e 2008, a transmissão autóctone da LV foi registrada em mais de 1.200 municípios em 21 Unidades Federadas (WERNECK, 2010).

A região da Ilha da Marambaia vem apresentando casos de leishmaniose visceral canina (LVC) desde outubro de 2009 (casos diagnosticados e informados pelo então Instituto de Pesquisa Evandro Chagas, atual Instituto Nacional de Infectologia).

Aspectos descritos na literatura como favoráveis a transmissão da LVC, podem ser facilmente observados na região. Condições precárias de saneamento básico, moradias muito próximas as regiões de mata, cães circulando livremente por toda a ilha, presença de animais domésticos e silvestres no ambiente peridomiciliar, acúmulo de matéria orgânica no solo são alguns fatores condicionantes da vulnerabilidade a transmissão da zoonose na Ilha da Marambaia.

De acordo com a literatura e com o Programa de Controle da Leishmaniose Visceral geralmente os casos humanos são notificados posteriormente aos casos caninos, o que torna compreensível as medidas extremas de controle da LVC quando comparadas aos casos de LVH.

Partindo da hipótese que o ambiente condiciona e é definidor, de certa forma, do aparecimento e da disseminação dos casos de LV, considera-se fundamental a realização deste estudo envolvendo a cadeia epidemiológica da LV na Ilha da Marambaia, visando sobretudo o controle do ciclo de transmissão desta parasitose. Faz-se necessário um

compromisso social, a implementação de políticas públicas eficientes para evitar que a LV permaneça como uma falha sanitária nessa região.

REVISÃO DA LITERATURA

2.1 A LEISHMANIOSE VISCERAL (LV)

Na 16ª Assembleia Mundial de Saúde, emitiram-se resolução reconhecendo a infecção causada pelos parasitos do gênero *Leishmania* como uma das doenças tropicais mais negligenciadas no mundo. À época, mais de 12 milhões de indivíduos encontravam-se infectados, com pelo menos dois milhões de casos novos a cada ano e 350 milhões de pessoas consideradas sob risco de contrair uma das formas clínicas da doença, principalmente nas áreas de maior pobreza. Dentro das áreas endêmicas o risco de infecção aumenta conforme as condições precárias de ocupação do espaço físico (CONCEIÇÃO-SILVA & ALVES, 2014).

É causada pelas espécies *Leishmania donovani* (Laveran & Mesnil, 1903) e *Leishmania infatum* (Nicolle, 1908), contudo, alguns casos de infecção por *Leishmania tropica* (Whight, 1903) também têm sido relatados (BRASIL, 2011).

A LV, ou calazar, é uma doença agudo crônica grave, potencialmente fatal para humanos, cuja letalidade pode alcançar 10% quando não se adota o tratamento adequado (GONTIJO & MELO, 2004). Acomete preferencialmente órgãos e vísceras do sistema fagocítico mononuclear, como fígado, baço, gânglios e medula óssea, podendo também estar presente em outros órgãos como rins, pulmões e gânglios intestinais. Pode se apresentar com sintomatologia variada, assim como manifestações clínicas diferenciadas a depender do sistema imune do indivíduo acometido, assim como da virulência.

Sua distribuição é mundial e a espécie envolvida depende de cada área endêmica, ocasionando pequenas diferenças entre as infecções nas Américas, Europa, África e Ásia. Nas duas últimas décadas, deu-se grande expansão de casos nos focos naturais do planeta e, apesar dos esforços perpetrados pelas autoridades sanitárias no controle dos vetores biológicos e dos reservatórios dos agentes parasitários, a LV se manteve em expressiva e rápida expansão territorial, acometendo indivíduos de diferentes faixas etárias. No Brasil, epidemias urbanas foram reportadas em várias cidades e a doença também tem sido verificada como infecção oportunista em pacientes com AIDS, à semelhança do que se observa no Sul da Europa (WHO, 2010; BARBOSA *et al.*, 2013; MARCONDES & ROSSI, 2013).

As manifestações clínicas da infecção variam desde a infecção assintomática ou oligossintomáticas até a doença progressiva e potencialmente fatal. A variedade de manifestações clínicas decorrentes da infecção depende da habilidade que o parasito tem em evadir-se dos mecanismos de defesa mediante complexa interação com o hospedeiro (PEARSON & SOUZA, 1996; JERÔNIMO *et al.* 2000; TEIXEIRA *et al.* 2006). A maioria dos indivíduos infectados por *L. infantum* não apresenta sinais clínicos da doença e, em regiões endêmicas, apenas 20% dos infectados desenvolvem a forma clássica da zoonose. O surgimento das manifestações clínicas pode estar relacionado às condições ambientais, à idade, ao estado nutricional e a resposta imune inicial do indivíduo (JERÔNIMO *et al.* 2000; CALDAS *et al.* 2002; GAMA *et al.* 2004).

O período de incubação da LV varia de dez dias a oito meses, podendo chegar a até quatro anos. É predominante em crianças nos primeiros anos de vida, apresentando-se de forma especialmente grave não só na população infantil, como também em idosos e em pessoas portadoras de imunodeficiência, originando quadros de difícil diagnóstico e tratamento (NETO, 1978; CRUZ *et al.* 2002; ABDELMOULA *et al.* 2003; PISCOPO & MALLIA, 2007;). Na fase subaguda ou crônica produz febre, adinamia, inapetência, perda de peso, palidez e aumento do volume abdominal decorrente da hepatoesplenomegalia e da fraqueza da parede abdominal. Os sintomas podem persistir por semanas ou meses e o paciente pode apresentar-se debilitado e incapacitado de exercer suas atividades usuais à época do diagnóstico. A presença de calafrios pode causar confusão com o diagnóstico de outros agravos tais como, a malária, bacteremia. Além desses sintomas, a hepatoesplenomegalia, característica da doença, está presente na maioria dos pacientes e o aumento do baço quase sempre é mais evidente que o aumento do fígado (DESJEUX, 1996; HERWALDT, 1999; JERONIMO, 2005; OLIVEIRA *et al.* 2006; CAVALCANTE, 2008).

O protozoário é transmitido para humanos e os outros animais através da picada de fêmeas de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia* (França, 1924) infectadas com o bioagente. A principal espécie transmissora no Novo Mundo é a *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), contudo outras espécies estão envolvidas também na transmissão, são elas, *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) e *Lutzomyia evansi* e *Lutzomyia forattinii* Galati *et al.*, (1985) (GALATI *et al.*, 1985; FELICIANGELI *et al.*, 1999; BEJARANO *et al.*, 2001). Outras formas de transmissão já foram descritas: congênicas, injeção de drogas e transfusão sanguíneas (QUINNELL & COURTNEY, 2009; CRUZ *et al.*, 2002; BELO *et al.*, 2013)

No Brasil, o Programa de Controle de Leishmaniose Visceral (PCLV) da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde consiste em três tipos de ações: diagnóstico e eliminação dos cães infectados, assintomáticos ou sintomáticos, visando reduzir a fonte de infecção para o vetor; diagnóstico e tratamento precoce de indivíduos doentes; e o controle da fauna do inseto vetor em áreas onde há casos humanos. Porém, mesmo sendo orientações de âmbito nacional, diversos estudos têm questionado a real efetividade das ações supracitadas (TESH, 1995; PARANHOS-SILVA *et al.* 1996).

2.2 O AGENTE ETIOLÓGICO

Os protozoários do gênero *Leishmania* são parasitos digenéticos pertencentes à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae. Esse parasito tem duas formas principais distintas, a promastigota que possui flagelo aparente, encontrada no trato digestório do inseto vetor (Subfamília: Phlebotominae) e amastigota, que possui flagelo inaparente, parasito intracelular obrigatório encontrado em hospedeiros vertebrados (SILVA *et al.* 2014). Nessa família está alocado o gênero *Lutzomyia* que compreende aproximadamente 30 espécies, das quais cerca de 20 são patogênicas para a espécie humana, destacando-se as espécies *Le. donovani*, *Le. infantum* e *L. braziliensis* principais causadoras das leishmanioses que ocupam lugar de destaque, devido à sua importância médica e econômica e também por representar um dos maiores problemas de saúde pública no Brasil (RÊGO, 2013).

Um conceito ainda bastante utilizado, e que por isso merece destaque, é o da classificação das espécies de *Leishmania* em complexos. Com base em critérios extrínsecos, tais como comportamento do parasito em cultura em hamster, as espécies de *Leishmania* foram reunidas em três complexos por Shaw e Lainson (1972), dos quais destacamos o complexo *Leishmania donovani*, por incluir as espécies *Leishmania donovani*, encontrada no subcontinente Indiano, Ásia e África e *Leishmania infantum*, no Mediterrâneo e América do Sul, responsáveis pela etiologia da leishmaniose visceral (DANTAS-TORRES, 2006). A dispersão das espécies de *Leishmania* em vários ambientes também favorece a adaptação deste parasito a diferentes mamíferos. É conhecido que o mesmo parasito se comporta de maneira diferente em regiões distintas, isso não só em termos de relação parasito-hospedeiro, mas também no que diz respeito à sensibilidade a fármacos (CUPOLILLO *et al.* 2014).

São organismos unicelulares contendo uma organela especializada, denominada cinetoplasto e possuem ciclo digenético, ou seja, que requer a participação de mais de um hospedeiro para completar o ciclo biológico um vertebrado, como por exemplos os roedores, marsupiais, canídeos e primatas e um invertebrado, o flebotomíneo. Humanos podem ser considerados hospedeiros acidentais, sendo dispensáveis no ciclo do parasito (FOCACCIA, 2010).

Em relação ao ciclo biológico da *Leishmania* spp., tais parasitos podem modificar a qualidade de vida de seus hospedeiros por interferirem na homeostasia destes. Provavelmente, isso se deve a adaptação genética associada à mudança de microambiente e à existência de dependência metabólica com vias redirecionadas às formas promastigotas e amastigotas do parasito, em ambos os casos, com expressão gênica regulada nas fases do ciclo de vida.

O ciclo biológico (Figura 1) se dá da seguinte maneira: 1-O flebótomo infectado pela promastigota metacíclica, inocula o parasito no hospedeiro, homem e ou animal no momento do repasto sanguíneo; 2- No organismo do hospedeiro vertebrado essas formas promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos e outras células fagocitárias; 3- No interior das células fagocitárias, os protozoários permanecem no interior de uma estrutura denominada fagolisossomo formada no interior da célula em função da presença do parasito; 4, 5- Dentro do fagolisossomo a forma promastigota se transforma em amastigota onde se multiplicam por divisão binária; 6,7 e 8. A divisão parasitária rompe a membrana celular, e as formas amastigotas são liberadas no espaço intersticial infectando novas células; a partir desse momento, os parasitos de tropismo viscerotrópico disseminam-se para os órgãos alvos; 9- As formas amastigotas livres ou no interior das células fagocitárias são as responsáveis pela infecção do flebótomo no próximo repasto sanguíneo; 10, 11, 12- O ciclo parasitário do flebótomo se inicia após a ingestão das amastigotas no momento do repasto sanguíneo, na porção anterior do tubo digestivo as células fagocíticas se rompem liberando as amastigotas que irão se transformar em promastigotas; 13 e 14- As formas promastigotas sofrem maturação se transformando em promastigotas metacíclicas que na porção posterior do tubo digestivo do vetor se multiplicam também por divisão binária e ali permanecem até que sejam inoculadas nos hospedeiros no momento em que o flebótomo realiza um novo repasto sanguíneo.

De acordo com Cupollilo *et al.* (2014), o protozoário do gênero *Leishmania* é notável pelo grande número de espécies descritas. Estudos empregando métodos moleculares para análises filogenéticas têm sugerido que realmente existe uma variabilidade elevada para esse gênero. Porém, a validade taxonômica de várias espécies de *Leishmania* ainda tem sido constantemente discutida.

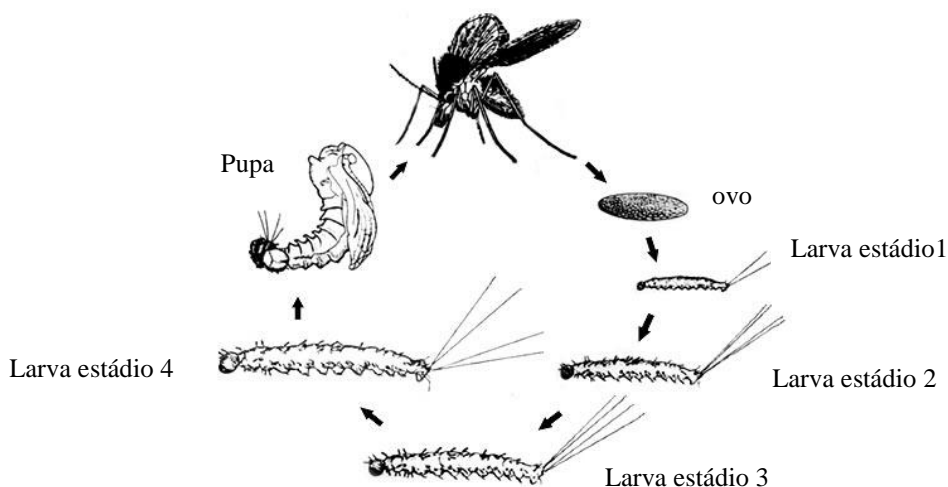
2.3 O VETOR

Os dípteros da família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, conhecidos como flebotomíneos são os vetores dos agentes etiológicos causadores das leishmanioses, (FEITOSA & CASTELON, 2006). São conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquiras, birigui e asa dura, a depender da região geográfica. No Brasil, três espécies, até o momento foram implicadas na transmissão do protozoário, *Lutzomyia longipalpis*, *Lutzomyia cruzi*. A primeira espécie é considerada a principal transmissora no Brasil (LAINSON & RANGEL. 2003), juntamente com a segunda, que por sua vez, foi associada à transmissão do mesmo protozoário no Estado de Mato Grosso do Sul na última década do século passado (SANTOS *et al.* 1998), consideram-se ainda como transmissora a espécie *Lutzomyia fischeri*, incriminada que foi no estado de São Paulo (BRASIL, 2006). A competência vetorial de *Lutzomyia migonei* para a transmissão de *L. infatum* ainda tem sido muito discutida (VELOSO, 2016).

Apresentam ampla distribuição geográfica, sendo encontrados sob as mais diversas condições climáticas e de altitude, em ambientes silvestres, rurais e até urbanos. São insetos pequenos que, em geral, medem de dois a quatro milímetros de comprimento; têm o corpo densamente coberto de pelos finos e longos. Outras características são: posição da cabeça formando um ângulo de 90° com o eixo longitudinal do tórax, asas grandes e hialinas e, quando vivos e em repouso, permanecem divergentes e em posição semiereta, o que lhes confere um aspecto peculiar. As pernas são compridas, e a extremidade posterior do abdome é bem diferenciada, nos machos é bifurcada e nas fêmeas pontuda ou ligeiramente arredondada (PAULA, 2010).

Esses artrópodes são holometabólicos, isto é, passam por todas as fases evolutivas dos insetos de modo geral. São elas: ovo, quatro estádios larvários, pupa e adulto (Figura 2).

Figura 2: Ciclo biológico da subfamília Phlebotominae



Fonte: <https://www.arca.fiocruz.br/>

Já os adultos apresentam voo saltitante, hábito que não lhes fornece ampla dispersão (RÊGO, 2013). A superfície corporal é bastante permeável apresentando revestimento quitinoso delgado, necessitando assim, abrigar-se em locais onde possam se proteger das mudanças bruscas que ocorrem no meio ambiente (AGUIAR *et al.*, 1987). Ambos os sexos se alimentam de sucos vegetais oriundos de néctar de flores ou de secreção de afídios ricos em carboidratos e somente as fêmeas são hematófagas, hematofagismo esse fundamental para a maturação folicular ovariana. (FORATTINI, 1973; KILLICK-KENDRICK, 1979; SOUZA *et al.* 1995). Algumas espécies alimentam-se de sangue apenas uma vez entre as posturas, enquanto outras podem tomar refeições sanguíneas múltiplas durante um único ciclo de oviposição, tornando-as vetores mais importantes (RANGEL & LAINSON, 2003). Por causa de suas dolorosas picadas, às vezes causadoras de reações alérgicas, são nitidamente notados pelo homem e pelos animais (SHERLOCK, 2003).

Algumas espécies são dotadas de alto grau de antropofilia, o que lhes confere importante papel na veiculação de patógenos os mais variados (FORATTINI, 1973; BRAZIL & BRAZIL, 2003). Atualmente mais de 900 espécies de flebotomíneos já foram descritas, e destas, cerca de 500 são encontradas nas Américas, mas apenas 40 são consideradas participantes da cadeia epidemiológica das leishmanioses. As formas imaturas têm habitat terrestre, desenvolvendo-se em locais ricos em matéria orgânica em decomposição, especialmente de natureza vegetal (REGO, 2013). No Brasil, já foram

registradas mais de 229 espécies, sendo 19 delas vetoras dos parasitos do gênero *Leishmania* (PIMENTA *et al* 2003, RANGEL & LAINSON 2003, SHIMABUKURO 2011).

Segundo Killick-Kendrick (1990), para a incriminação de uma espécie de flebotomíneo como vetora de *Leishmania* spp. diversos critérios devem ser satisfeitos. Os primeiros e considerados essenciais se referem à comprovação do comportamento antropofílico da espécie e o isolamento repetitivo e a identificação da mesma espécie de *Leishmania* nos flebotomíneos e em humanos. Os demais critérios que complementam a incriminação incluem a verificação se a referida espécie se alimenta frequentemente nos reservatórios habituais, se está presente em áreas onde o agente etiológico e a doença são encontradas, se a espécie permite o desenvolvimento do parasito em seu intestino e se este é capaz de transmitir o parasito através do repasto sanguíneo.

O principal vetor da LV no continente americano é *L. longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912), espécie que reúne fortes evidências quanto a sua competência vetorial, assim como está intimamente ligado ao processo de expansão da doença, já que revela ampla distribuição geográfica nas Américas (LAINSON & RANGEL, 2005). No Brasil, até o momento, não foi registrado nos estados do Acre, Amazonas e Santa Catarina, sendo registrado nos seguintes estados: Amapá, Alagoas, Bahia, Ceará, Distrito Federal, Espírito Santo, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio de Janeiro, Rio Grande do Norte, Rio Grande do Sul, Rondônia, Roraima, São Paulo e Tocantins (BRASIL, 2003; GALLARDO *et al.* 2013). Investigações recentes desenvolvidas no estado do Paraná registraram-na em área urbana do município de Foz do Iguaçu (VILELA *et al.* 2014). Ainda segundo o mesmo autor e de forma inequívoca, a história da epidemiologia da LV no Brasil revelou o importante papel desempenhado pelo vetor *L. longipalpis*. A habilidade de se alimentar frequentemente em animais domésticos e sinantrópicos, assim como sua notável antropofilia, favoreceu sua adaptação aos ambientes modificados, permitindo a manutenção do ciclo de transmissão no ambiente rural e, ao mesmo tempo, a dispersão da doença. Apesar de sua natureza silvestre, a capacidade adaptativa do vetor ao ambiente domiciliar foi observada nos estudos de Marzochi *et al.* (1985a; b) Marzochi & Marzochi (1994), Marzochi *et al.* (1994), Lainson e Rangel (2005).

A literatura tem registrado, com base em trabalhos de campo, o ecletismo de *L. longipalpis* em se alimentar em uma variada gama de mamíferos e aves, que inclui cães, porcos, equinos, gados e galinhas (RANGEL & LAINSON, 2003).

O conhecimento da biologia dos flebotomíneos, bem como o seu comportamento peri, intra e extradomiciliar associados as suas preferências alimentares são relevantes e fundamentais. Além disso, o papel vetorial de várias espécies de flebotomíneo ainda é desconhecido. É importante a realização de estudos de infecção e transmissão experimentais, os quais poderão comprovar o verdadeiro papel enquanto vetores, de espécies que hoje são conhecidas como prováveis transmissoras, mas que ainda permanecem sem evidências. Com a realização destes estudos poderão ser comparadas espécies suspeitas de serem vetoras em uma mesma área, definindo assim, juntamente com estudos de sazonalidade e longevidade, qual o vetor principal e o secundário, o que poderá auxiliar no controle vetorial das espécies envolvidas, contribuindo com as estratégias de controle e profilaxia da LV (NUNES *et al.* 1991; BRAZIL, 2012).

2.4 OS RESERVATÓRIOS

Reservatório é o hospedeiro no qual o agente infeccioso vive normalmente, se multiplica e, portanto, é uma fonte de infecção para outros animais (THRUSFIELD, 2004). Entretanto, buscando melhor definir o termo reservatório para LV, Dantas-Torres (2007) afirmou que para se incriminar um animal hospedeiro como reservatório de *Leishmania*, o parasito isolado do animal deve ser indistinguível daquele que pode ser encontrado no humano.

O encontro de um animal infectado não é suficiente para o considerarmos como um reservatório. Um animal infectado é um hospedeiro do parasito, mas sua importância na manutenção do ciclo de transmissão numa dada área dependerá das peculiaridades da interação parasito-hospedeiro, que é o determinante para competência da espécie animal como papel ou não de reservatório. A interação parasito-hospedeiro apresenta particularidades determinadas por fatores relacionados ao hospedeiro tais como o sexo, idade, padrão comportamental, competência imunológica, coinfeções; ao parasito, o tempo de geração, potencial reprodutivo, estratégias de transmissão; ao vetor, hábitos, comportamento e dispersão e ao ambiente onde ocorre (GUERIN *et al.* 2002; CERBINO *et al.* 2009; ROQUE & JANSEN, 2014)

O primeiro registro no Novo Mundo de um animal silvestre marsupial, como reservatório para *L. infantum* foi feito por Sherlock *et al.* (1984), no Estado da Bahia, onde encontraram o gambá da espécie *Didelphis albiventris* naturalmente infectado. No Velho Mundo, como reservatórios silvestres, já foram descritos o chacal (*Canis aureus*), o

lobo (*Canis lupus*) e a raposa (*Vulpes vulpes*) encontrados em áreas rurais remotas. Contudo, a principal espécie vetora, *Lutzomyia longipalpis*, tem sido observada alimentando-se de uma grande variedade de vertebrados, incluindo bovinos, equinos, primatas, suínos e aves (LAINSON *et al.* 2007). Em ambiente rural e urbano, os cães domésticos (*Canis familiaris*) são os reservatórios mais importantes da LV (PIRAJÁ e LUCHEIS, 2014) e a enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente do que no homem (BRASIL, 2006).

No Brasil, os hospedeiros silvestres da *L. infantum* até agora conhecidos são as raposas e marsupiais. Duas espécies de raposas foram encontradas naturalmente infectadas: *Lycalopex vetulus* no Ceará, e *Cerdocyus thous* no Pará e em Minas Gerais. O agente *L. infantum* foi isolada em marsupiais do gênero *Didelphis* na Bahia e no Rio de Janeiro. O fato desses animais possuírem hábitos sinantrópicos poderia promover a ligação entre os ciclos silvestre e doméstico (SHERLOCK *et al.* 1984; SILVA *et al.* 2000; CABRERA *et al.* 2003; GONTIJO e MELLO, 2004).

De acordo com Marcondes e Rossi (2013) embora não esteja bem definido o papel de felinos, especificamente gatos, no ciclo epidemiológico da doença, utilizando xenodiagnóstico, foi comprovado que quando infectados por *L. infantum*, estes animais foram capazes de infectar o vetor, demonstrando-se a necessidade de mais pesquisas com gatos em áreas endêmicas para LV.

Dados retirados de trabalho realizado por Dantas-Torres (2006) afirmam que não apenas os cães domésticos, mas canídeos em geral completam as exigências para serem considerados eficientes reservatórios de *Leishmania*. Porém os cães domésticos por serem animais mais próximos ao homem recebem maior atenção nas pesquisas. Em razão disto, algumas características foram esclarecidas sobre os cães como: as raças em geral (com poucas exceções) são susceptíveis, a prevalência em cães encontrados nas áreas endêmicas de leishmaniose atinge valores altos, cães usualmente vivem próximos às residências humanas e podem permanecer infectados sem expressar sinais clínicos.

A importância de uma espécie animal como reservatório depende de sua estratégia de vida e ciclo reprodutivo, do habitat e clima locais, da presença, hábitos e capacidade vetorial do hospedeiro invertebrado e das peculiaridades da interação parasito-hospedeiro, todos interligados num mesmo intervalo de tempo (ROQUE *et al.* 2005; HERRERA *et al.* 2005).

2.5 A LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Dentre todas as zoonoses causadas por protozoários, a leishmaniose visceral canina (LVC) é a de maior relevância, podendo se apresentar desde a forma assintomática até a forma sistêmica muitas vezes levando o cão a morte. A partir da infecção cutânea localizada, o parasita pode se disseminar pela via linfática ou pelos vasos sanguíneos, infectando macrófagos da medula óssea, linfonodos, fígado e baço, assim como nos rins e trato gastrointestinal (TRYPHOMAS *et al.* 1977, KEENAN *et al.* 1984).

Os sinais clínicos iniciais, são linfadenomegalia superficial generalizada, edema de membros e dermatite esfoliativa, inicialmente periorbital e nasal, e posteriormente disseminada, caracterizada por alopecia, descamação e onicogrifose. Outros sinais como febre, apatia, diarreia, emagrecimento progressivo, hepatomegalia, esplenomegalia, hiperkeratose, ulcerações cutâneas, particularmente no focinho e orelha, e ceratoconjuntivite são frequentes, apesar de não estarem presentes em todos os casos (GENARO *et al.* 1988; DIAS *et al.* 1999).

Mancianti *et al.* 1988 classificaram os cães infectados, de acordo com a sintomatologia clínica em: sintomáticos, aqueles que apresentam mais de três sinais clínicos; oligossintomáticos, de um a três sinais clínicos e assintomáticos sem nenhum sinal clínico.

Do ponto de vista epidemiológico, a LVC é considerada mais importante do que a doença humana devido à sua maior prevalência e pelo fato de que tanto os cães assintomáticos quanto os sintomáticos são igualmente infecciosos para o flebotômico (LAURENTI, *et al.* 2013). A alta prevalência da LVC em áreas endêmicas para LV, o intenso parasitismo cutâneo nos cães, bem como a precedência da LVC em relação a doença humana destacam o importante papel epidemiológico do cão na leishmaniose visceral (COURTNEY *et al.* 2002; GIUNCHETTI *et al.* 2006; ALVAR *et al.*, 2012).

Como já dito anteriormente, a transmissão ocorre através de picadas do flebotômico vetor, entretanto a transmissão da *L. infantum* na ausência deste já é conhecida. Um caso de LVC por transmissão sanguínea e outro notificado recentemente por vias sexuais do cão macho infectado para fêmea susceptível já estão documentados (MARSELLA & GOPEGUI 1998; OWENS *et al.* 2001; SILVA *et al.* 2009).

A partir dos trabalhos de Chagas *et al.* (1938), Deane e Deane (1955a) e Alencar (1956), demonstrando a importância do cão na transmissão da leishmaniose visceral no Brasil, vários pesquisadores se dedicaram ao estudo sorológico de cães infectados, visando

obter métodos de diagnósticos que facilitassem a realização de inquéritos epidemiológicos e o conhecimento da distribuição geográfica da leishmaniose.

2.6 FATORES ASSOCIADOS A OCORRÊNCIA DA LVC

O estudo dos fatores associados à ocorrência da LVC é uma importante ferramenta epidemiológica que ajuda completar as lacunas de conhecimento existentes fornecendo subsídios para uma melhor estratégia de controle dessa zoonose (SILVA *et. al.* 2013; TEIXEIRA, 2019).

O trabalho realizado por Belo *et. al.* (2013) tem papel relevante nessa linha de pesquisa porque, além de apresentar rica revisão sistemática e de metanálise, reuniu importantes estudos e resultados com respostas para algumas questões envolvendo os mais diversos fatores de transmissão. Explorou em seu trabalho vários fatores considerados pela literatura como de riscos para a transmissão da LVC, dos quais, foram relevantes: idade (cães mais velhos), pelagem (pelos curtos), raça (cães de raça), presença de áreas verdes próximas às residências, animais que vivem em ambientes peridomiciliares como quintais, coabitação com galinhas (presença de galinheiros) e coabitação com outros animais mamíferos e silvestres. Todos esses fatores foram considerados de importância epidemiológica na transmissão da leishmaniose visceral canina. Outras informações relevantes de acordo com a literatura não foram possíveis ser exploradas devido a imprecisão e escassez dos dados das informações.

Vários estudos têm sido realizados avaliando fatores de risco para a infecção por *L. infantum* em caninos apresentando diversidade nos resultados. A predominância da infecção em cães de grande porte em relação a pequenos, e cães que dormiam no quintal foram resultados relevantes apresentados por Leal *et. al.* (2018). Outros estudos demonstraram que o sexo não tem relevância epidemiológica, conforme apuraram Chagas (2017); Monteiro *et al* 2012; Coura-Vital *et al.* 2013; Felipe *et al.* 2014; Santos *et al.* 2017.

A idade é uma característica que na maioria das vezes não é possível ser avaliada corretamente devido a dificuldade que os proprietários têm em informar a idade correta dos animais e, ainda assim, alguns estudos apontam para cães mais velhos (acima de 1 ano) serem mais acometidos pela infecção. Essa ocorrência pode ser explicada pelo fato dos animais mais velhos permanecem mais tempo expostos (TEIXEIRA, 2019).

A pelagem também, em sua maioria, é outra característica de difícil avaliação devido a sua dificuldade e subjetividade de classificação em relação ao comprimento dos pelos dos animais (TEIXEIRA, 2019).

Dentro dessa linha de pesquisa sobre fatores de risco associados a LVC, outros itens também têm sido explorados, como: o conhecimento dos proprietários sobre essa enfermidade, tanto em humanos quanto em cães, conscientização para importância dessa enfermidade (FELIPE *et. al.* 2014; CASTRO *et. al.* 2016), a presença de condições sanitárias adequadas abordando itens como esgoto, água tratada e recolhimento de lixo (SILVA *et. al.* 2012; COURA-VITAL *et al.* 2013; URSINE *et al.* 2016a), a presença de matéria orgânica, seja no quintal ou em alguma proximidade (CONSTANTINO *et. al.* 2014), a presença condições climáticas e físicas favoráveis (precipitação e incidência solar) e a existência de rodovias e movimentação de pessoas e animais (SEVÁ *et. al.* 2017).

2.7 DIAGNÓSTICO CANINO

Os métodos conhecidos atualmente para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina são diagnóstico clínico, parasitológico, sorológico, imunológico, molecular e cultivo parasitológico (FEITOSA, 2006).

O diagnóstico clínico ocorre sempre com base nos sinais característicos da doença tais como dermatopatias, havendo alopecia local ou generalizada, dermatite esfoliativa e ulcerações crostrosas em geral encontradas no focinho, nas orelhas e nas extremidades. Porém, em fases consideradas mais avançadas, é possível observar onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia alopecia, dermatites, hemorragia e distúrbios oculares. Este diagnóstico representa um problema para o médico veterinário, porque além da grande diversidade de sinais clínicos, em contrapartida existe o fato de que a maioria dos cães infectados não apresentam sinais clínicos mas apresentam sorologia positiva e representam potencial fonte de infecção para o flebotomíneo vetor, sendo, portanto, importante fator epidemiológico na transmissão da zoonose (CABRAL *et al.*, 1998; REY, 2001; QUEIROZ *et. al.* 2006; LUVIZOTTO, 2006; QUEIROZ *et. al.* 2010).

Nas áreas endêmicas de leishmaniose visceral, o diagnóstico de LVC é dado principalmente por ferramentas sorológicas que, embora apresentem vantagens sobre os métodos parasitológicos, podem ter o seu resultado limitado, especialmente pela possível reatividade cruzada com outras doenças, sendo importante a consideração de outros

aspectos para o diagnóstico final (FIGUEIREDO & MADEIRA, 2014). De acordo com Badaró *et al.* (1983) e Iniesta *et al.* (2002) os testes sorológicos apresentam mais resultados falso positivos por causa das reações cruzadas com outros patógenos e, os métodos parasitológicos, por sua vez, são mais precisos, mas também mais invasivos porque, usualmente, requerem punção de linfonodo periférico ou medula óssea.

No entanto, segundo Little (2006) em geral, os métodos sorológicos têm boa sensibilidade e especificidade diagnóstica na LV clínica, devido ao fato de que animais doentes manifestam uma intensa resposta imune humoral, apresentando altos níveis de IgG anti-*Leishmania* spp.

Inicialmente o diagnóstico laboratorial da LVC era realizado pelas técnicas sorológicas de imunofluorescência indireta (RIFI) e pelo ensaio imunoenzimático (ELISA), de acordo com determinação do Ministério da Saúde. A partir de 2012, o Ministério passou a recomendar o uso do teste rápido Dual Path Platform (TR- DPP) como triagem, seguido do teste ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) como confirmação do diagnóstico (ALMEIDA *et al.* 2019; SILVA, 2015). Ambos produzidos pelo Instituto de Imunobiológicos de Bio-Manguinhos (BRASIL, 2006).

O Dual Path-Plataform DPP@LVC (Biomanguinhos- Fiocruz) é um teste de fácil execução e rápido imunocromatográfico à base de ouro coloidal concebido para detectar anticorpos específicos aos antígenos rK9, rK26 e rK39 de *L. infantum*. (GRIMALDI *et al.*, 2012).

A partir da década de 70, houve a necessidade de uma técnica para diagnóstico com alta sensibilidade e especificidade, e fez surgir um aprimoramento do ELISA-padrão e suas variações (HOCKEMEYER, 1984;). O ELISA é uma técnica quantitativa de dosagem de anticorpos, podendo ser aplicada para um grande número de amostras em curto espaço de tempo e adaptada para o uso com diversos antígenos, como antígenos brutos, sintéticos ou recombinantes (MAIA, 2008;). Entretanto, como já dito, seus níveis de especificidade são considerados baixos, principalmente quando se utilizam antígenos brutos (REED, 1996;)

No método parasitológico o parasito pode ser demonstrado em material obtido de punção de medula óssea, linfonodos e baço, através de esfregaços corados com corantes básicos, tais como Giemsa, Wright e Panótico (NEVES, 1991). Neste exame o grau de parasitemia é muito variável, não tendo correlação com a sintomatologia dos animais (PALTRINIERI *et al.*, 2010), por isso, na fase inicial da doença é difícil detectar os parasitos, podendo ocorrer resultados negativos. Desse modo, este diagnóstico apresenta alta especificidade, mas a sua sensibilidade é baixa (FAYET, 1999).

A biópsia de pele para a detecção de *Leishmania* sp, que pode ser obtida através de procedimentos cirúrgicos extremamente simples, pode ser uma ferramenta alternativa para o diagnóstico. Porém, exames rotineiros, particularmente, secções histológicas coradas com hematoxilina/eosina são muitas vezes inconclusivas (FERRER *et al.*, 1988; TAFURI *et al.*, 2001).

Outra técnica que vem sendo aprimorada é a detecção direta de formas amastigotas de *Leishmania* sp pelos métodos imunistoquímicos, onde os cortes de tecidos de cão e de humanos (LIVNI *et al.*, 1983) são fixados em formalina e embebidos em parafina. O método de imunistoquímica para identificação da *Leishmania* sp em tecidos é simples, não precisa de equipamentos especiais e é mais sensível e específico do que o exame histoquímico (BOURDOISEAU *et al.*, 1997; FERRER *et al.*, 1988; LIVNI *et al.*, 1983), pois diminui as reações cruzadas com outros tripanossomídeos. A imunistoquímica, além de aumentar a detecção da forma amastigota da *Leishmania* sp em muitos órgãos, também aumenta em 50% a positividade na pele, quando comparada aos testes histopatológicos de rotina (TAFURI *et al.*, 2004).

Os métodos moleculares também são utilizados na detecção do parasito e no monitoramento da cura após o tratamento. A técnica de Polymerase Chain Reaction (PCR) é a mais utilizada. Através dela se detecta o DNA do protozoário, a partir do sangue total, medula óssea, linfonodos, pele e raspado conjuntival (FONSECA, 2013).

2.8 FATORES SOCIAIS E AMBIENTAIS RELACIONADOS À TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL

As doenças de transmissão vetorial são, geralmente, limitadas por variáveis ambientais como temperatura, umidade, padrões de uso do solo e de vegetação. O ciclo de vida dos vetores, assim como dos reservatórios e hospedeiros que participam da cadeia de transmissão de doenças, está fortemente relacionado à dinâmica ambiental dos ecossistemas onde estes vivem (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2008). Neste contexto, o desequilíbrio ambiental, criado pela invasão do homem às florestas, forçou a adaptação dos vetores e reservatórios silvestres das leishmanioses a um ambiente peridomiciliar ou mesmo domiciliar e, dependendo da região geográfica e dos fatores socioculturais da população envolvida, a doença apresenta padrões epidemiológicos

extremamente diversos, o que dificulta a adoção de medidas efetivas no controle da doença (COSTA, 2005; GENARO; REIS, 2005; MICHALICK; GENARO, 2005).

Segundo Werneck, 2010, pobreza, migração, ocupação urbana não planejada, destruição ambiental, condições precárias de saneamento, habitação e desnutrição são alguns dos muitos determinantes da ocorrência da LV.

A baixa renda per capita é encontrada em estudos de leishmaniose em Bihar, Nepal, Bangladesh e Brasil. Entretanto, em comunidades pobres, a associação com renda baixa pode não ser primariamente determinante de risco. A pobreza está associada com fatores ecológicos que aumentam o risco, tais como condições de moradia precárias (paredes de barro rachado, piso de barro úmido que prolongam a sobrevivência dos vetores flebotomíneos, áreas abertas nas paredes que permitem a entrada de insetos) e o hábito de dormir no chão (ALVAR *et al.* 2006).

O principal vetor da infecção, coloniza facilmente áreas em torno de casas, se adaptando a altas temperaturas e baixa umidade. Além disso para seu crescimento geográfico, este flebotomíneo tem se mostrado adaptável em ambientes urbanos e periurbanos com tendência a invadir casas. As maiores taxas de transmissão ocorrem durante as estações chuvosas. As fêmeas são hematófagas, e quando invadem casas e áreas em torno delas, elas picam humanos e cães, bem como aves domésticas, cavalos e animais sinantrópicos em áreas do entorno (LAINSON e RANGEL, 2005). As mudanças climáticas causadas pela urbanização e aquecimento global, com eventos de microclimas locais pode ter determinado um papel relevante no aumento e expansão da presença do inseto vetor (MARZOCHI, 2009). O desmatamento também é um fator preponderante, uma vez que reduz a disponibilidade de fonte alimentar para os flebotomíneos, expondo o cão e o homem, que passam a ser as fontes mais acessíveis (MARCONDES e ROSSI, 2013).

Medidas simples como limpeza urbana, eliminação dos resíduos sólidos orgânicos e destino adequado dos mesmos, eliminação de fonte de umidade, não permanência de animais domésticos dentro de casa, entre outras, certamente contribuirão para evitar ou reduzir a proliferação do vetor (BRASIL, 2006). Segundo Guilloux (2011) o controle da população canina é fundamental para a promoção da saúde humana, ambiental e animal, para a vigilância epidemiológica e controle da zoonose. Também afirma que o controle dos cães não depende apenas do médico veterinário sanitarista ou de um órgão público e considera fundamental a parceria com a comunidade nas atividades, principalmente a promoção da guarda, posse e propriedade responsável dos animais de estimação, que é um

ponto importante para reduzir a população de cães errantes que são importantes fatores no processo de disseminação da doença.

Na maioria das regiões do Brasil, a leishmaniose é mais frequente entre crianças. Até a década de 1970, crianças até 10 anos de idade contabilizavam 80% dos casos, crianças menores de 5 anos de idade contabilizavam 60% do total (predominantemente do sexo masculino). Atualmente, a prevalência tem diminuído entre crianças de 10 anos (agora em torno de 50% dos casos), porém 41% dos pacientes ainda são a partir de 4 anos de idade ou mais e o sexo masculino ainda predomina. O perfil da idade mudou a medida que a endemia se espalhou para novas áreas (BRASIL, 2005).

Segundo Marcondes e Rossi (2013), em grande parte dos locais onde existe elevada transmissão de leishmaniose visceral, tanto humana quanto canina, as condições socioeconômicas da população são precárias. Uma rápida e desorganizada urbanização nas periferias das cidades com habitações inadequadas, ausência de estrutura sanitária, aglomerado populacional, presença de potenciais criadouros de flebotomíneos em quintais e presença de animais domésticos nas residências são fatores que favorecem a expansão da doença. Mas ainda, a redução dos investimentos em saúde e educação, e falhas nas ações de controle da doença auxiliam na urbanização da doença.

No Estado do Rio de Janeiro, novas áreas têm sido identificadas com ocorrência de leishmaniose visceral canina em diversos municípios, contudo pouco se conhece acerca de fatores ambientais envolvidos no aparecimento da LV nessas áreas (ABRANTES *et. al.* 2018).

Apesar do grande número de dados acumulados, há ainda uma falta de estudos envolvendo com mais precisão a identificação de fatores ambientais, humanos, sociais e econômicos entre outros que podem influenciar o estabelecimento e a propagação da leishmaniose visceral canina não só em áreas periurbanas na cidade do Rio de Janeiro como também em todo o Estado.

2.9 EPIDEMIOLOGIA DA DOENÇA

É considerada uma parasitose endêmica em cinco continentes, com casos humanos relatados em cerca de 54 países localizados em regiões tropicais e subtropicais. Mais de 90% dos casos mundiais ocorrem em Bangladesh, Índia, Sudão, Sudão do Sul, Etiópia e Brasil (Figura 3). A incidência anual estimada da doença é de cerca de 200.000 a 400.000

novos casos. Infelizmente esses dados, são subestimados, uma vez que a afecção não é de notificação compulsória em todos os países em que ocorre, e muitos países não realizam vigilância ou outras investigações, além de não possuírem um sistema de armazenamento de dados (ALVAR *et al.* 2012; WHO, 2012). Ademais, o número de seres humanos assintomáticos ou expostos à LV é muitas vezes superior ao número de casos detectados (MORENO & ALVAR, 2002).

Mesmo com grande parte dos casos de LV subnotificados, o Brasil é, atualmente, responsável por cerca de 90% dos casos da América Latina. Somente no ano de 2012 foram notificados 3.038 casos da doença em humanos, com uma incidência da ordem de 1,57 casos/100.000 habitantes e uma taxa de letalidade de 7,1%. De acordo com o Ministério da Saúde (2012), dos 27 estados brasileiros 21 já notificaram casos autóctones da enfermidade em humanos, principalmente nas regiões norte, sudeste e nordeste, com mais de 1.300 municípios apresentando casos da doença (BRASIL, 2012; MARCONDES & ROSSI, 2013).

A LV foi considerada inicialmente como uma doença rural no Brasil; entretanto, depois da década de 80, a doença começou a ocorrer em grandes cidades cruzando o país. O primeiro registro de um surto urbano ocorreu em Teresina, a capital do Estado do Piauí, resultando em 900 casos de LV de 1981 a 1985. Na década anterior, esta cidade registrou uma média de 3.8 casos anualmente. A doença então, mais tarde, se espalhou para São Luís (Estado do Maranhão, MA) e Natal (Estado do Rio Grande do Norte, RN), ambas grandes cidades da Região Nordeste do país (BRASIL, 2006). Desde a década de 1990, a doença se espalhou pelo país inteiro, com casos autóctones registrados em 25% dos casos dos municípios brasileiros em 21 estados. Em quase 30 anos, a média do número de casos registrou um aumento anual de 1.601 (1985-1989) para 3.816 (2008-2012) (WERNECK, 2014).

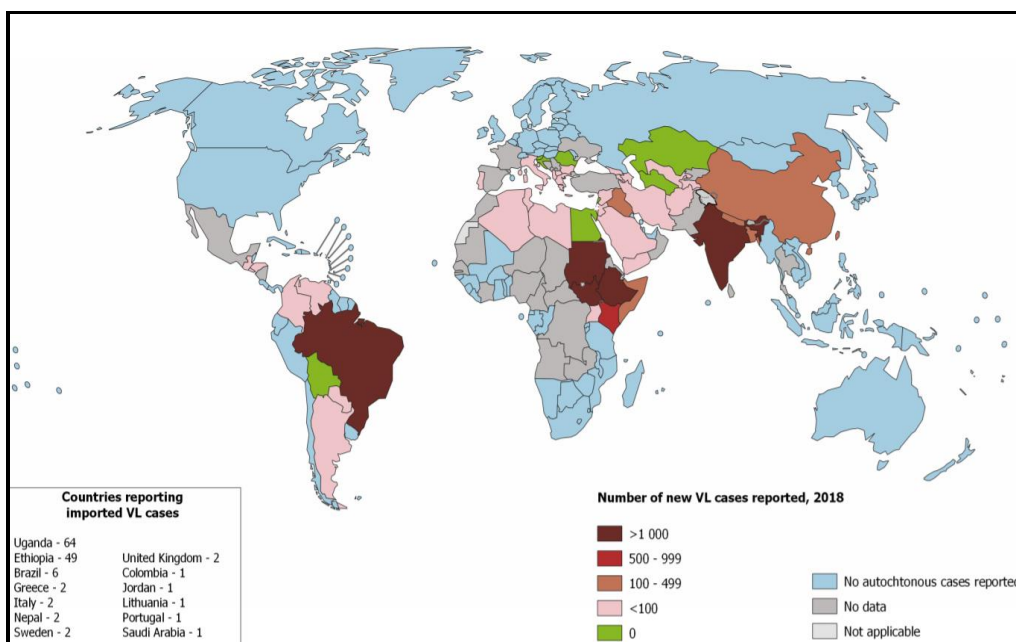
O Estado do Rio de Janeiro foi considerado livre de LV até agosto de 1977, quando a doença foi detectada na capital do Estado pela primeira vez, na região periurbana do município do Rio de Janeiro, no bairro de Bangu. O caso índice foi um homem de 55 anos de idade que foi a óbito pela doença (MARZOCHI *et al.*, 2009).

Desde janeiro de 2007 até outubro de 2017, dentre 99 casos de LV notificados em municípios do RJ, 72 foram notificados como autóctones ou indeterminados ou em branco e os demais (27) são importados de outros estados. Um total de 62 casos foram confirmados, dos quais 51 tiveram confirmação laboratorial e 11 tiveram confirmação clínico-epidemiológico. Os casos autóctones predominaram em municípios das Regiões do

Médio Paraíba (Barra Mansa e Volta Redonda) e Baía da Ilha Grande (Paraty e Angra dos Reis), bem como na região metropolitana do Rio de Janeiro (SECRETARIA ESTADUAL DE SAÚDE, 2017).

Ainda de acordo com boletim epidemiológico da Secretaria de Saúde do Estado do Rio de Janeiro de 2017, casos de LV canina têm sido diagnosticados em municípios das regiões Médio Paraíba, Baía da Ilha Grande, Metropolitana I, Metropolitana II e Baixada Litorânea. Os profissionais de saúde destes municípios, especialmente os médicos veterinários, devem permanecer atentos para este diagnóstico e fazer a notificação dos casos na ficha de epizootia do SINAN e aos serviços de vigilância ambiental em saúde ou vigilância sanitária municipal.

Figura 3: Mapa de distribuição geográfica mundial da leishmaniose visceral – Ano 2018



Fonte: WHO.

2.10 APRESENTAÇÃO CLÍNICA DA DOENÇA HUMANA

A infecção pela *L. infantum* caracteriza-se por um amplo espectro clínico, que pode variar desde as manifestações oligossintomáticas (sinais clínicos discretos), moderadas e graves e que se não tratadas podem levar o paciente à óbito. Também podem ser inaparentes ou assintomáticas, quando não há evidências de manifestações clínicas. Neste caso, os não são notificados e nem necessitam de tratamento (BRASIL, 2016)

O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral deve ser suspeitado quando o paciente apresentar febre e esplenomegalia associado ou não à hepatomegalia, e, considerando sua evolução clínica, a LV foi dividida em três períodos: período inicial, período de estado e período final.

De acordo com BRASIL (2014), o período inicial, também chamado de “fase aguda”, é caracterizado pelo início da sintomatologia que pode variar de paciente para paciente, porém na maioria dos casos inclui febre com duração inferior a quatro semanas, palidez cutâneo-mucosa e hepatoesplenomegalia. O período de estado, é caracterizado por febre irregular, geralmente associada a emagrecimento progressivo, palidez cutâneo-mucosa e aumento da hepatoesplenomegalia. Apresenta um quadro clínico arrastado geralmente com mais de dois meses de evolução, na maioria das vezes associado a comprometimento do estado geral. E o período final que é caracterizado por um agravamento dos quadros clínicos anteriores caso não seja feito o diagnóstico e tratamento. Há uma evolução progressiva da doença, com febre contínua e comprometimento mais intenso do estado geral. Evidencia-se a desnutrição (cabelos quebradiços, cílios alongados e pele seca) e edema dos membros inferiores que pode evoluir para anasarca. Outras manifestações importantes incluem hemorragias (epistaxe, gengivorragia e petéquias), icterícia e ascite.

A Fundação Nacional de Saúde (2018) descreve ainda o estado refratário da doença, que se caracteriza pela forma evolutiva da LV clássica que não respondeu ao tratamento, ou respondeu parcialmente ao tratamento com antimoniais. É clinicamente mais grave, devido ao prolongamento da doença sem resposta terapêutica.

Ainda de acordo com a FUNASA (2018) os pacientes com LV, em geral têm como causa de óbito as hemorragias e as infecções associadas em virtude da debilidade física e imunológica.

2.11 DIAGNÓSTICO DA DOENÇA HUMANA

Diferentes metodologias podem ser utilizadas para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Americana em humanos. Atualmente há uma variedade de técnicas, porém nenhuma apresenta 100% de sensibilidade e especificidade embora muitos avanços têm ocorrido nos últimos anos (DOURADO *et al.* 2007). Além das técnicas, o diagnóstico também pode ser realizado com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos.

Segundo Gontijo e Mello (2004), o diagnóstico clínico da leishmaniose visceral é complexo, pois a doença no homem pode apresentar sinais e sintomas que são comuns a outras patologias presentes nas áreas onde incide a LV como por exemplo, doença de Chagas, malária, esquistossomose, febre tifóide e tuberculose.

Um diagnóstico definitivo requer a demonstração do parasito através de métodos parasitológicos (GONTIJO e MELLO 2004). Ainda hoje é muito utilizado o método parasitológico direto (PD) humano realizado por meio de pesquisa das formas amastigotas no material obtido de punção de medula óssea e de vísceras (baço e fígado). A especificidade desses métodos é de 100%, mas a sensibilidade é muito variável, em torno de 60% a 85%, em punção de medula óssea (PMO), e 95% em punção esplênica. Ambas as punções são consideradas procedimentos invasivos e exigem ambientes apropriados para a coleta, por isso não são consideradas adequadas para estudos epidemiológicos em larga escala (DOURADO *et al.* 2007; SUNDAR *et al.* 2003; ZIJLSTRA *et al.* 2001; DEREURE, 1998). Este material obtido pela punção é utilizado para a confecção de lâminas, histologia, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório (SUNDAR e RAI, 2002).

Diferentes técnicas sorológicas e imunológicas também têm sido utilizadas no diagnóstico da LV em humanos. A doença também é caracterizada por uma hipergamaglobulinemia e grande produção de anticorpos, o que facilita o diagnóstico através de testes sorológicos, evitando os invasivos testes parasitológicos. Estes testes têm limitações, diferem em especificidade e sensibilidade, podem permanecer positivo por longo tempo após o tratamento da doença, podem também ocorrer reações cruzadas com outras infecções e como há infecções subclínicas, um teste positivo necessariamente não indica a presença da doença. Exames sorológicos são importantes para confirmar diagnósticos e espera-se que os resultados sejam sempre confiáveis. Os mais utilizados são: aglutinação direta (DAT), reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA), que utilizam antígenos brutos e são limitados em termos de especificidade e reprodutibilidade (SUNDAR e RAI, 2002; GONTIJO e MELLO, 2004). Outro teste utilizado é o Teste Rápido Imunocromatográfico, que é feito com base em imunocromatografia de papel, onde se utiliza o antígeno recombinante (rK39), fixado no papel. Este antígeno reconhece os anticorpos específicos anti-leishmania, do complexo donovani. Trata-se de um método sensível, específico e de rápida execução (5-10 minutos) que pode ser usado nas condições de campo (GONTIJO e MELLO, 2004; QUEIROZ *et al.* 2004).

A partir da década de 80, várias técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para o diagnóstico e identificação precisa dos parasitos do gênero *Leishmania*, sem necessidade de isolamento em cultura. Métodos de hibridização com sondas específicas técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, incluindo a reação em cadeia da polimerase – transcriptase reversa (RT-PCR) para detecção de fragmentos de RNA e PCR para detecção de DNA, estão disponíveis para detecção do parasito (TAVARES, 2003).

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica revolucionária da biologia molecular, pois permite o diagnóstico de sequências de ácidos nucleicos, proporcionando com isso grandes avanços no diagnóstico de doenças infecciosas (HAAS & TORRES, 2016). Seu criador, Kary Banks Mullis, em 1993 recebeu o prêmio Nobel em química pela descoberta e desde então, esta metodologia vem sendo amplamente aplicada em diversas áreas, como por exemplo, identificação de polimorfismo, genotipagem, detecção de microrganismos, doenças genéticas, entre outras (CARNEIRO *et al.*, 2013; MILLER, 2007).

A PCR consiste na síntese enzimática *in vitro* de cópias de fragmentos específicos de ácidos nucleicos, onde a partir de uma única molécula de DNA molde, é possível gerar até cem bilhões de moléculas similares em uma reação (SAIKI *et al.*, 1988; MULLIS, 1990).

Com o surgimento de novas tecnologias, espera-se com isso o desenvolvimento de novas drogas e terapias, assim como novos métodos diagnósticos que possam auxiliar na investigação epidemiológica e promover melhorias na qualidade de vida da população ao se implantar rapidamente o tratamento.

2.12 CONTROLE DA DOENÇA

De acordo com o Ministério da Saúde (2006), devido as características epidemiológicas e as lacunas existentes no conhecimento sobre os vários elementos que compõem a cadeia de transmissão da leishmaniose visceral, as estratégias de controle desta endemia ainda são pouco efetivas e estão centradas no diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, redução da população de flebotomíneos, identificação e eutanásia dos reservatórios caninos e atividades de educação em saúde. É importante lembrar que essas ações deverão estar sempre integradas para que possam ser efetivas.

Teoricamente, essas estratégias de controle da LV parecem adequadas, mas na prática à prevenção de doenças transmissíveis por vetores biológicos é bastante difícil, principalmente em se tratando da associação da existência de reservatórios domésticos e silvestres e aos fatores ambientais, incluindo os fatores de utilização do espaço habitado (GONTIJO e MELLO, 2004). À medida que a população humana se expande para áreas recentemente desflorestadas, automaticamente entram em contato direto com os locais naturais de reprodução do vetor da doença, o flebotomíneo, e com reservatórios selvagens, particularmente a raposa (WERNECK *et al.* 2008).

O controle do flebotomíneo se iniciou indiretamente no Brasil com o uso do inseticida DDT (sigla de diclorodifeniltricloroetano), na tentativa de eliminar o vetor da malária. Após o uso do Diclorodifeniltricloroetano, utilizou-se o BHC (sigla inglesa - Benzene Hexachloride) até 1992, porém devido a fatores como impacto ambiental, uso descontrolado e aparecimento de resistência e tolerância em três espécies de flebotomíneos no Velho Mundo (*Phlebotomus papatasi*, *Phlebotomus argentipes* e *Sergentomyia shortii*), os organoclorados foram proibidos pela Organização Mundial da Saúde (WHO) na maioria dos países. Por esta razão, iniciou-se o uso de piretróides, buscando causar menor impacto ambiental. Medidas ambientais também são importantes no combate ao vetor, como limpeza de terrenos e do peridomicílio, evitando-se o acúmulo de material orgânico e, conseqüentemente, a reprodução de flebotomíneos. É importante também que a população seja orientada a evitar a construção de estábulos, galinheiros e chiqueiros próximos ao domicílio. A educação em saúde é uma medida fundamental para que haja a conscientização da população (WHO, 2001; PIRAJÁ e LUCHEIS, 2014).

As ações de orientações voltadas ao controle do vetor dependerão das características entomológicas de cada região e deverão sempre ser realizadas de forma integrada (WERNECK *et al.* 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

O controle da LVH tem como ponto chave o controle da LVC, devido ao fato do cão ser considerado o principal reservatório em meio urbano. Por isso, é muito importante que leishmaniose visceral seja diagnosticada precocemente no cão e que sua remoção para a eutanásia seja providenciada de acordo com o programa de controle de leishmanioses do Ministério da Saúde (BRASIL, 2014).

O cão é considerado como o reservatório doméstico do protozoário e desempenha importante papel como fonte de infecção imediata para o homem (WERNECK *et al.* 2008). Por esta razão, a prática da eutanásia é recomendada para todos os cães sororreagentes e/ou parasitológico positivo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A Resolução n.º 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, dispõe sobre os procedimentos e métodos para a realização de eutanásia em animais. Por esta resolução, a eutanásia é um procedimento único e exclusivo do médico veterinário e deverão ser submetidos a eutanásia em ambiente tranquilo e adequado, longe de outros animais e do alojamento dos mesmos. Deverá ser realizada segundo Legislação Federal, Estadual e Municipal quando se refere à compra e armazenamento de drogas e eliminação de cadáveres e carcaças.

Embora o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) tenha deferido o registro do fármaco Miltefosina, utilizado para o tratamento de cães com leishmaniose visceral canina (LVC) em consonância com a Portaria Interministerial nº1.426 de 11 de julho de 2008, e tenha tornado o tratamento do cão como uma possibilidade legal, é importante destacar que o tratamento de cães com LVC não se configura como uma medida de saúde pública para controle da doença e, portanto, trata-se única e exclusivamente de uma escolha do proprietário do animal, de caráter individual. A droga Miltefosina de acordo com as evidências científicas geradas até o momento, não apresenta eficácia para ser incorporada no protocolo terapêutico da leishmaniose visceral humana (LVH), não conferindo cura parasitológica no animal.

Estudos de Grimaldi Jr. *et al.* (2017) comprovaram que a medida de controle imunoprolifática através da vacina, lançada no mercado desde 2008, tem um feito favorável somente em animais que não estão em área de risco, necessitando de melhorias. E que esta medida juntamente com a eutanásia não é efetiva em áreas de alta incidência da doença. Além disso, os pesquisadores expuseram que são necessárias melhoras para que a vacina seja melhor explorada em animais em campo, de forma que haja impacto positivo na incidência de casos de LV em humanos.

O uso de inseticidas de forma tópica – coleiras impregnadas, dispositivos spot-on ou sprays -, tem sido uma medida profilática muito utilizada no combate a LVC agindo evitando o repasto sanguíneo do vetor no animal, bem como sua sobrevivência, caso consiga realizar o repasto. (OTRANTO & DANTAS-TORRES, 2013; OTRANTO *et al.* 2013; REGUERA *et al.* 2016). Esses aparatos baseados em combinações de permetrina, deltametrina e fentation, em testes de campo alcançaram diferentes taxas de eficácia. Com destaque combinações como imidacloprid 10% com permetrina 50%, e imidacloprid 10% com flumetrin 4.5% que chegaram a 100% de eficácia (OTRANTO *et al.* 2007, 2010, 2013). Estes experimentos merecem mais atenção como medida de controle por interromper a cadeia epidemiológica de transmissão (TRAVI *et al.* 2018).

No Brasil, estão sendo conduzidos testes com coleiras impregnadas com repelentes e os resultados são extremamente otimistas. O trabalho de COURA-VITAL *et al.* (2018) demonstrou que as coleiras podem ser efetivas para diminuir a incidência de casos, e KAZIMOTO *et al.* (2018) demonstrou que o uso contínuo da coleira pode diminuir em até 53% o risco de adoecimento. Além desses trabalhos, Silva *et al.* (2018) afirmou em seus estudos que as regiões onde os cães usam coleiras, a abundância de vetores é menor.

Essa medida profilática seria mais facilmente aceita pela população e com menos problemas estratégicos de implantação como a vacinação e sem os problemas éticos causados pela eutanásia (SEVA *et al.* 2016).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a situação epidemiológica da leishmaniose visceral canina e seus aspectos sociais e ambientais na Ilha da Marambaia, área de transmissão da zoonose.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o perfil sociodemográfico da população humana residente na Ilha da Marambaia;
- Caracterizar as espécies e a densidade populacional da fauna flebotomínica na Ilha da Marambaia relacionando às características socioambientais;
- Realizar inquérito censitário e soropidemiológico canino, utilizando teste rápido DPP e ELISA, conforme protocolo do Ministério da Saúde;
- Avaliar características nos animais estudados possivelmente associadas com a transmissão da leishmaniose visceral canina;
- Estudar a distribuição da infecção por *L. infantum* na população canina da Ilha de Marambaia por meio de técnicas de análise espacial.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

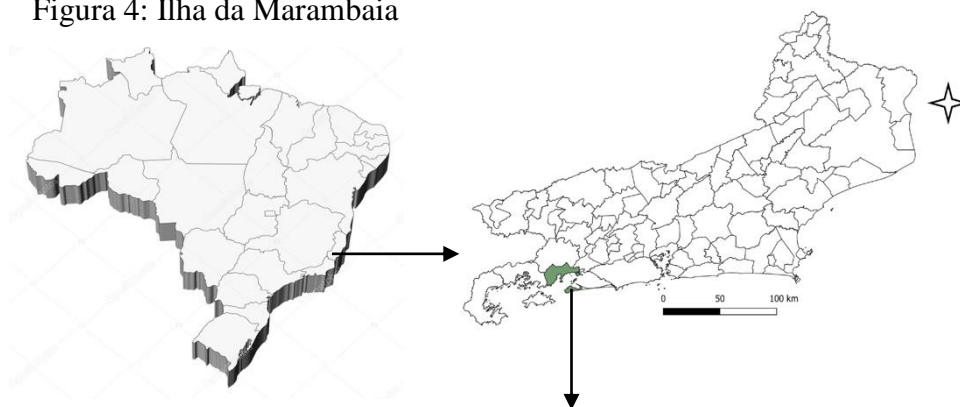
4.1 CONSIDERAÇÕES SOBRE A ÁREA DE ESTUDO

A Ilha da Marambaia (Figura 4) faz parte do conjunto que, inclui a Restinga da Marambaia, se estende por 42,5 km e estando localizada na baía de Sepetiba no litoral Sul Fluminense. Favorecida pela posição geográfica e pelo acesso limitado, conserva ainda representativa parcela da floresta que compõem a Mata Atlântica, podendo ser observados vários tipos de ecossistemas: a Serra do Mar, a Restinga e Ilha da Marambaia, a Ilha Grande, manguezais e diversas outras ilhas, além do delta do rio Guandu, que formam uma grande baixada situada entre os municípios de Itaguaí e do Rio de Janeiro (RONCARATI, 2014).

A Ilha, cujas coordenadas são 23° 04' 51" S – 44° 00' 39" W e 23° 03' 48 S – 43° 33' 96" W é uma reserva ecológica que apresenta relevo e vegetação bastante distintos, com áreas de praia, restinga, matas de encosta, além de mangues. Sua porção oeste se liga ao continente, a leste, na região de Guaratiba, por uma faixa estreita de areia com cerca de 40 km de extensão formada durante o holoceno, a Restinga da Marambaia (CONDE *et al.* 2005).

A área de estudo geopoliticamente pertence ao município de Mangaratiba e é controlada pela Marinha do Brasil, onde está instalado o Centro de Adestramento da Ilha da Marambaia (CADIM). O único acesso possível aos moradores e visitantes se dá por meio de embarcações da Marinha brasileira, sendo que no caso dos visitantes, faz-se necessária autorização prévia. Quanto aos serviços básicos como saúde e educação, a ilha possui um posto de saúde mantido pelo CADIM, que presta assistência aos casos de urgência, contudo quaisquer exames de maior complexidade e ou casos mais graves, são levados ao continente (NÓBREGA, 2005).

Figura 4: Ilha da Marambaia



Fonte: Google.com.

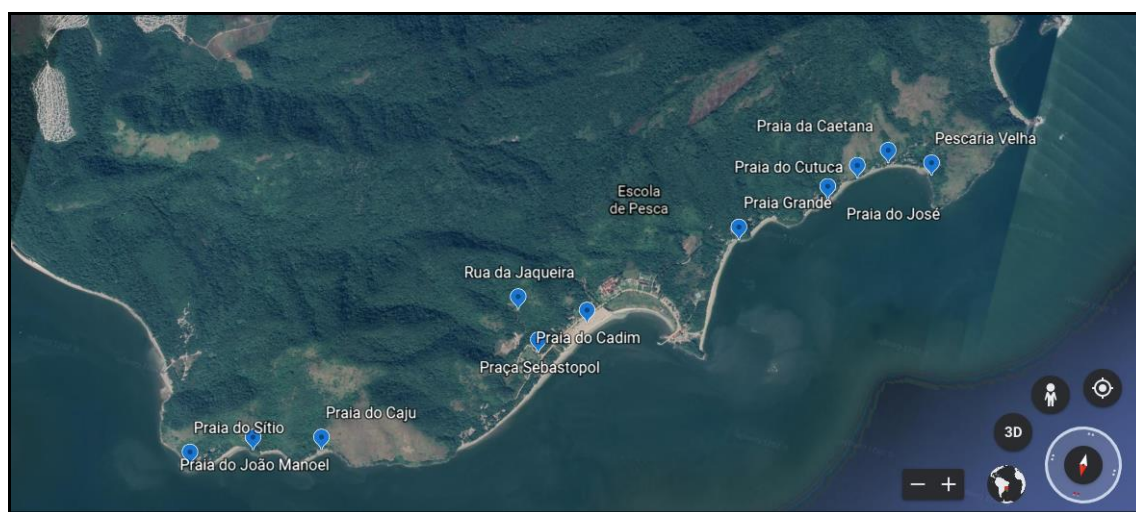
O CADIM promove constantes manobras militares envolvendo tropas nacionais de outros estados, como também internacionais. Há também, em funcionamento dois hotéis de trânsito da Marinha que aloja familiares de militares em período de férias, militares em trânsito na Ilha, pesquisadores de diferentes Instituições de pesquisa, incluindo a equipe do referido projeto e turistas, atraídos pelas belezas naturais do local. Tal mobilidade

populacional é um fator de risco que pode influenciar na dinâmica de transmissão das leishmanioses devido à maior suscetibilidade de indivíduos que circulam na Ilha.

Na região, 89% das casas são próprias havendo até três moradores por residência; 99% possuem banheiros ou sanitários, porém o abastecimento de água é realizado pela captação de nascentes ou poços. Poucas casas têm energia elétrica, a maior parte tem o lixo coletado, porém as condições sanitárias não são as ideais. A criação de animais para a subsistência (galinhas e porcos) no peridomicílio é comum, assim como a criação de cães soltos que circulam por toda Ilha da Marambaia livremente (ALONSO, 2014).

A população humana civil e canina da Ilha da Marambaia encontra-se distribuída ao longo das praias da Pescaria Velha, Praia da Caetana, Praia do Cutuca, Praia do José, Praia Grande (lado Leste), Praia Suja, Praia do João Manoel, Praia do Caju, Praia do Sítio, Praia do CADIM e Praia da Armação, Rua da Jaqueira e Praça Sebastopol (lado Oeste), onde foram realizadas as entrevistas com a população e os inquéritos caninos. (Figura 5)

Figura 5: Locais de desenvolvimento do estudo (gota azul)



Fonte: Google Earth.

4.2. DESENHO DE ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA POPULAÇÃO CANINA E HUMANA

Trata-se de um estudo seccional desenvolvido entre março de 2019 a maio de 2021, onde foram estudadas a prevalência da infecção canina por *Leishmania infantum*, bem como o perfil social, demográfico e ambiental da população civil da ilha.

A população que reside atualmente na Ilha da Marambaia possui origem variada. São encontrados descendentes de diversos grupos e etnias, que por razões diversas passaram por lá e se fixaram. Atualmente é composta de descendentes de índios tupis, familiares e descendentes de empregados do Comendador Breves, primeiro proprietário da Ilha, negros escravos, trabalhadores e alunos da extinta Escola de Pesca Darcy Vargas. O Censo de 2010 do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) infere que a população civil da Ilha da Marambaia possui 94,1 % de negros e pardos. Dos 424 moradores, são alfabetizados 177 mulheres e 213 homens dos pretos e pardos, a maior parte das mulheres possui idade entre 15 e 19 anos e a maior parte dos homens possui idade entre 45 e 49 anos. Porém, de acordo com o censo atualizado pelo CADIM, hoje, residem na Ilha aproximadamente 378 pessoas. As condições socioeconômicas da população são precárias, sendo a agricultura, pesca e extração de frutos e lenha as principais atividades econômicas na região. As casas estão localizadas nas encostas e muito próximas das regiões de mata, o que facilita a entrada e adaptação do vetor às residências e conseqüentemente a proximidade dos vetores com os moradores e reservatórios domésticos (GUIMARÃES *et al.* 2016).

A população canina da Ilha encontra-se distribuída por toda a região e em censo realizado por Alonso (2014) foram apuradas a existência de 125 cães, com características diversas em relação ao domicílio e a raça. Em todas as praias habitadas, foi possível observar a presença de cães na maioria das residências. Uma parte dos animais eram de origem da própria Ilha sendo uma outra pequena parte originária de outros municípios, segundo informações colhidas de cada proprietário.

Os cães, em sua maioria, residem próximos a galinheiros e ambientes úmidos com presença de bananeiras e vegetação diversas. Também é possível observar a presença de outros animais domésticos e selvagens, como gambá e raposas, convivendo no mesmo ambiente. Os cães não possuem rotinas com médicos veterinários nem possuem suas vacinas em dia. Isso faz que com que esses animais se tornem vulneráveis a agentes infecciosos presentes em ambientes silvestres, como a Ilha da Marambaia.

4.3 ESTUDO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA

4.3.1 A captura dos espécimes

Para a captura dos flebotomíneos foram utilizadas armadilhas luminosas de sucção, as quais foram introduzidas em ambiente intradomiciliar, peridomiciliar em galinheiros e canis, e ambiente silvestre próximo às residências (Figura 6). Os locais foram selecionados de acordo com as características ambientais da ilha.

As armadilhas foram colocadas às 18 horas e retiradas às 7 horas da manhã do dia seguinte, durante uma semana, uma vez por mês, durante 12 meses, totalizando 13 horas de coletas por armadilha no período de agosto de 2018 a maio de 2021. Os espécimes coletados foram acondicionados em tubos Falcon devidamente identificados de acordo a data, com a localidade e o local de captrura. Em seguida foram encaminhados ao Laboratório de Parasitologia Ambiental, Departamento de Ciências Biológicas (DCB), da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP/Fiocruz,) onde foram acondicionados a temperaturas próximas a -20°C , sendo então mortos por congelamento.

Figura 6 : Pontos onde foram colocadas as armadilhas para captura dos flebotomíneos. A. Região de Mata; B. Galinheiro Externo; C. Ambiente Intradomiciliar; D. Galinheiro Interno; E. Mata e Galinheiro; E. Peridomicilio



4.3.2 Identificação e Processamento dos Flebotomos

Os espécimes de flebotomíneos capturados foram separados manualmente com o auxílio de uma pinça, colocados em placas de Petri onde com o auxílio de lupa estereoscópica, procedeu-se às identificações ao nível específico (Figura 7). Foram separados primeiramente os exemplares machos e em seguida de acordo com suas espécies. Para a identificação das fêmeas, foi realizada a dissecação a partir do sétimo segmento abdominal, porção final do abdome, onde se encontra a espermateca, uma das estruturas importantes para a identificação específicas das fêmeas e também de algumas espécies (Figura 8). Este segmento, que é, foi retirado do flebotomíneo, fixado na lâmina com lamínula e levado ao microscópio para a identificação. Os machos também foram identificados. A identificação dos espécimes ao nível específico foi de acordo com nomenclatura proposta por Galati (2003). Após a identificação, os flebotomíneos foram armazenados em microtubos para possíveis análises futuras (Figura 9).

Figura 7: Visão de um flebotomíneo utilizando microscópio óptico



Figura : *Nissomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912)

Figura 8: Espermateca – estrutura de classificação das fêmeas

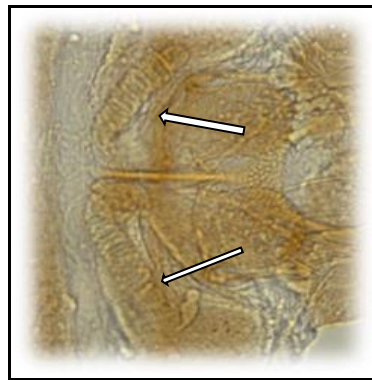
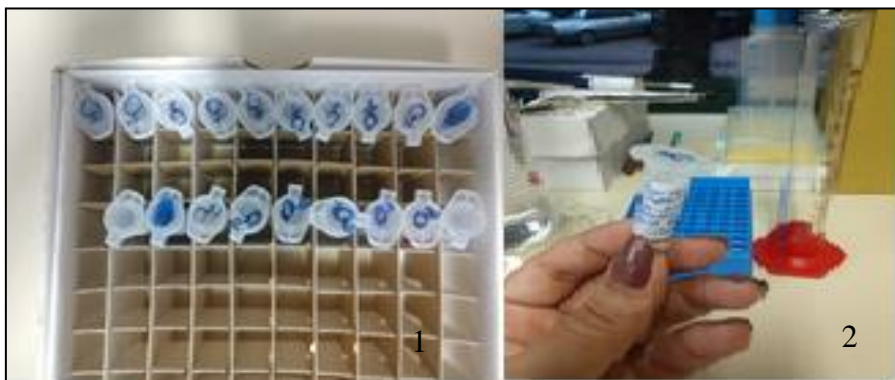


Figura : espermateca (seta).

Figura 9: Separação dos flebotomíneos em microtubos capturados na Ilha da Marambaia. 1: Separação dos espécimes entre machos e fêmeas e por espécie. 2. Identificação da localidade e data de captura.



Fonte: A própria autora

4.4 AVALIAÇÃO DO PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E AMBIENTAL DA POPULAÇÃO

Para o estudo do perfil demográfico e socioambiental da população civil da Ilha da Marambaia, foi aplicado um questionário misto composto por questões abertas e fechadas, com respostas dicotômicas e explicativas, referentes aos aspectos demográfico, socioambientais, sobre as condições de saneamento, características residenciais, ao conhecimento do comportamento e da dinâmica da LV e a convivência e assistência veterinária dos cães. As perguntas foram direcionadas a apenas um membro da família (Apêndice A). Este questionário foi adaptado de Codeço (2013) e Günther (2003) e baseado em outros cujo enfoque também foi as leishmanioses (REIS, 2004) e LV em áreas endêmicas (BORASCHI, 2007; BORGES, DA SILVA *et al.*, 2008; GENARO, 2009). Utilizou-se também os indicadores sociodemográficos e ambientais descritos pelo Instituto Brasileiro de Geografia (IBGE, 2009).

O questionário foi dividido em quatro blocos, sendo o primeiro composto por informações sociodemográficas e condições ambientais de moradia, somando um total de 12 questões, o segundo bloco composto por informações sobre o conhecimento de doenças infecciosas e zoonoses, com um total de quatro questões, o terceiro com informações sobre estado de saúde e doença dos moradores com cinco questões e o quarto bloco com informações voltadas sobre o comportamento dos cães da residência com um total de oito questões.

Para a realização deste estudo, foi apresentado um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice B) aos participantes em concordância de participação e esclarecimento de dúvidas futuras de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/12.

4.5 ESTUDO DO RESERVATÓRIO CANINO

Nesse estudo foram incluídos todos os cães residentes na Ilha com exceção daqueles se donos e aqueles com idade inferior a 3 meses, os primeiros devido ao comportamento agressivo e os últimos devido a possibilidade de a sorologia gerar falsos resultados com reações cruzadas.

Foi apresentado aos proprietários dos cães uma ficha de identificação canina (Apêndice C) e também os fatores de risco representados pelos possíveis animais positivos para a transmissão da LVC. Nesta ficha, foram registrados dados referentes à origem dos animais, idade, sexo, raça, tipo de habitat se convive no peridomicílio ou no intradomicílio, se for andarilho, se convive com outros animais domésticos, se são acompanhados por médicos veterinários, se são vacinados e por fim, suas origens. Ao final do preenchimento do questionário, cada proprietário assinou um Termo de Consentimento para análise e coleta das amostras (Apêndice D), assumindo estar de acordo com a inclusão e participação do animal no estudo e concordando com os procedimentos a serem adotados caso algum animal apresente sorologia positiva para LVC.

Em casos de recusa em participar do estudo, o proprietário também seria orientado a assinar um termo tomando ciência das complicações clínicas que poderiam ocorrer em seu animal caso esse estivesse infectado, porém ainda em fase assintomática (Apêndice E).

4.5.1 Exame Clínico

Os animais participantes do estudo foram submetidos a exames clínicos pelo médico veterinário. Foram aferidos parâmetros fisiológicos relevantes à análise de sinais compatíveis com a LVC. Os cães foram classificados como sintomáticos, se apresentasse mais de um sinal clínico da LVC, e oligossintomático, caso apresentasse somente um sinal ou assintomático, isto é, sem nenhum sinal da protozoose.

4.5.2 Coleta Sanguínea

Inicialmente os animais foram contidos e amordaçados, sempre na presença de seus proprietários, uma vez que, na presença deles os animais se tornam mais dóceis. A venopunção periférica se deu em um dos membros posteriores ou anteriores, a que se mostrou mais favorável a coleta, nos posteriores a punção se deu na safena lateral externa enquanto que nos anteriores ocorreu na veia radial. O local escolhido foi então higienizado a partir do uso de algodão embebido em álcool a 70% do local escolhido, através de seringa de 5,0 ml e agulha de calibre 25x8 mm, para a coleta da amostra sanguínea. Todo material coletado foi armazenado individualmente em tubos contendo EDTA em temperatura de 4°C, com identificação da localidade e código do animal.

Seguindo o protocolo do Ministério da Saúde, o diagnóstico foi dado pelo Teste Rápido Imunocromatográfico - Dual Path Platform (DPP®), no próprio ambiente onde se realizou a coleta de sangue, e pelo teste imunoenzimático (ELISA) realizado no Laboratório de Parasitologia Ambiental da Escola Nacional de Saúde Pública-FIOCRUZ.

Para avaliar a proporção de cães infectados foi calculada a prevalência, que é uma medida de frequência estática, análoga a uma fotografia, relacionada a um ponto no tempo, mesmo que a coleta dos dados ocorra durante dias, meses ou até anos. A fórmula para calcular a prevalência está descrita abaixo.

$$P = \frac{\Sigma \text{ de cães doentes}}{\text{total da população canina}} \times 100$$

4.5.3 Processamento dos Testes Sorológicos

4.5.3.1 Teste Rápido Imunocromatográfico - Dual Path Platform (DPP®)

O kit teste rápido imunocromatográfico Dual Path Platform (DPP®) é utilizado como triagem no diagnóstico de leishmaniose visceral canina, conforme orientações do Ministério da Saúde.

Seguindo o protocolo do próprio fabricante, o teste TRDPP® foi realizado adicionando 5 µL da amostra sanguínea total ao poço 1 (amostra + tampão), e em seguida foram adicionadas 2 gotas do tampão no mesmo poço. Após 5 minutos, as duas linhas azuis, controle (C) e teste (T), desapareceram. A seguir colocou-se 4 gotas do tampão no

poço 2 (tampão), aguardando de 10 a 15 minutos. Após esta etapa, foi realizada a leitura dos resultados no próprio local de coleta das amostras. (Figura 10)

Figura 10: Ilustração do TR-DPP – Teste Imunocromatográfico



Fonte: <https://www.bio.fiocruz.br/index.php/>

4.5.3.2 Teste Imunoenzimático (ELISA)

Para a realização do teste imunoenzimático (ELISA), foi utilizado o teste de EIE (LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA-Bio-Manguinhos) Ensaio Imunoenzimático para diagnóstico da leishmaniose visceral canina, fornecido por Bio-Manguinhos. Este ensaio consiste na reação de soros de cães com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* obtidos a partir de cultura “*in vitro*”, que são previamente adsorvidos nas cavidades de microplacas/strips (fase sólida). Foi dado seguimento ao procedimento iniciado na área de estudo, adicionando, devidamente diluídos, os soros controles do teste e as amostras a serem analisadas, que possuindo anticorpos específicos, fixar-se-iam aos antígenos. Na etapa seguinte, ao se adicionar uma anti-imunoglobulina de cão marcada com a enzima peroxidase, esta se liga aos anticorpos, caso estejam presentes. Para evidenciação da reação, utilizou-se uma substância cromógena (tetrametilbenzidina-TMB) que pela ação da peroxidase com o peróxido de hidrogênio forma um composto de coloração azul turquesa que ao adicionar-se o ácido sulfúrico que interrompe a reação, passa a apresentar uma coloração amarela, em caso positivo (reagente). Nas cavidades que não houverem anticorpos específicos, não haverá desenvolvimento de cor o que caracteriza uma reação negativa (não reagente).

4.6 GEORREFERENCIAMENTO E ANÁLISE ESPACIAL DA PREVALÊNCIA DA INFECÇÃO PELA *L. infantum* NA POPULAÇÃO CANINA DA ILHA DA MARAMBAIA E FATORES SOCIAIS E AMBIENTAIS RELACIONADOS COM A TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL

A geocodificação das localidades estudadas onde foram realizadas as capturas do flebótomos e aplicado o questionário foram realizadas por intermédio do sistema de posicionamento global (GPS). Neste estudo, tanto a frequência de achados dos flebotomíneos (machos e fêmeas, tipo de ambiente e localidade que foram mais abundantes e espécies mais encontradas), quanto a distribuição dos cães sadios e infectados, juntamente com os fatores sociais e ambientais de transmissão da leishmaniose visceral nos locais estudados foram analisados através de mapas temáticos e as relações entre as variáveis dependentes, presença do vetor e infecção por *Leishmania infantum* nos cães e independentes, os fatores sociais e ambientais, foram identificadas através da análise exploratória dos dados coletados e dos mapas elaborados.

Esses dados foram consolidados e tratados via planilha do Excel e os agrupamentos quantitativos por localidades (praias da Ilha da Marambaia) foram feitos a partir de variáveis coletadas em campo, visando a espacialização das informações e apresentação dos dados em mapas de calor e de símbolos proporcionais. Os mapas foram gerados com o Software livre Quantum GIS (QGIS), utilizando bases cartográficas do IBGE.

4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS FATORES EPIDEMIOLÓGICOS DA TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E CARACTERÍSTICAS SÓCIODEMOGRÁFICAS E AMBIENTAIS PERIDOMICILIARES DA POPULAÇÃO CIVIL DA ILHA DA MARAMBAIA

A análise inicial dos dados foi realizada a partir da estatística descritiva para descrever as características mais importantes dos animais avaliados no estudo, o perfil sociodemográfico da população e características ambientais peridomiciliares das residências com animais domésticos e observar a frequência e distribuição das variáveis dependentes e independentes.

As variáveis categóricas foram divididas em:

- Características dos cães: sexo, idade, raça, vacina, diagnóstico positivo para infecção por *Leishmania infantum*, criação livre e atendimento por veterinário;
- Características sócio-demográficas e ambientais: características domiciliares (grau de instrução, idade, sexo, renda), e características peridomiciliares (presença de galinheiro, presença de bananeiras, presença de animais silvestres), distribuição das praias e pontos de estudo localização Leste (Pescaria Velha, Caetana, Cutuca, Praia Grande, Praia do José) e Oeste (praias CADIM, Praça Sebastopol, Rua da Jaqueira, Praia Suja, Praia do Sitio)

O teste do qui-quadrado (χ^2) inicialmente foi utilizado para verificar a associação entre as variáveis categóricas relacionadas à presença do vetor, características dos cães e características sociais e ambientais; posteriormente foi utilizado para verificar a associação entre o risco de infecção dos cães e, do mesmo modo, as características dos cães e ambientais.

Considerando os resultados obtidos pelos modelos dos testes de χ^2 , foram construídos dois modelos de regressão logística. O primeiro para estimar os efeitos das variáveis categóricas preditoras características dos cães e ambientais sobre a variável resposta dicotômica presença do vetor da leishmaniose; o segundo modelo estimou os efeitos das variáveis categóricas preditoras características dos cães e ambientais sobre a variável resposta dicotômica risco de infecção por *L. infantum*. A entrada das variáveis no modelo foi condicionada, através do método passo a passo (para frente e para trás). As

variáveis estatisticamente significativas no teste χ^2 , isto é, $p < 0,05$, foram incluídas primeiro nos modelos de regressão logística.

O primeiro modelo final foi melhor ajustado pelas variáveis presença de galinheiro e raça. O segundo modelo final ficou melhor ajustado pela variável criado livre. Ambos os modelos foram avaliados pela estatística de verossimilhança-log, de Wald, bem como Hosmer e Lemeshow (R^2_v), medidas de Cox e Snell (R^2_{CS}) e Nagelkerke (R^2_N), seguindo o critério de informação de Akaike (AIC). A significância estatística de todas as análises foi de 0,05. (FIELD et al., 2012). O software R 4.0.2 foi utilizado para todas as análises (pacotes: car, descr, epiDisplay, mlogit, gmodels e jtools).

4.8 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS

O presente projeto foi submetido a Plataforma Brasil e aprovado sob número 3.468.058, CAAE 13440819.9.0000.5240 e ao Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA), cuja aprovação está registrada no parecer LW62/19, protocolo P-48/19-3.

5 RESULTADOS

5.1 AVALIAÇÃO DO PERFIL SOCIODEMOGRÁFICO E CARACTERÍSTICAS AMBIENTAIS DOMICILIARES DA POPULAÇÃO CIVIL RESIDENTE NA ILHA

Durante as visitas domiciliares, foi aplicado um questionário para os proprietários dos animais participantes do estudo. Das 47 famílias proprietárias de animais, todas concordaram em responder.

O quadro a seguir apresenta o resultado da pesquisa sociodemográfica e ambiental realizada na ilha da Marambaia durante o período de estudo.

A tabela 1 apresentada permite avaliar o perfil sociodemográfico e ambiental dos proprietários dos cães residentes na Ilha da Marambaia. Este resultado é relevante, pois permite identificar os possíveis fatores sociais e ambientais que possam estar relacionados com a transmissão da leishmaniose visceral canina na região.

A maioria dos entrevistados eram os responsáveis por suas residências e observou-se que 94% deles não haviam completado o primeiro grau do ensino fundamental.

Durante as visitas, 96% dos participantes declararam que as residências apresentavam coleta de lixo regular, foi observado que as casas eram rebocadas nas paredes (91%), possuíam telhas (94%) e todas possuíam banheiro (100%). Entretanto, 53% dos domicílios não possuíam rede de esgoto e apenas 09 % possuíam laje.

No ambiente peridomiciliar foi observado a presença de vegetação em 100% das residências visitadas, galinheiro em 81%, bananeira em 96%, presença de outros animais em 42% das residências.

Dentre os proprietários participantes, 76% não conheciam a leishmaniose, 100% desconhecem a verdadeira origem de seus cães, 11% afirmam que os animais já saíram da Ilha, 15% são assistidos por um médico veterinário, 23% fazem prevenção contra ectoparasitos, 85% são criados presos e 6% costumam sair da Ilha. Este estudo foi realizado em todas as praias habitadas da Ilha e ainda as regiões conhecidas como Rua da Jaqueira e Praça Sebastopol.

| Tabela 1. Informações Sócio-demográficas e de Condições de Moradia | | | |
|---|--------------------------|--------------|----------|
| Variáveis | | N= 47 | % |
| Responsável pela casa | Sim | 43 | 91 |
| | Não | 4 | 8.5 |
| Grau de Instrução | Primeiro Grau incompleto | 44 | 94 |
| | Primeiro Grau completo | 1 | 2 |
| | Segundo Grau incompleto | - | |
| | Segundo Grau completo | 1 | 2 |
| | Terceiro Grau incompleto | - | |
| | Terceiro Grau completo | 1 | 2 |
| | Pós-graduação incompleta | - | |
| | Pós-graduação completa | - | |
| | Nunca foi à escola | | |
| Quantidade de moradores na residência | Até 2 moradores | 7 | 15 |
| | 2 – 5 moradores | 34 | 72 |
| | 6 – 9 moradores | 6 | 13 |
| | Acima de 10 moradores | - | |
| Água encanada | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Energia elétrica | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Coleta de lixo | Sim | 45 | 96 |
| | Não | 2 | 4 |
| Reboco na Parede | Sim | 43 | 91 |
| | Não | 4 | 9 |
| Laje | Sim | 4 | 9 |
| | Não | 43 | 91 |
| Telha | Sim | 44 | 94 |
| | Não | 3 | 6 |
| Cisterna | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Rede de Esgoto | Sim | 22 | 47 |
| | Não | 25 | 53 |
| Banheiro | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Cortina nas janelas | Sim | 18 | 38 |
| | Não | 29 | 62 |

| Tabela 1. Informações Sócio-demográficas e de Condições de Moradia | | | |
|---|----------------------------|----|-----|
| Tela nas janelas | | - | |
| | Sim | 5 | 11 |
| | Não | 42 | 89 |
| Caixa de água com tampa | | - | |
| | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Características ambientais do peridomicílio | Presença de vegetação | 47 | 100 |
| | Galinheiro | 38 | 81 |
| | Bananeiras | 45 | 96 |
| | Presença de outros animais | 20 | 42 |
| Conhece alguma doença transmitida por animais | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Conhece a leishmaniose | Sim | 11 | 23 |
| | Não | 36 | 76 |
| Informações sobre saúde e doença | | | |
| Alguém com episódio de febre com frequência | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Alguém com quadro de “barriga d’água” (hepatoesplenomegalia) | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Tem acesso fácil aos serviços de saúde | | - | |
| | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Costuma fazer exame de rotina | Sim | 35 | 74 |
| | Não | 12 | 25 |
| Alguém já apresentou quadro de anemia | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Informações sobre os cães | | | |
| Possui cães em casa | Sim | 47 | 100 |
| | Não | - | |
| Sabe a origem dos seus cães | Sim | 47 | 100 |
| | Não | | |
| Seus cães já saíram da Ilha da Marambaia | Sim | 5 | 11 |
| | Não | 42 | 89 |
| Tem rotina com veterinário | Sim | 7 | 15 |
| | Não | 40 | 85 |
| Alguna prevenção contra ectoparasitas e mosquitos/moscas no cão | Sim | 11 | 23 |
| | Não | 36 | 76 |
| Algum sintoma de doença infecciosa nos últimos 30 dias | Sim | - | |
| | Não | 47 | 100 |
| Seu cão é criado preso | Sim | 40 | 85 |
| | Não | 7 | 15 |
| Costuma sair da Ilha | Sim | 3 | 6 |
| | Não | 44 | 94 |

A região Leste da Ilha representada pelas praias Pescaria Velha, Praia do José, Praia da Caetana, Praia do Cutuca e Praia Grande apresenta o maior número de residências estudadas, com um total de 74 casas, e dessas 26 possuem cães. A praia da Pescaria Velha mantém o maior número de residências, totalizando 31 casas, sendo 13 participantes do estudo. Em seguida vem a Praia da Caetana com 18 residências e duas participantes, a Praia Grande com nove casas e seis participantes, a Praia do Cutuca com oito casas e uma participantes, e a Praia do José com oito casas e quatro participantes.

Na região Oeste estão localizadas as praias do Sítio, João Manoel, a Praça Sebastopol, a Rua da Jaqueira e a Praia do Cadim, sendo estas com um menor quantitativo de residências e população canina e humana. A praia do Cadim é mais habitada com total de 20 domicílios e seis residências participantes do estudo, em seguida vem a praia Suja com 19 casas e oito participantes da pesquisa, a praia do Sítio com um total de dez casas com quatro casas participantes, a Rua da Jaqueira com oito casas e duas participantes, e por último a Praça Sebastopol com seis casas e uma residência apenas participante.

5.2 ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DA FAUNA FLEBOTOMÍNICA

Durante doze meses de trabalho realizado na Ilha da Marambaia, foram capturados 135 espécimes de flebotomíneos, dos quais 30,3 % são fêmeas e 69,7 % machos. As coletas ocorreram entre os meses de agosto de 2018 a maio de 2021, sendo uma vez na estação chuvosa/quente e outra na estiagem/ fria, e em três sítios de coletas, a área peridomiciliar, o intradomicílio e a mata. Manobras militares, períodos de fortes chuvas, problemas relacionados a transportes e hospedagem implicaram em coletas irregulares. Ao longo desse período capturamos apenas duas espécies *N. intermedia*, a que apresentou a maior densidade e *M. migonei*. Chamou a atenção o fato de que as duas espécies apresentaram números maiores de machos capturados e esse achado indica que o ninho, isto é, o local onde as fêmeas põem seus ovos é exatamente no peridomicílio. Salienta-se ainda que a frequência de flebotomíneos foi praticamente igual tanto no ecótono peridomiciliar quanto na mata ($\chi^2= 1,86$; $p>0,05$). Tanto a espécie *N. intermedia* e *M. migonei* apresentam relevância epidemiológica na transmissão das leishmanioses. (Tabelas 2,3).

Tabela 2: Abundância de espécies de flebotomíneos da Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil.
Capturadas entre agosto de 2018 e maio de 2021

| Local de captura | Espécies capturadas | | | | | | | | TOTAL GERAL | | | | | |
|-------------------------|-----------------------------|-------|-------|-------|---------------------------|-------|-------|-----|-------------|-------|------------|-------|-------|-------|
| | <i>Nyssomyia intermedia</i> | | | | <i>Migonemyia migonei</i> | | | | Macho | | Fêmea | | Total | |
| | Macho | | Fêmea | | Macho | | Fêmea | | Nº | % | Nº | % | Nº | % |
| | Nº | % | Nº | % | Nº | % | Nº | % | | | | | | |
| Pescaria Velha | 44 | 49,4 | 32 | 80,0 | - | - | - | - | 44 | 46,8 | 32 | 78,0 | 76 | 56,3 |
| Praia Grande | 40 | 44,9 | 2 | 5,0 | 5 | 100,0 | 1 | 100 | 45 | 47,9 | 3 | 7,3 | 48 | 35,6 |
| Praia do Cutuca | 5 | 5,6 | 6 | 15,0 | - | - | - | - | 5 | 5,3 | 6 | 14,6 | 11 | 8,1 |
| TOTAL | 89 | 100,0 | 40 | 100,0 | 5 | 100 | 1 | 100 | 94 | 100,0 | 41 | 100,0 | 135 | 100,0 |
| de espécimes | 129 | | | | 6 | | | | 135 | | | | | |
| (%) Abundância relativa | 95,6 | | | | 4,4 | | | | 100,0 | | ////////// | | | |

Em relação aos sítios de captura, a espécie *N. intermedia* apareceu em maior abundância na região peridomiciliar, seguida da região de mata nas proximidades das residências. A espécie *M. migonei*, apareceu em baixa densidade somente na região peridomiciliar dos pontos de coleta.

Vale lembrar que ambas as espécies são rotineiramente encontradas em regiões endêmicas para LVC e LVH.

Tabela 3: Estratificação das espécies de flebotomíneos de acordo com o ecótono onde foram capturados na Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Capturas realizadas entre agosto de 2018 e maio de 2021.

| Ecótono de Captura | Espécies e número de espécimes capturados | | | | | | | | | | | |
|--------------------|---|------|-------|------|---------------------------|-----|-------|-----|-------------|-------|-------|------|
| | <i>Nyssomyia intermedia</i> | | | | <i>Migonemyia migonei</i> | | | | TOTAL GERAL | | | |
| | Macho | % | Fêmea | % | Macho | % | Fêmea | % | Macho | Fêmea | Total | % |
| Intradomicílio | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Peridomicílio | 50 | 74,6 | 11 | 16,4 | 5 | 7,5 | 1 | 1,5 | 55 | 12 | 67 | 49,6 |
| Mata | 39 | | 29 | | - | | - | | 39 | 29 | 68 | 50,4 |
| TOTAL | 89 | | 40 | | 5 | | 1 | | 94 | 41 | 135 | 100 |

$\chi^2= 01,86; p>0,05.$

5.3 INQUÉRITO SOROEPIDEMIOLÓGICO DA POPULAÇÃO CANINA

Em resultado às ações de sensibilização realizadas com a população da Ilha, a aderência da comunidade foi de 100%. Todos os moradores que possuíam cães como animais de estimação concordaram em participar do estudo.

Ao final do inquérito, foi totalizado 80 animais compondo a população canina da Ilha da Marambaia, considerando inclusive os animais com idade inferiores a três meses e os animais relatados como “sem donos”. Estes animais, isto é, aqueles considerados sem donos, posteriormente foram retirados da Ilha pela Secretaria Municipal de Mangaratiba a

pedido do Comando da Marinha do Brasil. Deste número total, apenas 75 foram submetidos a avaliação clínica e sorológica para LVC (Tabela 4).

A distribuição da população canina ao longo das praias habitadas e das localidades com comunidade civil acompanha a densidade da população humana. Durante o trabalho se constatou que alguns animais se deslocavam por toda a ilha podendo ser encontrados em regiões distantes da localização original de seus domicílios. Este comportamento contribuiu como um dos fatores de risco para a transmissão da LVC. A tabela 4 apresenta o número exato de cães que foram submetidos a avaliação clínica e sorológica, além de indicar os animais soro reativos da ilha.

Tabela 4: Cães domésticos submetidos ao exame clínico e sorológico para o diagnóstico da leishmaniose visceral avaliados através do teste rápido imunocromatográfico - Dual Path Plataform (DPP®) e Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA). Ilha da Marambaia Município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil, realizado em 2019 e 2020.

| Localidade | Número de Cães | Cães sororreagentes | % | (%) |
|-------------------------|----------------|---------------------|------|-----|
| Praia da Pescaria Velha | 23 | *2 | 50,0 | 2,7 |
| Praia da Caetana | 7 | **1 | 25,0 | 1,3 |
| Praia do José | 7 | | | |
| Praia do Cutuca | 2 | | | |
| Praia do CADIM | 6 | *1 | 25,0 | 1,3 |
| Praia Suja | 10 | | | |
| Praça Sebastopol | 2 | | | |
| Rua da Jaqueira | 4 | | | |
| Praia Grande | 9 | | | |
| Praia do Sitio | 5 | | | |
| Total | 75 | 4 | | 5,3 |

*Animal reagente ao TR-DPP e ELISA; ** Animal reagente somente ao TR-DPP; frequência de animais reagentes; (%) frequência de animais reatores entre todos os animais investigados.

Em relação a avaliação clínica, todos os animais foram considerados assintomáticos para leishmaniose visceral canina, todavia em avaliação sorológica, quatro animais apresentaram leitura positiva para LVC no TRDPP, e desses, três foram reagentes quando realizado o teste confirmatório ELISA (Tabela 4). Portanto, a prevalência para LVC na Ilha foi de 5%.

Em relação as características dos animais avaliados no estudo, a tabela 5 mostra o percentual de cada uma delas sobre o número total observado quando da investigação. De acordo com as informações obtidas dos proprietários, dentre os animais participantes do estudo, 51% eram machos e 49% eram fêmeas. A maioria (40%) tinha até um ano de idade. Os cães mais idosos estavam entre 8 e 10 anos (8%) e 11% dos proprietários não souberam responder a idade de seus animais. Todos os animais foram classificados como assintomáticos (100%), porém nenhum deles havia sido vacinado e nem passado por nenhum tipo de tratamento contra leishmaniose visceral até o momento da entrevista.

Apenas 3% dos animais possuíam uma rotina com médico veterinário, o que pode aumentar a vulnerabilidade do animal quanto a infecção por *L. infantum*. Segundo os proprietários, no momento da entrevista, 13% dos animais apresentavam algum tipo de doença infecciosa. Em relação ao deslocamento, apenas 4% dos animais costumam sair da Ilha da Marambaia, porém estes animais não entram em contato com outros animais fora da região. Todos os animais são de ambiente silvestre, convivendo no ambiente peridomiciliar com presença de bananeiras (93%), presença de galinheiro (60%), com quintal sombreado e úmido (96%) e com janelas e portas teladas (13%).

Para avaliar a relação entre a presença do vetor e as características caninas, ambientais e fatores de risco para a infecção por *L. infantum* foi realizado o teste qui-quadrado de acordo com a tabela a seguir.

| Tabela 5: Inferências a cerca de alguns fatores de risco para a transmissão da <i>Leishmania infantum</i> (Nicolle, 1908) para cães domésticos residentes na Ilha da Marambaia, Município de Mangaratiba, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Tendo em conta a presença e a ausência do vetor biológico em número absolutos. Estudo realizado entre 2019 e 2020. | | | | | | |
|--|--------------------|-----------------|----------|------------------------------|------|----------|
| Fatores de risco | | Vetor biológico | | Número de animais (N= 75) | % | p -Valor |
| | | Presença | Ausência | | | |
| Sexo | Macho | 12 | 22 | 38 | 51,0 | 0,6 |
| | Fêmea | 13 | 19 | 37 | 49,0 | |
| Raça | Puro | 10 | 10 | 20 | 26,7 | 0,9 |
| | SRD | 24 | 31 | 55 | 73,3 | |
| Faixa etária | 04m – 12 meses | 12 | 17 | 30 | 40,0 | 0,3 |
| | 02 – 04 anos | 8 | 16 | 23 | 30,7 | |
| | 05 – 07 anos | 7 | 3 | 8 | 10,7 | |
| | 08 – 10 anos | 2 | 2 | 6 | 8,0 | |
| | Sem idade definida | - | - | 8 | 10,7 | |
| O ambiente frequentado pelos cães domésticos | | | | | | |
| Presença em plantações de banana ? | Sim | 34 | 34 | 70 | 93,3 | 0,01* |
| | Não | 0 | 7 | 5 | 6,7 | |
| Presença em galinheiros ? | Sim | 31 | 14 | 45 | 60,0 | 0,001* |
| | Não | 3 | 27 | 30 | 40,0 | |
| Livres e em abrigos dos animais | Sim | 5 | 2 | 10 | 13,3 | 0,3 |
| | Não | 29 | 39 | 65 | 86,7 | |

Segundo a análise do qui-quadrado e resíduos padronizados mostrado na tabela 5 sobre a presença do vetor flebotômico na Ilha da Marambaia, apurou-se foi observado que não há associação significativa com a maioria das características caninas e fatores ambientais. Isso significa que, com base na contribuição do qui-quadrado e resíduos padronizados, só a presença de bananeiras e de galinheiro foram as variáveis significativas relacionadas à distribuição e presença do vetor na Ilha, apresentando esta última maior significância estatística. Esses fatos condizem com a ecologia do flebotômico, o qual

apresenta uma maior disseminação nas áreas onde existem condições ambientais favoráveis.

As variáveis sexo, idade e raça dos cães não apresentaram associação com a presença do vetor na Ilha durante o período de estudo. A criação livre, a presença do veterinário, a vacinação e o diagnóstico positivo para infecção por leishmania também não mostraram ter relação com a presença do vetor. É importante destacar que apenas dois cães eram vacinados contra outras doenças infecciosas, e 34 dos não vacinados convivem na área onde o vetor está presente, sendo e que 94,7% não são atendidos pelo veterinário. Todos esses fatos extraídos da pesquisa representam um perigo potencial para a disseminação da doença na Ilha da Marambaia. Esses resultados indicam a necessidade de medidas de prevenção e controle naqueles domicílios que apresentam bananeiras e galinheiros, por serem eles potenciais fatores de risco de transmissão LVC.

Tabela 6: Valores estimados pela análise de regressão logística dos fatores de risco significativos relacionados à presença do vetor biológico da *Leishmania infantum* na Ilha da Marambaia, estado do Rio de Janeiro. Estudo realizado entre 2019 e 2020.

| Variáveis | β (SE) | 95% CI Razão de Chance | | |
|--------------------------------|-------------------|------------------------|-----------------|----------|
| | | Inferior | Razão de chance | Superior |
| Constant | -1.71** (0.63) | | | |
| Presença de galinheiro (Sim) | 4.32*** (1.13) | 12,18 | 75,35 | 1541,7 |
| Canino de raça pura | -1.95 (1.14) | 0,007 | 0,14 | 0,96 |
| Canino sem raça definida (SRD) | -2.32* (1.12) | 0,005 | 0,1 | 0,62 |

Note: R2=0,34 (Hosmer-Lemeshow); 0,37 (Cox-Snell); 0,50 (Nagelkerke). Model $\chi^2(56a) = 34,82$; p< 0,001. ***; p<0,01**; p=< 0,05*.

A análise de regressão logística resumida na tabela 6 indicou que o galinheiro e os cães SRD são variáveis relacionadas à presença do vetor na Ilha da Marambaia. O modelo explicou que estão entre 34% e 50% os efeitos desses fatores sobre a presença do vetor nessa área de estudo. A entrada da presença de bananeira no modelo não mostrou melhoria, por esta razão foi excluída. Com o ajuste, o modelo mostra que o fator presença de galinheiro aumentou em média a chance de o vetor estar presente nesses domicílios em 75,35 vezes, resultado que corrobora a forte associação exposta na estatística qui-quadrado. Nesse caso os limites, tanto inferior como superior do intervalo de confiança acima de 1 apontam a que a direção da relação que observamos é verdadeira na população

estudada. Quanto à raça, os cães sem raça definida (SRD) representou uma diminuição de 0.1 na chance estar presente o vetor nos domicílios com essa raça de cães. O limite inferior abaixo de 1 do intervalo de confiança sugeriu que existe uma chance de que a direção da relação seja oposta à observada; o que finalmente significa que essa variável não prevê com exatidão a chance de o vetor estar presente.

5.4 RISCO DE INFEÇÃO DOS CÃES

A análise do qui-quadrado mostrado na tabela 5,6 sobre o risco de infecção dos cães na Ilha da Marambaia, indicaram que não havia associação significativa com maioria características dos cães e ambientais. Porém, com base na contribuição do qui-quadrado e resíduos padronizados sobre a amostra, apenas a criação livre dos cães foi estatisticamente significativa relacionada ao risco de infecção por *Leishmania* na Ilha. Esse resultado é compatível com a maior probabilidade de infecção, já que a movimentação dos cães livremente pode trazer maior exposição do animal ao vetor. Esses resultados indicam a necessidade de medidas de erradicação dos cães sem donos ou fora dos domicílios, por serem potenciais fontes de contaminação e transmissão para o vetor para outros cães e conseqüentemente para os humanos.

Em relação às outras variáveis representadas na tabela, não se constatou associação com o risco de infecção dos cães que habitam na Ilha durante o período de estudo.

A respeito da segunda análise de regressão logística resumida na tabela 6 indicou que a criação livre é um fator relacionados ao risco de infecção dos cães na Ilha da Marambaia, aumentando o risco em média em 13, 2 vezes. A entrada no modelo do resto das variáveis não mostrou melhoria, pelo que foram excluídas. O modelo explicou entre 15% e 18% os efeitos dessa variável sobre o risco de infecção. Esse resultado também corrobora a forte associação exposta na estatística qui-quadrado. Igualmente os limites, tanto inferior como superior do intervalo de confiança da regressão logística acima de 1 apontam a que a direção da relação que observamos é verdadeira na população estudada.

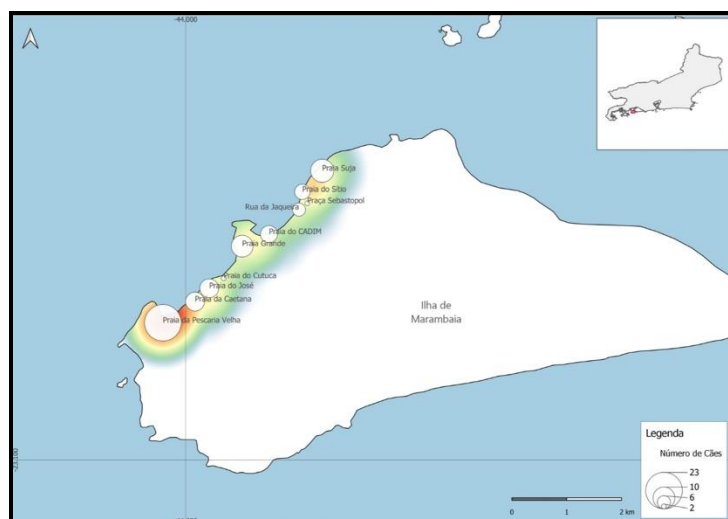
5.5 DISPERSÃO GEOGRÁFICA DOS CASOS DE LEISHMANIOSE CANINA ASSOCIADOS COM A PRESENÇA DO VETOR, ALÉM DE OUTROS FATORES DE RELEVÂNCIA SOCIAL E AMBIENTAL

Neste estudo, para monitorar os cães infectados por *L. infantum* e seus fatores de risco, a presença do vetor e os fatores sociodemográficos e ambientais da população possivelmente associados a transmissão da LVC, foram elaborados mapas que demonstrassem como a zoonose tem evoluído espacialmente e também apresentar características fundamentais da doença na Ilha da Marambaia, já que a doença tem apresentado comportamento distinto de região para região, e ainda de município para município (BEPA, 2013).

A distribuição canina no momento de realização do estudo apresentou-se de forma heterogênea de acordo com a Figura 11. Os animais aparecem em maior concentração na porção Leste da Ilha da Marambaia, sendo o lado Oeste com uma menor concentração canina.

A praia da Pescaria Velha foi a localidade com maior densidade canina da região Leste, somando um total de 23 cães, obedecendo também a concentração da população humana que se apresenta em maior número nesta localidade da Ilha.

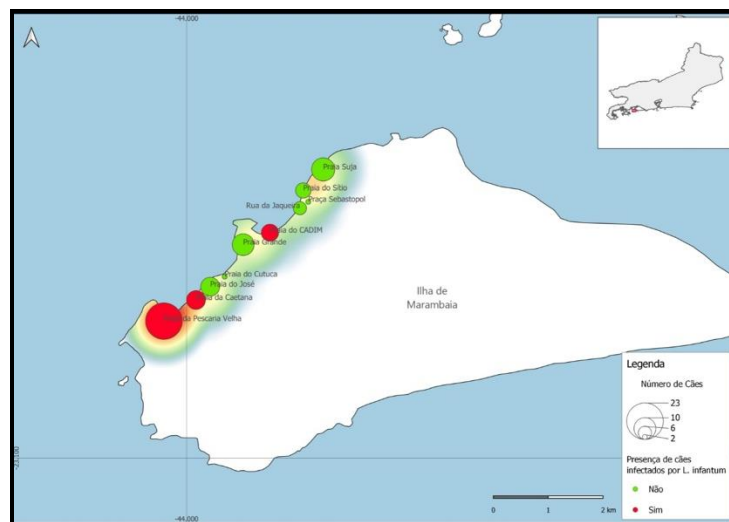
Figura 11: Distribuição da população canina nas regiões estudadas na Ilha da Marambaia – período 2018-2021.



Na figura 12, além da distribuição da população canina, a variável infecção por *L. infantum* também pode ser observada. Nota-se que a maior concentração de casos está

localizada ao lado Leste da Ilha, onde também estão registrados o maior número de animais. Na direção Leste-Oeste observa-se a diminuição do comportamento da doença, fato este que pode ser explicado pela medida que a força da vulnerabilidade socioambiental aumenta ou diminui mais rapidamente em relação à outra direção. A alta densidade de residências aglomeradas, bem como elevado número de cães e presença do vetor, são fatores importantes na proliferação de doenças, e no caso específico da LVC, esta aglomeração certamente facilita a alimentação do flebotomíneo, já que este inseto não precisa e teoricamente não conseguiria se deslocar para áreas muito distantes.

Figura 12: Distribuição dos cães infectados por *L. infantum* na Ilha da Marambaia- período de 2018-2021.



As áreas com maior densidade de LVC estão mais próximas das variáveis ambientais, de acordo com a figura 13 e 14. Enquanto a variável presença de galinheiro está concentrada de maneira regular na região Lesta da Ilha, a variável presença de bananeira estende-se por toda as localidades trabalhadas. Considerando as análises estatísticas realizadas no presente estudo, ambas variáveis são importantes estatisticamente para a transmissão da LVC, sendo características peridomiciliares favoráveis a presença do vetor flebotomíneo.

Figura 13: Distribuição da variável ambiental presença de galinheiro ao longo das regiões Leste-Oeste na Ilha da Marambaia – período 2018-2021.

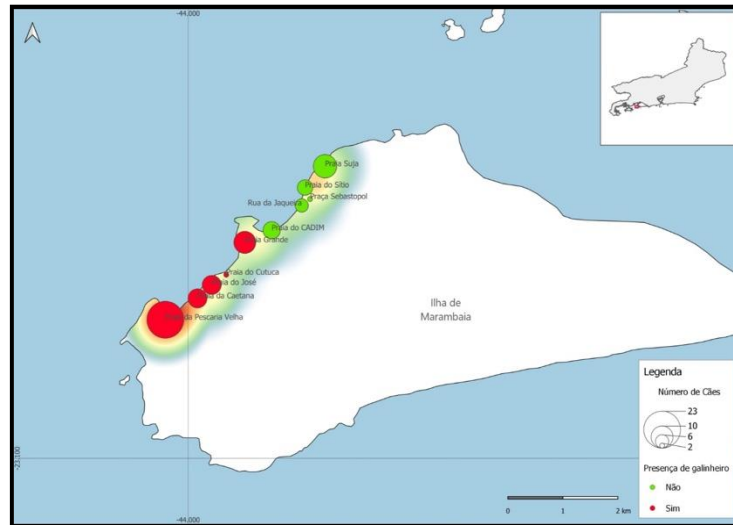
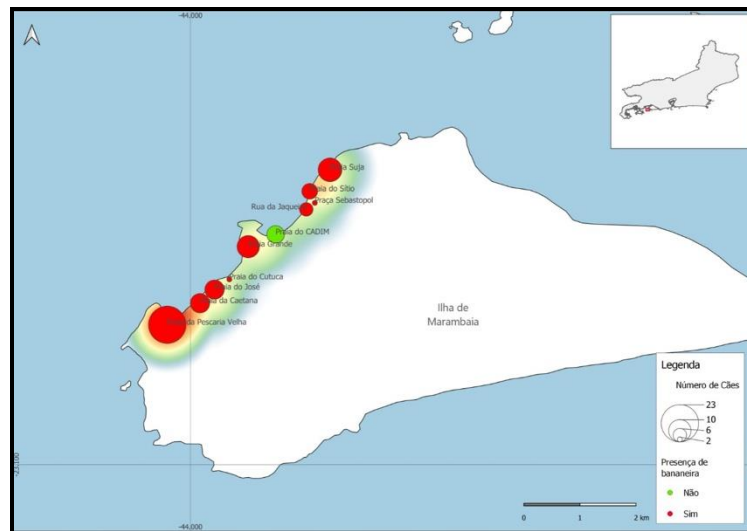


Figura 14: Distribuição da variável ambiental presença de bananeira ao longo das regiões Leste-Oeste na Ilha da Marambaia – período 2018-



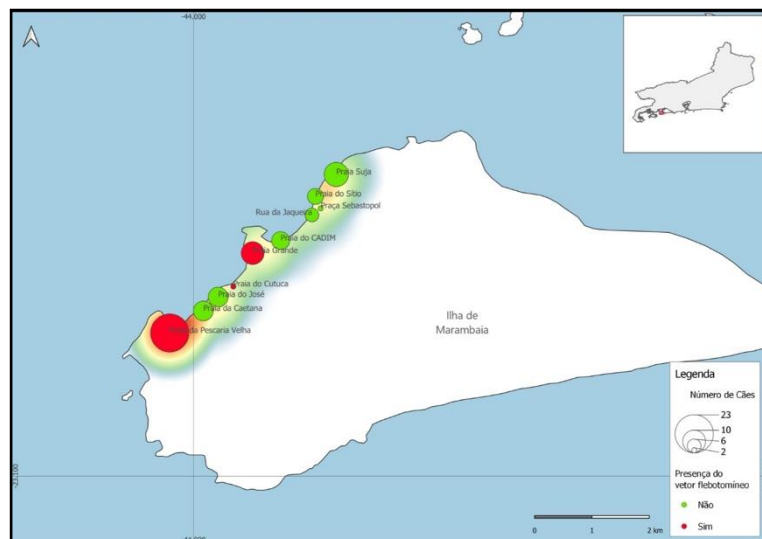
Ao contrário dos resultados de estudos realizados anteriormente, a presença do vetor flebotomíneo apresentou baixa densidade e distribuição nas capturas realizadas, de acordo com a ilustração da figura 15.

Apenas a praia da Pescaria Velha, Praia da Caetana e Praia Grande apresentaram registros do vetor. Este fato pode ser explicado devido às características presentes nas localidades praieiras de estudo, tais como maior densidade de população humana e canina,

maior deficiência de saneamento básico, maior exposição de lixo exposto em locais inadequados, presença de outros animais que servem como fonte de alimento para o vetor dentro e ao redor do peridomicílio e as inúmeras alterações antrópicas, incluindo o desmatamento, observadas durante as visitas realizadas na região, as quais modificam e destroem o habitat natural do flebotomíneo.

Este resultado constata de que a adaptação do flebotomíneo às condições do peridomicílio relativizou o papel de outras variáveis consideradas importantes na adaptação do vetor, como por exemplo a presença de vegetação que representa um fator ambiental significativo na dinâmica epidemiológica da doença.

Figura 15: Localização da presença do vetor na região Leste da Ilha da Marambaia – período de 2018-2021



6 DISCUSSÃO

A ocorrência dos surtos de leishmaniose visceral e a expansão e distribuição geográfica da doença podem ser explicados por vários fatores, tendo dentro desse contexto o meio ambiente desempenhando um papel importante na dinâmica de transmissão da doença.

A mudança observada no perfil epidemiológico da doença, inicialmente rural e hoje urbano, pode ser explicada devido aos processos sociais, agronegócios e ambientais ocorridos nos últimos anos, que proporcionaram um contato ainda maior entre os seres humanos e animais domésticos e silvestres, vulnerabilizando cada vez mais a população (WHO, 2010). É necessário, portanto, cada vez mais, trabalhar na avaliação e conhecimento dos fatores de risco de transmissão, bem como seus determinantes sociais e ambientais

Segundo a Organização Mundial de Saúde, ambiente e saúde incorporam todos os elementos e fatores que potencialmente afetam a saúde, incluindo, entre outros, a exposição a fatores específicos como substâncias químicas, elementos biológicos ou situações que interferem no estado psíquico do indivíduo, até aqueles relacionados a aspectos negativos do desenvolvimento social e econômico dos países (OPAS, 1990).

Segundo Oliveira (1993) o ambiente está fortemente relacionado aos problemas de saúde, haja vista que dependendo de suas características, pode potencializar a difusão de doenças infecciosas e determinar a existência de espécies transmissoras de doenças em alguns locais, dependendo o tipo de clima, a umidade, as temperaturas, a vegetação, a altitude e as condições socioeconômicas de um local. Assim, o conceito de ambiente traz implícita a ideia de espaço doente e espaço que cura, já que maior ou menor risco associado a uma doença depende de suas características como a localização ou a distância do foco contaminante, podendo ser um feito decisivo.

Estudos sobre fatores de transmissão de LV comprovam que grande parte dos lugares onde existe a transmissão, tanto humana quanto canina, as condições socioeconômicas da região são precárias. Habitações inadequadas, ausência de estrutura sanitária, aglomerado populacional, presença de potenciais criadouros de flebotômios em quintais e presença de animais domésticos nas residências são fatores que favorecem a expansão da doença. Mais ainda, a redução dos investimentos em saúde e educação, e falhas nas ações de controle da doença (CESSE *et al.*, 2001; DUJARDIN *et al.*, 2008; CERBINO- NETO; WERNECK; COSTA, 2009; COURA-VITAL *et al.*, 2011). Porém, as

condições de transmissibilidade da LV estão principalmente correlacionadas à adaptação do vetor aos ambientes silvestres e antropizados e à presença de fontes de infecção (CESSE *et al.*, 2001; MORENO *et al.*, 2005; BORGES *et al.*, 2009).

A Ilha da Marambaia corresponde a extremidade oeste, montanhosa, da Restinga da Marambaia e em seu interior existe uma Área de Preservação Ambiental (APA), criada pelo Decreto Estadual nº 9.802 de 12 de Março de 1987, do Estado do Rio de Janeiro, a qual permanece intacta. Nela existe larga faixa da Mata Atlântica original o que reforça a caracterização da região como ambiente silvestre. Enquadra-se no macroclima tipo Aw- Clima Tropical Chuvoso, com temperatura média de 18° C no mês mais frio e 22° C no mês mais quente do ano (MATTOS, 2005).

Apresenta aspectos ecológicos favoráveis a presença de várias doenças infecciosas e parasitárias, desde áreas com vegetação densas, presença de vários mamíferos silvestres reservatórios de agentes infecciosos em ambiente peridomiciliar e co-habitando com animais domésticos, precariedade em infra-estrutura sanitária e principalmente, diversidade de artrópodes de importância médica e veterinária, sendo considerada por vários autores como ambiente favorável a transmissão da LVC.

O primeiro caso de leishmaniose diagnosticado na Ilha da Marambaia foi em 1996, quando um caso do tipo muco-cutânea foi confirmado, e mais dois casos do tipo tegumentar humana diagnosticado em 2002 na Praia do Sítio, porém o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose (2006), classifica a área como silenciosa na transmissão da zoonose (MS- SINAN, 2006).

Os estudos sobre a LVC na Ilha da Marambaia foram iniciados em 2014, quando Alonso, na região conhecida como Praia Suja, diagnosticou o primeiro caso clinicamente sintomático com quadro de caquexia e hiperplasia de nódulos linfáticos, com crescimento parasitológico para *L. infantum* e sorologia positiva. Ao examinar 121 cães, a autora obteve resultados reagentes para 22 animais, com uma prevalência de 18,2% casos. Este resultado se aproxima do resultado encontrado por, Carmo *et. al.* (2014), onde a prevalência foi de 10% dos 116 animais avaliados na mesma região. Os testes sorológicos utilizados para o diagnóstico foram a reação de imunofluorescência indireta (RIFA) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) sendo o protocolo utilizado pelo Ministério da Saúde até 2006 para avaliação da soroprevalência em inquéritos caninos amostrais e censitários.

No presente estudo, observou-se uma menor prevalência de casos, quando comparada aos achados anteriores. Os animais reagentes foram clinicamente classificados como assintomáticos com uma prevalência de 05%. Para o diagnóstico dos casos foram

utilizados como triagem o teste rápido TR-DPP® Leishmaniose Visceral Canina (Dual Path Platform) e o ensaio imunoenzimático (ELISA) como teste confirmatório. O Ministério da Saúde, por meio da Nota Técnica Conjunta 01/2011, substituiu o protocolo de diagnóstico anterior da LVC, sendo utilizado o teste DPP como teste de triagem e o ELISA como teste confirmatório. De acordo com esta nota, estudos realizados comprovaram que o teste rápido apresenta desempenho superior ao teste sorológico de LV distribuído anteriormente pelo MS (Reação de Imunofluorescência Indireta).

Resultados que apresentam alta prevalência de infecção utilizando o protocolo antigo do Ministério da Saúde e baixa prevalência no protocolo atual também foram observados no estudo realizado por Hirschmann *et. al* (2015) no Rio Grande do Sul. O protocolo utilizado atualmente tem demonstrado uma redução da sensibilidade do diagnóstico de leishmaniose visceral canina, levantando a hipótese de que possivelmente estão subestimando os casos de LVC ou o protocolo antigo estaria produzindo muitos resultados falso-positivo.

Gonçalves (2010) obteve resultados semelhantes em seu estudo quando comparou isoladamente os testes de DPP e IFI e comprovou que o teste rápido apresenta desempenho mais elevada quando comparado com a IFI.

Figueiredo *et. al.* (2018) ressalva em seu trabalho sobre a bom desempenho do TR-DPP em um número de amostras de LVC de diferentes áreas brasileiras, alertando sobre possíveis alterações no resultado de acordo com a sintomatologia do animal. Entretanto destaca a obtenção de resultados satisfatórios tanto em animais sintomáticos quanto assintomáticos quando comparados a estudos realizados anteriormente.

Para explicar a baixa prevalência apresentada na presente pesquisa também pode-se considerar as medidas de vigilância epidemiológica e controle da transmissão da LVC aplicadas pelas autoridades de saúde e até mesmo pela própria população na região diante dos resultados obtidos anteriormente.

A redução do número de cães domiciliados e circulando livremente pela Ilha, a permanência deles em sua região de moradia sem o deslocamento antes ocorrido até o continente através das embarcações da Marinha, a prática da eutanásia aplicada como medida de controle de infecção, seguindo protocolo do Ministério da Saúde, após resultados de estudos realizados também podem ser fatores que possam explicar os resultados aqui apresentados.

Vários trabalhos têm sido realizados com o objetivo de se identificar os principais fatores de risco relacionados a transmissão da leishmaniose visceral canina. Estudos

epidemiológico que demonstraram fatores como gênero (macho), idade, e pelagem (curta) associados a infecção foram realizados por Belo et al. (2013) em revisão sistemática, na região da Paraíba por Silva (2016), em Pernambuco por Dantas -Torres *et al.* (2006), na Croácia por Zivicnjak *et al.* (2005) e na Espanha por Fisa *et al.* 1999. Estes autores acreditam que a grande prevalência em cães machos pode ser explicada pela exposição a riscos distintos na e/ou aumento na mortalidade feminina devido a gravidez e amamentação. Destacam ainda a utilização de cães machos para a caça e normalmente são os preferidos como cão de guarda, dois fatores que aumentam a exposição ao flebótomo. Estes resultados divergem com os encontrados na Ilha da Marambaia.

Quanto à variável faixa etária, os dados aqui referidos também estão em discordância com os de Dantas Torres *et al.* (2015) e Medeiros *et al.* (2013), que observaram uma estatística significativa nos cães jovens, o que pode estar associado à imaturidade imunológica, tornando-os bastante vulneráveis para contrair a infecção e evoluir para doença sintomática, com a positividade sendo mais facilmente observada nas reações sorológicas. Porém, esse resultado discorda dos encontrados por Almeida *et al.* (2010), que descreveram ser mais frequente em cães adultos. Entretanto Santos *et al.* (2011) e Silva *et al.* (2010) afirmaram que não há predisposição quanto à idade corroborando com os resultados do presente estudo.

A variável raça também não apresentou significância estatística neste estudo, corroborando com estudos realizados por Medeiros *et al.* (2013) e Silva *et al.* (2010), nos quais esta variável foi analisada, e também não foi considerada um fator de risco para a infecção.

De acordo com a análise estatística realizada, a única característica canina encontrada no estudo estatisticamente significante foi a criação livre dos animais. Este fator não só pode ser considerado com um fator de risco para a infecção por *L. infantum*, como também pode contribuir na compreensão da baixa prevalência apresentada considerando que a maioria dos animais, no momento do estudo, eram criados presos.

Não foram observadas manifestações clínicas nos animais durante o período de estudo, sendo portanto classificados como assintomáticos. Resultados estes que corroboram com as afirmativas de Moshfe *et al.* (2020), relatando que estudos soroepidemiológicos da LVC têm revelado um número importante de animais soropositivos assintomáticos e ainda assim, estes animais mantem um papel importante na manutenção da infecção por *Leishmania* e provavelmente no estabelecimento do ciclo de transmissão regional do parasita nas áreas de transmissão de LVC.

No inquérito entomológico, a baixa densidade vetorial também foi observada, sendo capturados apenas em três localidades (Praia da Pescaria Velha, Praia da Caetana e Praia Grande – região leste da Ilha). As espécies encontradas foram *Nyssomyia intermedia* e *Migonemyia migonei*, ambas de importância médica e veterinária incriminadas na transmissão da leishmaniose tegumentar e leishmaniose visceral respectivamente. A espécie *Lutzomyia longipalpis*, principal incriminada na transmissão da LV no Brasil, não apresentou registros de captura no período de estudo.

O levantamento da fauna flebotomínica da Ilha da Marambaia foi feito pela primeira vez por Novo et al. (2013), que descreveram um total de treze espécies coletadas, sendo a *N. intermedia* encontrada em maior densidade (79,9%) e distribuída por toda a região, seguida por *M. migonei* (18,7%). A presença de *Lu. longipalpis* foi constatada em baixa densidade (menos de 0,4% dos flebotomíneos coletados). Alonso et al. (2014) capturaram em 2010 na Ilha de Marambaia 14 espécies de flebotomíneos, inclusive *Psathyromyia pascalei*, a qual ainda não havia registro na região. Novamente *N. intermedia* foi a espécie predominante (80,37 %) seguida por *M. migonei* (18,2%). *Lu. longipalpis* correspondeu a 0,39% dos flebotomíneos capturados.

Carmo et al. (2012) capturaram nove espécies de flebotomíneos, corroborando com os estudos anteriores, registrando a ampla distribuição de *N. intermedia* (81%) seguida por *M. migonei* (16%), assim como a baixa densidade de *Lu. longipalpis*, que representou menos de 1,6% dos flebotomíneos coletados. De Lima et al. (2014) capturaram 8 espécies de flebotomíneos no período de Julho de 2012 a Julho de 2013, na mesma área de estudo, 62,7% correspondendo a *N. intermedia*, 33,4% a *M. migonei*, ambos com diagnóstico de infecção natural por *L. infantum*, e 2,4% a *Lu. longipalpis*.

Dias et al. (2015) coletou em seu estudo realizado na mesma região um total de 1505 espécimes de flebotomíneos, com 6 espécies identificadas: *Nyssomyia intermedia*, *Migoneimyia migonei*, *Pintomyia fischeri*, *Evandromyia edwardsi*, *Brumptomyia sp.* e *Micropygomyia capixaba*, sendo as duas primeiras mais abundantes, correspondendo a 51,4% e 43,5% das espécies capturadas respectivamente. Não foram registradas durante o período de trabalho espécies de *Lutzomyia longipalpis*. Este resultado corrobora com todos os estudos realizados anteriormente na área

Todos estes registros de coletas realizados na Ilha de Marambaia revelaram uma ampla distribuição de *N. intermedia*, seguido por *M. migonei*, e uma baixa densidade de *L. Longipalpis*, o que fortalece a hipótese de uma outra espécie estar participando na

transmissão da leishmaniose visceral canina na região, conforme os estudos de Almeida *et al.* (2010), Missawa *et al.* (2011), Silva *et al.* (2014),

A ausência de *Lutzomyia longipalpis* em áreas de notificação de leishmaniose visceral canina já havia sido registrada por Marzochi *et al.* (2003), Codeço *et al.* (2015), Abrantes *et al.* (2018), Pasanisi (2020) sugerindo a participação de uma outra espécie envolvida no ciclo de transmissão da doença.

A ocorrência de determinada espécie numa comunidade local é determinada parcialmente por suas adaptações às condições e recursos e parcialmente por interações competitivas com outras espécies. Esse processo de seleção de espécies pode explicar a ausência de *L. longipalpis* nas localidades trabalhadas devido as características silvestres da região, e distribuição em baixa densidade quando comparadas as outras espécies. *Lu. longipalpis* foi registrada abundantemente em áreas urbanas, como nos municípios do Rio de Janeiro (RODRIGUES, 2017), Montes Claros (MONTEIRO *et al.* 2005) e Campo Grande (SILVA *et al.* 2007). Estes registros reforçam a tendência de adaptação desta espécie aos ambientes antropizados, como já descrito por Lainson e Rangel (2005), Werneck (2008), Brazil (2013) e Marzochi (2009).

A espécie *N. intermedia* foi apontada como principal transmissora da *Leishmania braziliensis* em São Paulo e Rio de Janeiro, e o encontro de espécimes naturalmente infectados em Santa Catarina e Rio Grande do Sul reforça seu papel como vetor desse protozoário nessa região específica do país e possivelmente também na Argentina (RANGEL e LAINSON, 2003; MARCONDES *et al.* 2009; PITA-PEREIRA *et al.* 2009; LAVITSCHKA, 2017). Sua ocorrência tem sido registrada principalmente em florestas e matas secundárias, como também em ampla distribuição nas áreas periurbanas e urbanas das regiões Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste (BRAZIL, 2014).

Como já apresentado anteriormente, esta espécie tem sido registrada frequentemente como uma das mais abundantes da Ilha Marambaia, área de notificação de casos autóctones de LVC. De Lima (2014) em seus estudos realizados nesta região, notificou o registro abundante dessa espécie com diagnóstico de infecção natural por *L. infantum*. Este resultado não confirma sua participação no ciclo de transmissão da zoonose na região, entretanto fortalece a hipótese de que pode estar atuando como vetora de leishmaniose na região.

Neste estudo, embora em baixa densidade, também houve registros da espécie *M. migonei*, corroborando com estudos anteriores como uma das mais abundantes da área. Esta espécie tem sido notificada em áreas com registros de casos autóctones e não

autóctones da LVC, portanto, tendo seu estudo de capacidade vetorial frequentemente realizado. O encontro desta espécie com infecção natural em Pernambuco, Argentina e Ilha da Marambaia associado a baixa densidade ou ausência da espécie *L. longipalpis* sugere sua participação no ciclo de transmissão da leishmaniose visceral canina (CARVALHO *et. al.* 2010; MOYA *et. al.* 2015; DE LIMA, 2014).

Em doze meses de captura, observou-se um baixo número de espécimes do vetor flebotomíneo. A ocorrência de fatores como irregularidade nas capturas devido às dificuldades de acesso a área de estudo (manobras militares, manutenção da embarcação da Marinha, questões administrativas e climas chuvosos), podem ter contribuído para essa baixa densidade de espécies. Também foi observado durante as visitas, a prática de atear fogo nos resíduos, ou até mesmo na própria vegetação para a redução dos insetos devido ao incomodo provocado por eles na população (relato ouvido dos próprios moradores). Fatos que contribuem para o afastamento ou até mesmo a eliminação de insetos.

O comportamento dos vetores da leishmaniose tem apresentado diversidade variando de acordo com a região. Além da necessidade de se ampliar os estudos de biologia, é importante buscar novos modos de capturas e coleta dos flebotomíneos, uma vez que há espécies que apesar de saber-se estarem presentes e com potencial transmissor da *L. infantum*, ainda assim são capturadas em pequenos números pelas armadilhas luminosas tradicionais. Isso torna necessário o uso daquelas de mais difícil manuseio, exigindo iscas animais ou prolongado trabalho de captura manual. Ainda nesse caso, a tentativa de colonização das espécies poderia contribuir para os estudos de comportamento e de resposta diferentes estímulos, que serviriam como base para o desenvolvimento de armadilhas mais eficazes.

Ainda que se apresente com baixa prevalência na infecção canina e baixa densidade do vetor, A Ilha da Marambaia apresenta condições ambientais favoráveis a transmissão da leishmaniose visceral canina.

De acordo com o questionário aplicado, a população da Ilha vive em constante vulnerabilidade socioambiental a infecção da LVC. Infraestrutura sanitária inadequada, coleta irregular dos resíduos, presença de vegetação próxima as residências, acúmulo de matéria orgânica ao redor das residências facilitando a adaptação do flebotomíneo no ambiente peridomiciliar, presença de criadouros naturais do vetor e relato de animais silvestres coabitando próximos aos animais domésticos são fatores já apontados por Belo *et. al.* (2013), Marcondes e Rossi (2013) e Alvar *et. al.* (2006) e Souza *et. al.* (2014) como determinantes na transmissão da leishmaniose visceral canina e humana. Além disso, há

uma tendência dos grupos de baixa renda residirem em áreas com más condições sanitárias e em situações de risco ambiental, talvez porque estas sejam as únicas áreas acessíveis à população com menor poder aquisitivo, o que aumenta a vulnerabilidade da transmissão da zoonose para esse grupo populacional (MIRANDA, 2008; MARCONDES e ROSSI, 2013).

As técnicas de análise espacial são ferramentas essenciais para a saúde pública. O uso dos sistemas de informação geográfica permite identificar os modos de distribuição dos agravos/doenças, e é útil ao nortear ações e políticas públicas de saúde.

Ferramentas de geoprocessamento, em especial o sensoriamento remoto, podem ser uma alternativa para identificação de fatores ambientais que se associem com a ocorrência da LV. A identificação desses fatores pode contribuir para a determinação da alocação de recursos e implementação de medidas de controle.

Através da ilustração dos mapas da área, foi possível observar a distribuição espacial do número de cães sadios e infectados associados a presença do vetor, aos fatores de risco e determinantes sociais e ambientais da transmissão da LVC. Conforme descreve a literatura, em alguns trabalhos pode-se observar que os principais focos da doença permanecem ao longo do tempo, mantendo o mesmo padrão (TAVARES; TAVARES, 1999; OLIVEIRA, 2001; BARBOSA, 2012). Contraditoriamente, o que se verifica na Ilha da Marambaia é uma pequena disseminação e permanência de um único foco ao longo de todo o período analisado, sugerindo a realização de intervenções bem-sucedidas e ações de educação ambiental por parte Secretaria de Saúde de Mangaratiba e da população.

O único foco observado, com apenas dois casos registrados, foi na localidade da Pescaria Velha, onde também está concentrada a maior população canina, humana e de flebotomíneos. A existência desse mesmo foco registrado nos estudos anteriores, ainda que pequeno atualmente, permite sugerir que essa área representa problema para a região. Fatores ambientais como a presença de galinheiro e bananeira foram identificados na localidade, sugerindo a intensificação de ações de educação ambiental para a população local, principalmente nessa área da Ilha.

A análise espacial da LVC representa uma grande contribuição nos estudos desta zoonose, isso porque, possibilita a apreensão da visualização geral associada à informação dos determinantes ambientais locais. O geoprocessamento, o Sensoriamento Remoto e as ferramentas de Sistemas de Informação Geográfica permitem a manipulação de banco de dados que dão suporte a consultas que indicam características e podem definir padrões acerca das doenças

Este estudo confirmou a hipótese de que o ambiente, em seu sentido amplo, é definidor e condiciona o aparecimento e a disseminação dos casos, entretanto alguns locais, considerando o caso estrito e suas características ambientais, foram mais propícios ao aparecimento da doença do que outros. O ambiente possibilita o aparecimento, mas não necessariamente o elevado número de casos.

7 CONCLUSÕES

Embora a Ilha da Marambaia tenha apresentado no presente estudo uma baixa prevalência de infecções caninas e baixa densidade do vetor flebotomíneo, sendo classificada pelo Ministério da Saúde como área de transmissão esporádica, a região permanece em relevância epidemiológica na transmissão da zoonose.

O presente trabalho confirmou a hipótese de que as condições ambientais e sociais são determinantes na transmissão da LVC, sendo identificadas durante o período de estudo todas as características consideradas pela literatura fundamentais para a infecção por *L. infantum* em regiões endêmicas e não endêmicas.

As medidas de controle e de monitoramento implantadas pelos estudos realizados anteriormente foram imprescindíveis para a redução da infecção canina e proliferação do vetor. Isso explica os resultados encontrados no presente trabalho.

Neste contexto, é recomendável que a região continue sob fiscalização e vigilância ambiental e epidemiológica para que a doença não se instale como caráter endêmico e falha sanitária na região.

8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A identificação da prevalência, considerando o número de cães notificados pelo número de cães existentes, é fator decisivo para se entender a gravidade da doença, haja visto que alta prevalência indica as áreas mais afetadas em que, independentemente do número de cães, a doença afeta mais algumas áreas do que outras.

A baixa densidade de cães infectados, classifica a Ilha da Marambaia como área de transmissão esporádica de acordo com o Ministério da Saúde. Entretanto não se pode ignorar a existência do risco de infecção a região. A presença do vetor e todas as condições ambientais favoráveis ao ciclo de transmissão da doença torna a região uma área vulnerável sendo necessária a continuidade das ações de vigilância ambiental e epidemiológica, bem como o entendimento sobre o comportamento do vetor para a compreensão da epidemiologia dos parasitas.

A realização deste estudo possibilitou o conhecimento da situação epidemiológica atual da leishmaniose visceral canina na Ilha da Marambaia bem como seus fatores de risco e determinantes sociais e ambientais. Desta forma, mesmo diante da baixa prevalência de cães infectados, a área apresenta relevância epidemiológica na transmissão da LVC, exigindo a necessidade de profissionais da saúde capacitados para realizar diagnóstico preciso da enfermidade, além de dar continuidade às ações de controle e prevenção da doença, aliado ao fato da readequação do protocolo de diagnóstico, uniformizando as metodologias mais efetivas pelas autoridades competentes, em diferentes situações epidemiológicas.

REFERÊNCIAS

- ABDELMOULA, M.S.; M'HAMDI, Z.; AMRI, F.; TEBIB, N.; BEN TURKIA H.; BEN DRIDI, M.F. **Visceral leishmaniasis in children: prognostic factors.** *Tunis Med* 81: 545-549, 2003.
- ABRANTES, T.R.; WERNECK, G.L.; ALMEIDA, A.S.; FIGUEIREDO, F.B. **Fatores Ambientais Associados à Ocorrência de Leishmaniose Visceral Canina em uma Área de Recente Introdução da Doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil.** *Cadernos de Saúde Pública*, 34(1)e00021117, 2018.
- AGUIAR, G.M.; VILELA, M.L.; LIMA, R.B. **Ecology of the sandflies of Itaguaí, na area of cutaneous leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro. Food preferences (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae).** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*; 82: 583-584, 1987.
- ALENCAR, J.E.; HOLANDA, D.; CAVALCANTE, J.D.N. **Calazar no Vale do Jaguaribe. Ceará, 1955.** *Revista Brasileira de Malariologia e Doenças Tropicais*, Rio de Janeiro, 8(1): 33-47, 1956.
- ALMEIDA, A.B.P.F, MENDONÇA AJ, SOUSA VRF. **Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil.** *Ciência Rural*. v. 40 (7): p. 1610-1615. 2010.
- ALMEIDA, P. S. de; NASCIMENTO, J. C. do; FERREIRA, A. D.; MINZÃO, L. D. PORTES, F.; MIRANDA, A. M.; FACCENDA, O.; FILHO, J.D.A. **Espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil.** *Entomologia Médica e Veterinária. Revista Brasileira de Entomologia*. 54 (2). 2010.
- ALONSO, Rafaela dos Santos. **“Leishmaniose visceral: estudo de reservatório canino na Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil”.** Tese de Doutorado. Fundação Oswaldo Cruz, 97 páginas. 2014.

ALVAR, J.; VELEZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; BOER, M. WHO-LEISHMANIASIS CONTROL TEAM. **Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence**. PLOS ONE, v.7, p. 1-12. 2012.

ALVAR, J.; YACTAYO, S.; BERN, C. **Leishmaniasis and Poverty**. Trends in Parasitology, Volume 22, Issue 12, p. 552-557. December. 2006.

ARAUJO e SILVA, E.; ANDREOTTI, R; HONER, M. R. **Comportamento de *Lutzomyia longipalpis*, vetor principal da leishmaniose visceral americana, em Campo Grande, Estado do Mato Grosso do Sul**. Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical. 40 (4). 2007.

BARBARA, M.D.; HERWALDT, L. **Leishmaniasis**. SEMINAR v. 354 ISSUE 9185. p. 1191-1199. 1999.

BARBOSA, David Soeiro. **Distribuição Espacial e definição de áreas prioritárias para vigilância da Leishmaniose Visceral no município de São Luís, Maranhão**. 2011. 103 f. Dissertação de Mestrado em Epidemiologia em Saúde Pública. Escola Nacional de Saúde Pública - ENSP. Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 103 f. 2011.

BARBOSA, I.R.; NETO, R.D.S.; SOUZA, P.P. de; SILVA, R.A.; LIMA, S.R.; CRUZ, I.D.S.; COSTA, I.C.C. **Aspectos da Coinfecção Leishmaniose Visceral e HIV no Nordeste do Brasil**. Revista Baiana de Saúde Pública, v.37, n.3, p. 672-687. 2013.

BASTOS, Thiago Souza Azeredo. **Aspectos Gerais da Leishmaniose Visceral**. Universidade Federal de Goiás Escola de Veterinária e Zootecnia. 2012. Dissertação de Seminários de Mestrado, Universidade Federal de Goiás, Goiás, 2012.

BEJARANO, E.F.; URIBE, S.; ROJAS, W.; VELEZ, I.D. **Presence of *Lutzomyia evansi*, a vector of American Visceral Leishmaniasis, in urban area of the Colombian Caribbean coast**. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 95: 27-32. 2001.

BELO, V.S.; WERNECK, G.L.; BARBOSA, D.S.; SIMÕES, T. C.; NASCIMENTO, B.W.L.; SILVA, E. S. S.; STRUCHINER, C. J. **Factors Associated with Visceral**

Leishmaniasis in the Americas: A Systematic Review and Meta-analysis. Plos Neglected Tropical Diseases, volume 7. 2013.

BEVILACQUA, P.D.; PAIXÃO, H.H.; MODENA, C.M.; CASTRO, M.C.P.S. **Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte,** Arq. Bras. Med. Vet. Zootec. vol.53: n. 1. 2001.

BORASCHI, Claudio Souza e Silva. **Inquérito sobre o conhecimento da população da cidade de Três Lagoas - MS sobre leishmaniose visceral. 2007.** 49. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba. 2007.

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. **Presença de animais associada ao risco de transmissão da leishmaniose visceral em humanos em Belo Horizonte, Minas Gerais.** Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia, v. 61, n. 5, p. 1035-1043, 2009.

BORGES, B.K.A.; SILVA, J.A.; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, E.C.; MAGALHÃES, D.F.; RIBEIRO, L.M.L.R.; FIUZA, V.O.P.F. **Assessment of knowledge and preventive attitudes concerning visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil.** v. 24, n. 4, p. 777- 784. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância e Controle de Leishmaniose Visceral.** Brasília: Ministério da Saúde. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Casos confirmados de Leishmaniose, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federativas, 1990 a 2011.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Disponível em: http://portal.saude.gov.br/portal/saude/profissional/area.cfm?id_area=1561. 2012.

BRASIL. MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Guia de Vigilância Epidemiológica.** Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília. 2005.

BRAZIL. Ministério da Saúde. **Leishmaniose Visceral: recomendações clínicas para redução de mortalidade**. Brasília: Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica, Série A: Normas e Manuais Técnicos. 2011.

BRAZIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância Epidemiológica. 1.^a ed. 3.^a reimpressão Série A. Normas e Manuais Técnicos, 2006.

BRAZIL, R.P. & BRAZIL, B.G. **Biologia de Flebotomíneos Neotropicais**. In: Flebotomíneos do Brasil. Rangel & Lainson Edits, Editora FIOCRUZ. p. 257- 274. 2003.

BRAZIL, R.P.; BRAZIL, B. G. **Vetores da Leishmaniose Tegumentar Americana**. In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R. Leishmanioses do Continente Americano. Editora Fiocruz. 2014.

BRAZIL, Reginaldo Peçanha. **The dispersion of *Lutzomyia longipalpis* in urban areas**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. v 46 (3): p. 263-4. 2013.

CABRAL, M. et al. **The immunology of canine leishmaniosis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs**. *Veterinary Parasitology*, v. 76, n. 3, p. 173-180, 1998.

CABRERA, M.A.; PAULA, A.A.; CAMACHO, L.A.; MARZOCHI, M.C.; XAVIER, S.C.; SILVA, A.V.; JANSEN, A.M. **Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors**. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v.25, n.2, p.79-83, 2003.

CALDAS, A.J.M. et al. **Infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* em uma área endêmica de leishmaniose visceral americana na Ilha de São Luíz-MA, Brasil**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 34, p. 445-451, 2001.

CALDAS, A.J.M.; COSTA, J.M.L.; SILVA, A.A.M.; VIANHAIS, V.; BARRAL, A. **Risk factors associated with asymptomatic infection by *Leishmania chagasi* in northeast Brazil**. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* v. 96, n. 1 p. 95:1-8, 2002.

CARMO, Livia Aparecida Lopes do. **Monitoramento sorológico de novos casos de leishmaniose visceral canina e avaliação da fauna flebotômica na Ilha da Marambaia, município de Mangaratiba, RJ.** 2013. viii,39 f. Dissertação (Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2013.

CARNEIRO, A.C.A.V.; ANDRADE, G.M.; COSTA, J.G.L.; PINHEIRO, B.V.; VASCONCELOS-SANTOS, D.V.; FERREIRA, A.M.; S.C.; JANUÁRIO, J.N.; VITOR, R.W.A.; **Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* revealed highly diverse genotypes for isolates from newborns with congenital toxoplasmosis in southeastern Brazil.** Journal of clinical microbiology, v. 51, n. 3, p. 901–907. 2013.

CASTELLANOS, P.L. **Epidemiologia, saúde pública, situação de saúde e condições de vida. Considerações conceituais.** In: Condições de Vida e Situação de Saúde (Org. Rita Barradas Barata). Rio de Janeiro: ABRASCO. 1997.

CAVALCANTI, Milena de Paiva. **Desenvolvimento e avaliação de um sistema baseado em PCR em tempo real para o diagnóstico da infecção por *Leishmania (Leishmania) infantum* em cães.** Tese (Doutorado em Saúde Pública) - Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Recife. 2008.

CERBINO, N.J.; WERNECK, G.L.; COSTA, C.H.N. **Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil.** Cadernos de Saúde Pública. 25:1543-1551. 2009.

CESSE, E. A. P.; CARVALHO, E. F.; ANDRADE, P. P.; RAMALHO, W. M.; LUNA, L. **Organização do espaço urbano e expansão do Calazar.** Revista Brasileira de Saúde Materno e Infantil, v. 1, n. 2, p. 167-76, 2001.

CFMV. Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Resolução nº 714, de 20 de junho de 2002.** Disponível em: [http:// portal.cfmv.gov.br/lei/download-arquivos/326](http://portal.cfmv.gov.br/lei/download-arquivos/326). Acessado em 16 de janeiro de 2019.

CHAGAS, E.; CUNHA, A. M.; CASTRO, G. O.; FERREIRA, L. C. & ROMAÑA C. **Leishmaniose visceral americana (Nova entidade mórbida do homem na América do**

Sul). Relatório dos trabalhos realizados pela Comissão Encarregada do Estudo da Leishmaniose visceral americana em 1936. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 32:321-385, 1937.

CHAGAS, Rebeca Luniere de Abreu. **Leishmaniose Visceral Canina: Perfil Epidemiológico do Distrito Federal de 2013 a 2017.** Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária. 2017.

CLAUDIA SCATOLIM DE ALMEIDAA.; INGRID MACENTEB.; APARECIDA DE SOUZA MARQUESB.; CÁSSIA DE SOUZA POLETTOB.; DE CÁSSIA CARIS FANTINM.; FALKINI DIASR.; RIBEIRO LATORRER. Desafios do diagnóstico da leishmaniose visceral canina: relato de caso. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, v. 17, n. 3, p. 54-59. 2019.

CODEÇO, Amanda Oliveira. **Investigação de caso autóctone de leishmaniose visceral canina na região do Jacaré, município de Niterói, Rio de Janeiro.** Dissertação de Mestrado. Fundação Oswaldo Cruz, Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca. Rio de Janeiro. 2013.

CONCEIÇÃO-SILVA, F., ALVES, C.R. **Leishmanioses do Continente Americano.** Editora Fiocruz. 2014.

CONDE, M.M.S.; LIMA, H.R.P.; PEIXOTO, A.L.; **Aspectos florísticos e vegetacionais da Marambaia, Rio de Janeiro, Brasil.** In: História Natural da Marambaia. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica; P. 133-168. 2005.

COSTA, J.M.L. **Epidemiologia das Leishmanioses no Brasil.** Gazeta Médica da Bahia, Salvador, v. 75, n. 1, p. 3-17. 2005.

COURA-VITAL W, REIS AB, FAUSTO MA, LEAL GG, MARQUES MJ, VELOSO VM, CARNEIRO. **Risk factors for seroconversion by *Leishmania infantum* in a cohort of dogs from an endemic area of Brazil.** PLoS One. 22(8):e71833. 2013.

COURA-VITAL, W.; MARQUES, M. J.; VELOSO, V. M.; ROATT, B. M.; AGUIAR-SOARES, R. D. O.; REIS, L. E. S.; BRAGA, S. L.; MORAIS, M. H. F.; REIS, A. B.; CARNEIRO, M. **Prevalence and factors associated with *Leishmania infantum* infection of dogs from an urban area of Brazil as identified by molecular methods.** PLoS Neglected Tropical Diseases, v. 5, n. 8, p. 1-10, 2011.

CRUZ, I.; MORALES, M.A.; NOGUER, I.; RODRIGUEZ, A.; ALVAR, J. **Leishmania discarded syringes from intravenous drug users.** Lancet 30 (359): 1124-1125. 2002.

CUPOLILLO, E.; BOITÊ, M.C.; PORROZZI, R. **Considerações sobre a Taxonomia do Gênero *Leishmania*.** In: CONCEIÇÃO-SILVA, F., ALVES, C.R.(Org.) Leishmanioses do Continente Americano. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro. p. 39-67. 2014.

DANTAS-TORRES F. **Canine leishmaniosis in South America.** Parasites & Vectors.; 2(1): p. 1-8. 2009.

DANTAS-TORRES, F. **Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco.** Revista de Saúde Pública, São Paulo, v.40, n.3, p. 537-541. 2006.

DANTAS-TORRES, F. **The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*.** Veterinary Parasitology, Amsterdam, v.149, p. 139-146. 2007.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M.E.F. de; BRANDÃO-FILHO, S.P. **Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil.** Veterinary Parasitology. v. 140, p. 54-56. 2006.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. **Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopes vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani* em área endêmica da calazar, no Ceará.** O Hospital, v. 48, p. 61-76, 1955.

DEREURE, J.; PRATLONG, F.; REYNES, J.; BASSET, D.; BASTIEN, P.; DEDET, J.P. **Hemoculture as a toll for diagnosing visceral leishmaniasis in HIV-negative and HIV-**

positive patients: interest for parasite identification. Bull World Health Organ. 76: 203-206. 1998.

DESJEUX, P. **Leishmaniasis.** Public health aspects and control. Clinical Dermatology, 14, 417-423. 1996.

DIAS, D. V. et al. **Leishmaniose visceral canina: estudo parasitológico e histológico em olhos de cães. Parte I.** Revista Brasileira Oftalmologia, v. 58, n. 5, p. 331-337, 1999.

DIAS, Quezia Nunes Peres. **Avaliação do teste rápido Sandfly para infecção natural por *Leishmania* em flebotomíneos.** 2015. xviii,112 f. Dissertação (Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2015.

DOURADO, Z.F.; SILVA, H. D.; LACERDA, E. de P.S.; ZAPATA, M.T.A. **Panorama Histórico do Diagnóstico Laboratorial da Leishmaniose Visceral até o Surgimento dos Testes Imunocromatográficos.** Revista de Patologia Tropical. Vol. 36 (3): 205-214. Set-dez. 2007.

DUJARDIN, J. C.; CAMPINO, L.; CAÑAVATE, C.; DEDET, J. P.; GRADONI, L.; SOTERIADOU, K.; MAZERIS, A.; OZBEL, Y.; BOELAERT, M. **Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe.** Emerging Infectious Diseases, v. 14, n. 7, p. 1013-1018, 2008

FEITOSA, M.A.C.; CASTELLÓN, E.G.; **Fauna de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em fragmentos de floresta ao redor de conjuntos habitacionais na cidade de Manaus, Amazonas, Brasil. I.** Estratificação Vertical. Acta Amazônica, v. 36(4): 539 – 548. 2006.

FELICIANGELI, M.D.; RODRIGUEZ, N.; DE GUGLIELMO, Z.; RODRIGUEZ, A. **The reemergence of American visceral leishmaniasis in an old focus in Venezuela. II** Vectors and parasite. Parasite 6: 113-120. 1999.

FELIPE, I.M.A.; AQUINO, D.M.C.; KUPPINGER, O.; SANTOS, M.DC.; RANGEL, M.E.S.; BARBOSA, D.S.; BARRAL, A.; WERNECK, G.L.; CALDAS, A.J.M. **Leishmania infection in humans, dogs and sandflies in a visceral leishmaniasis endemic area in Maranhão, Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 106 (2): 207-211, 2011.

FELIPE, K.; COSTA, D.L; SANTOS, S.; AMÓRA, A.; FERNANDES, C.; COUTO, D.A. et al. **Awareness of visceral leishmaniasis and its relationship to canine infection in riverside endemic areas in Northeastern Brazil.** Rev Soc Bras Med Trop. ;47(10):607–12. 2014.

FERNANDEZ-COTRINA, J.; INIESTA, V.; BELINCHON-LORENZO, S.; MUNOZMADRID, R.; SERRANO, F.; PAREJO, J.C.; GÓMEZ-GORDO, L.; SOTO, M.; ALONSO, C.; GÓMEZ-NIETO, L. C. **Experimental model for reproduction of canine visceral leishmaniosis by *Leishmania infantum*.** Veterinary Parasitology, Amsterdam. 2012.

FIGUEIREDO, F. B.; MADEIRA, M.F. **Os Parasitos e a Questão da Infecção em Animais Domésticos Domiciliares.** In: CONCEIÇÃO-SILVA, F; ALVES, C. R. Leishmanioses do Continente Americano. Editora Fiocruz. 2014.

FISA, R.; GÁLLEGO M.; CASTILLEJO, S.; AISA, M.J.; SERRA, T.; RIERA, C.; CARRIÓ, J.; GÁLLEGO, J. & PORTÚS, M. **Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain): The example of the Priorat focus.** Vet. Parasitol. 83: p. 87-97. 1999.

FOCACCIA R. **Tratado de Infectologia.** 3ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu. 2010. 2169 pp. 2010.

FONSECA, Aliani Moura. **Diagnóstico de leishmaniose visceral utilizando proteínas de *Leishmania infantum* com função desconhecida.** 2013. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. 2013

FORATTINI O.P. **Entomologia Médica.** São Paulo: Edgar Blücher; Vol. 4: p. 6 48. 1973.

FUNASA. Fundação Nacional de Saúde. Portaria interministerial N.º 1.399, de 15/12/99. Disponível em: http://www.funasa.gov.br/site/wo-content/files_mf/Pm_1399_1999.pdf. Acessado em 3 de dezembro de 2019.

GALARDO K.R.; GALARDO C.D; SANTANA, A.A.; MENDES J.C.C.; SOUZA F.R.A.; DUARTE P.D.; SARAIVA J.F.; PINNA L.C.L.; CARVALHO, R.W.; CORREA A.P.S.A.; LIMA A.C.S.F. **Primeira Ocorrência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* Lutz & Neiva, 1912 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Estado do Amapá, Brasil.** *Biota Amazônia*. 3:179-183. 2013.

GALATI, E.A.B., REGO-JUNIOR, F.A., NUNES, V.L.B., & TERUYA, E. **Fauna flebotomínica do município de corumba, Mato Grosso do Sul, brasil e descrição de *Lutzomyia forattinii* n.sp. (Diptera, psycodidae, phlebotominae).** *Revista Brasileira de Entomologia*, 29 (2): 261-266. 1985

GAMA, M.E.A. et al. **Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral no Estado do Maranhão, Brasil.** *Cadernos de Saúde Pública*, v. 14, p. 381-390, 1998.

GAMA, M.E.A.; COSTA, J.M.L.; GOMES, C.M.C.; CORBETT, C.E.P. **Subclinical form of the American Visceral Leishmaniasis.** 99 (8): 889-893. 2004.

GENARI, Izabel Cristina Contel. **Conhecimento de escolares sobre leishmaniose visceral. 2009.** Dissertação de Mestrado. Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba. 2009.

GENARO, O.; MAYRINK, W.; MICHALICK, M.S.M.; DIAS, M.; COSTA, C.A.; MELO, M.N. **Naturally occurring visceral leishmaniasis in dogs:clinical aspects.** *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*. 83, (Supl. 1) 43. 1988.

GENARO, O.; MAYRINK, W.; MICHALICK, M.S.M.; DIAS, M.; DA COSTA, C.A. & MELO, M.N. **Naturally occurring visceral leishmaniasis in dogs: Clinical aspects.** *Memórias Instituto. Oswaldo Cruz* 83:43. 1988.

GIUNCHETTI, R.C; MAYRINK, W.; GENARO, O.; CARNEIRO, C.M.; MARTINS-FILHO, O.A.; MARQUES, M.J.; TAFURI, W.L.; REIS, A.B. **Relationship between canine visceral leishmaniosis and the *Leishmania (Leishmania) chagasi* burden in dermal inflammatory foci.** Journal of Comparative Pathology. 2006; 135 (2-3):100-107. 2006.

GONÇALVES, Bianca de Santis. **Leishmaniose Visceral Canina na área urbana de Cuiabá MT: comparação de técnicas laboratoriais, tentativa de desenvolvimento de metodologia para o diagnóstico e caracterização da espécie de *Leishmania* circulante em amostra selecionada.** Dissertação de Mestrado. Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca – Fundação Oswaldo Cruz. 2010.

GONTIJO, C.M.F.& MELO, M.N. **Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas.** Revista Brasileira Epidemiologia, vol. 7 nº 3. 2004.

GRIMALDI, G., JR.; TEVA, A.; DOS-SANTOS, C. B.; SANTOS F. N.; PINTO, I.; SOUZA, F. B. F.; LEITE, G. R.; FALQUETO, A. **Field trial of efficacy of the Leish-tec® vaccine against canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in a endemic area with high transmission rates.** Plos One. 2017.

GUERIN, P.J.; OLLIARO, P.; SUNDAR, S.; BOELAERT, M.; CROFT, S.L.; DESJEUX, P.; WASUNNA, M.K.; BRYCESON, A.D. M. **Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and a proposed research and development agenda.** The Lancet infectious disease. 2002; 2: 494-501.

GUILLOUX, Aline Gil Alves. **Estimativa da População de Cães Errantes e a sua Associação com Fatores Socioeconômicos e Ambientais.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. 2011.

GUIMARÃES, R.R.; GUIMARÃES Jr., R.R.; RODRIGUES, H.R.S.; GUIMARÃES, R.R.; CARVALHO, R.W. **Percepções e representações sociais da comunidade quilombola acerca dos tabânidas (Diptera, Tabanidae) na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro.** Visa em Debate, Sociedade Ciências e Tecnologia. (4):71-79. 2016.

HAAS, D.J.; TORRES, A.C.D. **Aplicações das Técnicas de PCR no Diagnóstico de Doenças Infecciosas dos Animais**. Revista Científica de Medicina Veterinária :1679-7353. 2016.

HERRERA, L.; D'ANDREA, P.S.; XAVIER, S.C.C.; MANGIA, R.H.; FERNANDES, O.; JANSEN, A.M. ***Trypanosoma cruzi* infection in wild mammals of the National Park 'Serra da Capivara' and its surroundings (PiauÍ, Brazil), an area endemic for Chagas disease**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 99: 379-388. 2005.

HERWALDT, B.L. **Miltefosine – The long-awaited therapy for visceral leishmaniasis**. The New England Journal of Medicine. 1999; 341: 1840-1842.

HIRSCHMANN, L. C.; BROD, C. S.; RADIN, J.; SIMON, C.F.; RECUERO, A. L.C. **Leishmaniose Visceral Canina: Comparação de Métodos Sorológicos em Cães de Área Indene do Rio Grande do Sul No Brasil**. Revista Patologia Tropical. vol. 44 (1): 33-44. 2015.

IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia. 2009. Disponível em <https://www.ibge.gov.br/index.php>. Acessado em 12 de dezembro de 2018.

JERONIMO, S.M. et al. **An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil**. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine Hygiene, v. 88, p. 386-388. 1994.

JERÔNIMO, S.M.B.; DUGALL, R.F.; BRAZ, C.; CHENG, G.R.; MONTEIRO, E.T.; NASCIMENTO, D.R.; MARTINS, T.M.; KARPLUS, M.F.; XIMENES, C.C.; OLIVEIRA, V.G.; PINHEIRO, W.; PEREIRA, J.M.; PERALTA, J.; SOUZA, I.M.; MEDEIROS, R.D.; PEARSON, T.L.; BURNS, E.W. **An emerging peri-urban pattern of infection with *Leishmania chagasi*, the protozoan causing visceral leishmaniasis, in northeast Brazil**. Scandinavian Journal of Infectious Diseases. 36: 443-449. 2004.

JERONIMO, S.M.B.; TEIXEIRA, M.J.; SOUSA, A.Q.; THIELKING, P.; PEARSON, R.D.; THOMAS G.E. **Natural History of *Leishmania* (*Leishmania*)**

***chagasi* infection in Northeastern Brazil: Long-Term Follow-Up.** Clinical Infectious Diseases. 30 (3): 608–609. 2000.

KEENAN, C.M.; HENDRICKS, L.D.; LIGHTNER, L.; JOHNSON, A.J. **Visceral leishmaniasis in the German shepherd dog. II. Pathology** Veterinary Pathol. 21(1):80-6. 1984.

KILLICK-KENDRICK, R. **Biology of *Leishmania* in phlebotomine sandflies. Biology of Kitenoplastida.** (Edited by Lumsden, W.H.R. and Evans, D.A.), vol. 2. Academic Press, London. p. 395 – 460. 1979.

KILLICK-KENDRICK, R. **Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: A review.** Medical and Veterinary Entomology 4: 1-24, 1990.

KUBISTA, M.; ANDRADE, J.M.; BEGTSSON, M.; FORROTAN, A.; JONAK, J.; LIND, K. L.; SINDELKA, R.; BACK, R.S.; GREEN B.S.; STRÖMBOM, L.; STAHLBERG, A.; ZORIC, N. **The Real Time Polymerase Chain Reaction. Molecular Aspects of Medicine.** United Kingdom. v.27, p. 95-125. 2006.

LAINSON, R.; BRAGA, R. R.; SOUZA, A. A.; POVOA, M. M.; ISHIKAWA, E. A.; SILVEIRA, F.T. ***Leishmania (Viannia) shawi* sp. n., a parasite of monkeys, sloths and procyonids in Amazonian Brazil.** Ann Parasitol Hum Comp. 1989; 64(3): 2007.

LAINSON, R.; RANGEL, E.F. ***Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 100: 811-827, 2005.

LAINSON, R.; RANGEL, E.F. **Ecologia das Leishmanioses.** In: Rangel EF, Lainson R, editores. **Flebotomíneos do Brasil.** Rio de Janeiro: Editora Fiocruz. p.291-309. 2003.

LAURENTI, M.D.; ROSSI, C.N, DA MATA, V.L.; TOMOKANE, T.Y.; CORBETT, C.E.; SECUNDINO, N. F.; PIMENTA, P.F.; MARCONDES, M. **Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania infantum chagasi* to the natural vector.** Veterinary Parasitologia, 77 (1) 15-24, 1996.

LAVITSCHKA, C.O. **Competência vetorial de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) para *Leishmania (Viannia) braziliensis*.** Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo – Instituto de Medicina Tropical. 2017.

LEAL, G.G.A.; CARNEIRO, M.; PINHEIRO, A.C.; MARQUES, L.A.; KER, H.G.; REIS, A.B.; **Risk profile for Leishmania infection in dogs coming from an area of visceral leishmaniasis reemergence.** *Prev Vet Med*; 150: p. 1–7. 2018.

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA – Revisão de literatura CANINE LEISHMANIA INFECTIONS - Review Bruno Cesar

LIVAK, K.J.; SCHIMTTGEN, T.D. **Analises of relative gene expression. Using real time quantitative PCR method.** *Nucleic Acids Research*, Oxford, v. 25. p. 402-408, 2001.

LIMA, Denise Alves de. **Estudo da fauna flebotomínica em área de notificação de casos autóctones de leishmaniose visceral canina, na Ilha da Marambaia, Mangaratiba, estado do Rio de Janeiro.** 2014. 59 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

LUVIZOTTO, M. C. R. **Diagnóstico da leishmaniose visceral canina.** Manual Técnico Leishmaniose Visceral Canina. Fort Do dge. p. 28. - 29, 2006

MANCIANTI, F.; GRAMICCIA, M.; PIERI, S. **Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of diferente clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment .** *Trans R Soc Trop Med Hygiene*. 82(4):566-7. 1988.

MARCONDES, M.; ROSSI, C.N. **Leishmaniose Visceral no Brasil.** *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.*, São Paulo, v. 50, p. 341-352, 2013.

MARSELLA R. & GOPEGUI R.R. **Leishmaniasis: A re-emerging zoonoses**. *Int. J. Dermatol.* 37:801-814. 1998.

MARZOCHI, K.B.F.; MARZOCHI, M.C.A.; SILVA, V.L.; CARVALHO, R.W.; SOUZA, M.B.; GOMES, M.Z.G.; SOUZA, M.J.F.S.; ANDRADE, M.V.; ALMEIDA, D.C. **Prospective evaluation of human visceral leishmaniasis after treatment in Rio de Janeiro, 1977-1993**. In: Brandão Filho S (ed). *Research and control of human leishmaniasis in Brazil*. Fundação Oswaldo Cruz, Recife, p. 275-283, 1993.

MARZOCHI, M.C.A. & MARZOCHI, K.B.F. **Tegumentary and Visceral Leishmaniasis in Brazil - Emerging Anthroozoonosis and Possibilities for Their Control**. *Cadernos de Saúde Pública*, Rio de Janeiro, 10 (supplement 2): 359-375, 1994.

MARZOCHI, M.C.A.; COUTINHO, S.G.; SOUZA, W.J.S.; TOLEDO, L.M.; JUNIOR, G.G.; MOMEN, H.; PACHECO, R.S.; SABROZA, P.C.; SOUZA, M.A.; JUNIOR, F.B.R.; TRAMONTANO, N.C. **Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983)**. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, v.80, p.349-357, 1985a.

MARZOCHI, M.C.A.; FAGUNDES, A.; ANDRADE, M.V.; SOUZA, M.B.; MADEIRA, M.F.; MOUTA-CONFORT, E.; SCHUBACH, A.O.; MARZOCHI, K.B.F. **Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brasil: aspectos eco-epidemiológicos e controle**. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, vol. 42 nº 5. 2009.

MARZOCHI, M.C.A.; MARZOCHI, K.B.F.; CARVALHO, R.W. **Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro**. *Parasitology Today*, 10: 37-40. 1994.

MARZOCHI, M.C.A.; SABROZA, P.C.; TOLEDO, L.M.; MARZOCHI, K. B.F.; TRAMONTANO, N.C. & RANGEL-FILHO, F.B. **A leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro, Brasil**. *Cadernos de Saúde Pública*, 1: 5-17. 1985b.

MATTOS, C.C.L.V. **Caracterização climática da restinga da Marambaia**. RJ. In MENEZES, L.F.T., PEIXOTO, A.L. and ARAÚJO, DSD. (Eds.). *História Natural da*

Marambaia. Rio de Janeiro: Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. p. 55-66. 2005.

MCMICHAEL, A.J. **Environmental and social influences on emerging infectious diseases: past, present and future.** Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., 29 (1447): 1049-1058. 2004.

MEDEIROS, C.F.O.; MELO, A.G.C; LIMA, A.K.F.; SILVA, I.N.G.; OLIVEIRA, L.C.; SILVA, M.C. **Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará.** Ciência Animal.18(1): p. 33-40. 2008.

MICHALICK, M.S.M.; GENARO, O. **Leishmaniose Visceral Americana.** In: NEVES, D. P. et al. Parasitologia Humana, 11th ed. São Paulo: Atheneu. P. 67 – 83. 2005.

MILLER, M.B. **Molecular diagnosis of infectious diseases.** NC MED J, v. 68, n. 2, p. 115–118. 2007.

MIRANDA, S.; ROURA, X.; PICADO, A.; FERRER, L.; RAMIS, A. **Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs.** Research in Veterinary Science, v. 85, n. 1, p. 35-38, 2008.

MISSAWA, N. A.; VELOSO, M.A.E.; MACIEL, G.B.M.L.; MICHALSKY, E.M.; DIAS, E.S. **Evidência de transmissão de leishmaniose visceral por Lutzomyia cruzi no município de Jaciara, Estado de Mato Grosso, Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira Medicina Tropical 44 (1) . 2011.

MONTEIRO, E. M.; SILVA, J. C. F. da; COSTA, R. T. da,; COSTA, D. C. C.; BARATA, R. A.; PAULA, E. V. de.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; ROCHA, M. F.; FORTES-DIAS, C. L.; DIAS, E. S. **Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 38 (2). 2005.

MONTEIRO, E.M.; SILVA, J.C.; COSTA, R.T.; COSTA, D.C.; BARATA, R.A.; PAULA, E.V. et al. **Visceral leishmaniasis: a study on phlebotomine sand flies and**

canine infection in Montes Claros, State of Minas Gerais. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 38(2). p. 147-52. 2005.

MONTEIRO, P.; LACERDA, M.M.; ARIAS, J.R. **Controle da leishmaniose visceral no Brasil.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 27 (supl III): 67-72. 1994.

MONTEIRO, T.N.M.; AGOSTINI, M.A.P.; BIGELI, J.G.; NOLETO, R.V. **Molecular and parasitological detection of Leishmania spp. in dogs caught in Palmas, TO, Brazil.** Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria. v. 21(3): p. 278–82. 2012.

MORENO, E. C.; MELO, M. N.; GENARO, O.; LAMBERTUCCI, J. R.; SERUFO, J. C.; ANDRADE, A. S. R.; ANTUNES, C. M. F.; CARNEIRO, M. **Fatores de risco para infecção por *Leishmania chagasi* em uma área urbana do Estado de Minas Gerais.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 38, n. 6, p. 456- 463, 2005.

MORENO, J.; ALVAR, J. **Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model.** Trends in Parasitology, v.8 n. 9, p 399-405. 2002.

MORTARINO, M.; FRANCESCHI, A.; MANCIANTI, F.; BAZZOCHI, C.; GENCHI, C.; BANDI, C. **Quantitative PCR in the Diagnosis of *Leishmania*.** Parassitologia, Roma, v. 46, p. 184-186. 2012.

MOSHFE, A.; MOHEBALI, M.; EDRISSIAN, G.; ZAREI, Z.; AKHOUNDI, B.; KAZEMI, B.; JAMSHIDI, S.; MAHMOODI, M. **Canine visceral leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of *L. infantum* infection.** Acta Tropica. 112 (2): p. 101-105. 2020.

MOYA, S.L. et al. **First description of *Migonemyia migonei* (França) and *Nyssomyia whitmani* (Antunes & Coutinho) (Psychodidae: Phlebotominae) natural infected by *Leishmania infantum* in Argentina.** Acta Tropica, v. 152, p. 181–184, 2015.

MULLIS, K.B. **Target amplification for DNA analysis by the polymerase chain reaction.** Annales de Biologie Clinique, v. 48, n. 8, p. 579-582. 1990.

NÓBREGA, L.A. **A Difícil Vida Num Paraíso: Ilha Da Marambaia / RJ.** ANPUH – XXIII SIMPÓSIO NACIONAL DE HISTÓRIA – Londrina. 2005.

NÓBREGA, L.A. **Marambaia: imaginário e história.** Revista Universidade Rural: Série Ciências Humanas, 26(1-2): 115-123. 2004.

NOVO, Shênia Patrícia Corrêa. **Levantamento da fauna de flebotomíneos, vetores de leishmanioses, na Ilha de Marambaia, município de Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. 2011.** 41 f. Dissertação (Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro, 2011.

NUNES, M.P.; JACKSON, J.; CARVALHO, R.W.; FURTADO, N.; COUTINHO, S. **Serological survey for canine cutaneous and visceral leishmaniasis in areas at risk for transmission in Rio de Janeiro where prophylactic measures had been adopted.** MEMÓRIAS DO INSTITUTO OSWALDO CRUZ. v.86, p.411 - 417, 1991.

OLIVEIRA, A. G. de; GALATI, E. A. B.; OLIVEIRA, O. de; OLIVEIRA, G. R. de; CABELLO, I. A. E.; CAVALHEIROS, M. E. D.; BRAZIL, R. P. **Abundance of Lutzomyia longipalpis (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil.** Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. 101 (8). 2006.

OLIVEIRA, Amanda Codeço. **Investigação de caso autóctone de leishmaniose visceral canina na região de Jacaré, município de Niterói, Rio de Janeiro.** 2013. vi, 97 f. Dissertação de Mestrado em Saúde Pública - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Rio de Janeiro. 2013.

OLIVEIRA, C.D.L.; ASSUNÇÃO, R.M.; REIS, I.A.; PROIETTI, F.A. **Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil.** Cad. Saúde Pública. vol. 17. n. 12. P. 1994-1997. 2001.

OPAS. ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. Organização Mundial da Saúde. Ministério da Saúde. **Mudanças climáticas e ambientais e seus efeitos na saúde: cenários e incertezas para o Brasil.** Brasília. 44p. 2008.

OWENS S.D.; OAKLEY D.A.; MARRYOTT K.; HATCHETT W.; WALTON R.; NOLAN T.J.; NEWTON A.; STEURER F.; SCHANTZ P. & GIGER U. **Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs.** J. Am. Vet. Med. Assoc. 219:1076- 1083. 2001.

PACHECO, R.S.; CARVALHO-COSTA, F.A. **Diversidade Genética em Parasitos do Gênero *Leishmania*.** In: CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C.R. (Org.) Leishmanioses do Continente Americano. Editora Fiocruz. Rio de Janeiro, p. 29-38. 2014.

PARANHOS-SILVA, M.; FREITAS, L.A.R.; SANTOS, W.C.; GRIMALDI Jr, G.; CARVALHO, L.P.; OLIVEIRA-DOS SANTOS, A.J. **A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*.** American Journal of Tropical Medicine Hygiene, v.55, n.1, p.39-44, 1996.

PASANISI, C. C. Inquérito epidemiológico sobre a leishmaniose visceral canina no Município de Itapevi: relato do primeiro inquérito sorológico. PUBVET. Medicina Veterinária e Zootecnia. v.14, n.3, a539, p.1-7, 2020.

PAULA, Marcia Beatriz Cardoso de. **Fauna flebotomínica, condições sócio- ambientais e a transmissão da leishmaniose visceral em Uberlândia-MG, Brasil.** Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Geografia. 2010.

PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. **Clinical Spectrum of Leishmaniasis .** Clinical Infectious Diseases, Vol. 22, No. 1 .p. 1-11 Published by: Oxford University Press Stable. 1996.

PIMENTA, P.F.P.; SECUNDINO, N.F.C.; BLANCO, E.E.N. **Interação Vetor-Hospedeiro: Interação *Leishmania*-hospedeiro invertebrado.** In: RANGEL, E.F. & LAINSON, R. (Org.). Flebotomíneos do Brasil, Editora FIOCRUZ, Rio de Janeiro. P. 275-290. 2003.

PIRAJÁ, G.V.; LUCHEIS, S.B. A. **Vigilância Epidemiológica de Flebotomíneos no Planejamento de Ações de Controle nas Leishmanioses.** Veterinária e Zootecnia. dez.; 21(4): 503-515. 2014.

PISCOPO, T.V.; AZZOPARDI, C.M. **Leishmaniasis**. Postgraduate Medical Journal 82:649–657. 2006.

PITA-PEREIRA, D. SOUZA, MB, ZUEWTSCH, A.; ALVES, C.R.; BRITTO, C.; RANGEL, E.F. **Short communication: First Report of *Lutzomyia (Nyssomyia) neivai* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) naturally infected by *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a Periurban área of South Brazil using a multiplex polymerase chain reaction assay**. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 80(4): p. 593-595. 2009.

QUEIROZ, M.J.A.; ALVES, J.G.B.; CORREIA, J.B. **Leishmaniose visceral: características clínico-epidemiológicas em crianças de área endêmica**. Jornal de Pediatria. 80 (2). 2004.

QUINNELL, R.J.; COURTNEY, O. **Transmission, reservoir hosts and control zoonotic visceral leishmaniasis**. Parasitology 136 (14): 1915-1934. 2009.

RANGEL, E.F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro. Editora Fiocruz. 2003.

RANGEL, E.F.R.; LAINSON, R. ECOLOGIA DAS LEISHMANIOSES. In: Rangel E.F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz. p. 291-336. 2003.

REGO, F.D. **Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e as Leishmanioses na Terra Indígena Xakriabá, Minas Gerais, Brasil**. 2013. 151 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Fundação Oswaldo Cruz, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte. 2013.

REIS, Ana Cristina Pinto. **Barra do Corumbê, Paraty-RJ: leishmaniose e representações sociais; Barra do Corumbê, Paraty-Rio de Janeiro: leishmaniasis and social representations**. 2004. 99 (Especialização em Saúde Pública). Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 2004.

REY, L. **Parasitologia O Complexo “*Leishmania donovani*” e a Leishmaniose Visceral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 253 - 265, 200

RODRIGUES, C. M. **The role of entomological surveillance in the first urban active focus of Visceral Leishmaniasis in the city of Rio de Janeiro.** 2017. ABCS Health Sci. 2018; 43(1):10-13. Ver data na discussão.

RONCARATI, H.; MENEZES, L.F.T. **Marambaia, Rio de Janeiro: origem e evolução.** In: História Natural da Marambaia. Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica. 2005.

SAIKI, R.K.; GELFAND, D.H.; STOFFEL, S.; SCHARF, S.J.; HIGUCHI, R.; HORN, G.T.; MULLIS, K.B.; ERLICH, H.A. **Primer – direct enzymatic amplification of de DNA with thermostable DNA polymerase.** Science, v. 239, n. 4839, p. 487-491. 1988.

SANTOS HD, GALVÃO SR, DIAS FEF, RIBEIRO TMP, NEGREIROS FILHO O, SOUSA SAP, et al. **High frequency of visceral leishmaniasis in dogs under veterinary clinical care in an intense transmission area in the state of Tocantins, Brazil.** Cienc Rural. v. 47(3): p. 3–8. 2017.

SANTOS, J.M.L.; DANTAS-TORRES, F.; MATTOS, M.R.F.; LINO, F.R.L.; ANDRADE, L.S.S.; SOUZA, R.C.A.; BRITO, F.L.C.; BRITO, M.E.F; BRANDÃO-FILHO, S.P; SIMÕES-MATTOS, L. **Prevalência de anticorpos anti-Leishmania spp em cães de Garanhuns, Agreste de Pernambuco.** Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 43 (1). p. 41-45. 2010.

SANTOS, S.O.; ARIAS, J.; RIBEIRO, A.A.; HOFFMANN, M.P.; FREITAS, R.U.; MALACCO, M.A.F. **Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis.** Med Vet Entomol 1998; v.12, p.315-317. 1998.

SES RJ. Secretaria de Estado de Saúde do Rio de Janeiro. **Vigilância da Leishmaniose Visceral no estado do Rio de Janeiro.** Boletim epidemiológico N°1/2017. Disponível em <http://www.riocomsaude.rj.gov.br/Publico/MostrarArquivo.aspx?C=ocwS%2FdIJO80%3D>. 2017.

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

SHERLOCK, I.A. **Flebotomíneos do Brasil**. In: A importância dos Flebotomíneos. Fiocruz . p. 15 -21. 2003.

SHERLOCK, I.A.; MIRANDA, J.C.; SAIGURSKY, M.; GRIMALDI, J.G. **Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia, Didelphidae) with *Leishmania donovani*, in Brazil**. Mem Inst Oswaldo Cruz.;79 (4):511. 11. 1984.

SHIMABUKURO, P.H.F.; TOLEZANO, J.E.; GALATI, E.A.B. **Chave de identificação ilustrada dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil**. Papeis Avulsos de Zoologia. Museus de Zoologia da Universidade de São Paulo. Volume 51(27): 399441. 2011.

SILVA F.L.; OLIVEIRA R.G.; SILVA T.M.A.; XAVIER M.N.; NASCIMENTO E.F.; SANTOS R.L. **Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis**. Vet. Parasitol. 160:55-59. 2009.

SILVA Shara Regina da. **Avaliação da infecciosidade em cães vacinados com Leish-Tec® (Hertape Saúde Animal S/A) para *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae)**. Tese de Doutorado – Ciências da saúde, Centro de Pesquisas René Rachou, Belo Horizonte, 2015.

SILVA, D.A.; MADEIRA, M.F.; FIGUEIREDO, F.B. **Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro**. State, Brazil. Revista Instituto de Medicina Tropical de São Paulo. 57:435-8. 2015.

SILVA, E.A.; ANDREOTTI, R.; HONER, M.R. **Behavior of *Lutzomyia longipalpis*, the main vector of American visceral leishmaniasis, in Campo Grande, State of Mato Grosso do Sul**. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 40: p. 420-42. 2007.

SILVA, E.S.; GONTIJO, C.M.F.; PACHECO, R.S.; FIUZA, V.O.P.; BRAZIL R.P. **Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil**. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. 3; 285-91. 2001.

SILVA, F.T.S.; SANTOS, J.T.; NETTO, E.M.; BAVIA, M.E.; NAKATANI, M.; SOUZA, F.D.P.; CARDIM, L.L.; CARNEIRO, D.D.M.T. **Aspectos clínicos da Leishmaniose Visceral canina no Distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA)**. Revista Baiana de Saúde Pública. 34 (4):783-795. 2010.

SILVA, R. B.S.; MENDES, R. S.; SANTANA, V.L.; SOUZA, H. C.; RAMOS, C.P.S.; SOUZA, A.P.S.; ANDRADE, P.P.; MELO, M.A. **Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico**. Pesq. Vet. Bras. 36; (07) . 2016.

SILVA, R.A.; SANTOS, F.K.M.; SOUSA, L.C.; RANGEL, E.F.; BEVILAQUA C.M.L. **Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in a endemic area for visceral leishmaniasis**. Braz. J. Vet. Parasitol. 23: p. 320-327. 2014.

SILVA, R.A.S.; SANTOS, F.K.M.S.; SOUZA, L. C. de.; RANGEL, E. F. R.; BEVILAQUA, C. M. L. **Ecology of *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei* in an endemic area for visceral leishmaniasis**. Revista Brasileira de Parasitologia. Veterinária. V. 23 (3). 2014

SILVA, R.B.S. MENDES, R.S.; SANTANA, V.L.; SOUZA, H.C.; RAMOS, C.P.S.; SOUZA, A. P.; PAULO, P. A.; MELO, M. A. **Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico**. PEQUENOS ANIMAIS. Pesquisa Veterinária Brasileira 36 (07). 2016.

SOBRAL, A.; FREITAS, C.M. **Modelo de Organização de Indicadores para Operacionalização dos Determinantes Socioambientais da Saúde**. Saúde Soc. São Paulo, v.19, n.1, p.35-47. 2010.

SOUZA, M.B.; MARZOCHI, M.C.A; CARVALHO, R.W.; CONCEIÇÃO, N.F.; PONTE, C.S. **Flebotomíneos em áreas de ocorrência de Leishmaniose Tegumentar no Município de São José do Vale do Rio Preto, Rio de Janeiro**. Parasitologia Al Dia 19: 97 - 103. 1995.

SOUZA, Thaís Leal de. **Busca ativa de criadouros de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) na Ilha da Marambaia, Estado do Rio de Janeiro, Brasil**. 2014. xii,63 f.

Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2014.

SUNDAR, S.; RAI, M. **Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis**. Clin. Diagn., Lab. Immunol 9: 951-958. 2002.

SUNDAR, S.; SINGH, R.K.; BHARTI, K.; MAURYA, R.S.; DELAFOSSE, I.; JACQUIER, P. **Evaluation of a new rapid immunochromatographic diagnostic test (Dialad-it Leish) for Indian visceral leishmaniasis and PKDL**. The American Society of Tropical Medicine and Hygiene: ASTMH 52nd Annual Meeting. P. 3-7. 2003.

TAVARES, C.A.P.; FERNANDES, A.P.; MELO, M.N. **Molecular diagnosis of Leishmaniasis**. Expert Ver. Mol. Diagn. 3: 657-667. 2003.

TAVARES, L.M.S.A.; TAVARES E.D. **Distribuição geográfica e aspectos ambientais das áreas endêmicas da Leishmaniose Visceral em Sergipe**. Informe Epidemiológico do SUS, Brasília, 1999, vol. n. 8. 1999.

TEIXEIRA, Ana Izabel Pereira. **Cães e tutores: os desafios do diagnóstico e do controle da leishmaniose visceral canina**. Universidade de Brasília Faculdade de Medicina Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical. 2019.

TESH, R. **Control of zoonotic visceral leishmaniasis: Is it time change strategies?** The American Journal of Tropical Medicine Hygiene, 52 (3): 287-292. 1995.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia Veterinária**. 2. Ed. São Paulo: Roca. 556 p. 2004.

TRYPHOMAS, L.; ZAWDZKA Z.; BERNARD, M.A. & JANZEN, E.A. Visceral Leishmaniasis in a Dog: Clinical Hematological and Pathological Observations. Can. J. Comp. Med. 41:1-12. 1977.

VELOSO, Vanessa Cristina Fitipaldi. **Avaliação da susceptibilidade de *Lutzomyia migonei* (Diptera: Psychodidae) ao desenvolvimento de *Leishmania (Leishmania) infantum***. 2016. Tese de Doutorado em Biociências e Biotecnologia em Saúde) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2016.

VILELA, M.L.; AZEVEDO, C.G.; CARVALHO, B.M.; RANGEL, E.F. **Phlebotomine fauna (Diptera: Psychodidae) and putative vectors of leishmaniasis in impacted area by hydroelectric plant, state of Tocantins, Brazil.** Plos One, 6(12): e 27721. 2011.

WERNECK, G. L.; PEREIRA, T. J.C.F.; FARIAS, G.C.; SILVA, F.O.; CHAVES, F.C.; GOUVEIA, M.V.; COSTA, C.H.N.; CARVALHO, F.A.A. **Avaliação da efetividade das estratégias de controle da leishmaniose visceral na cidade de Teresina, Estado do Piauí, Brasil: resultados do inquérito inicial – 2004.** Epidemiologia Serv. Saúde, Brasília, 17(2):87-96. 2008.

WERNECK, G.L. **Fórum: Expansão geográfica e urbanização da leishmaniose visceral no Brasil. Introdução.** Cadernos de Saúde Pública. 24(12): p. 2937-40. 2008.

WERNECK, G.L. **Visceral Leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control.** Revista de Saúde Pública vol. 48 n.5 São Paulo, 2014.

WHA. WORLD HEALTH ASSEMBLY. Resolution from the 16^o World Health Assembly, :www.who.int/neglected_diseases/mediacentre/WHA_60.13_Eng.pdf. Acesso em 19 de novembro de 2018.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Action Plan for the Reduction of Reliance on DDT in Disease Vector Control.** Document WHO/SDE/WSH/01.5. World Health Organization, Geneva. p.41. 2001.

WHO.WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of leishmaniasis. In: **report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010.** 2010.

ZIJLSTRA, E.E.; NUR, Y.; DESJEUX, P.; KHALIL, E.A.G.; EL-HASSAN, A. M.; GROEN, J. **Diagnosing visceral leishmaniasis with the recombinant K39 strip test: experience from the Sudan.** Trop. Med. In. Health 6: 108-113, 2001.

ŽIVIČNJAK, T.; MARTINKOVIĆ, F.; MARINCULIĆ, A.; MRLJAK, V et. al. **A seroepidemiologic survey of canine visceral leishmaniosis among apparently healthy dogs in Croatia.** Veterinary Parasitology. v. 131. p. 35-34. 2005.

APÊNDICE A – QUESTIONÁRIO DE AVALIAÇÃO SOCIODEMOGRÁFICAS E CONDIÇÕES DE MORADIA

Estudo da vulnerabilidade socioambiental à transmissão da Leishmaniose Visceral da população residente da Ilha de Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro

Instituição Responsável: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/Fundação Oswaldo Cruz

Pesquisadora Responsável: Denise Alves de Lima Lyra

Identificação:

1. Número de identificação do participante (ID): _____
3. Localização da residência (casa – coordenada geográfica): _____
4. Data da entrevista: ___/___/_____
5. Entrevistador: _____

Este questionário faz parte de um projeto de pesquisa sobre a vulnerabilidade socioambiental à Leishmaniose Visceral da população da Ilha da Marambaia

1. Informações sociodemográficas e de condições de moradia

1.1. O senhor(a) é responsável pela casa?

(...) sim () não

1.2. Qual a sua idade? _____

1.3. Sexo

() F () M

1.4. Qual o seu grau de instrução?

() Primeiro grau incompleto –

() Primeiro grau completo - 1º Grau Ensino fundamental – 1º ao 9º ano

() Segundo grau incompleto –

() Segundo grau completo - 2º Grau - Ensino médio -

- Terceiro grau incompleto –
- Terceiro grau completo - 3º Grau - Ensino Superior
- Pós-graduação incompleta
- Pós-graduação completa
- Nunca foi a escola

1.5. Quantas pessoas moram na casa? _____

1.6. Quantas possuem renda própria? _____

1.7. Sua residência possui:

- 1. Água encanada: sim não
- 2. Energia elétrica: (...) sim não
- 3. Coleta de lixo: sim não .Caso não tenha, qual destino é dado ao lixo de sua residência?_____

4. Reboco na parede: sim não

5. Laje: sim não

6. Telha sim não

7. Cisterna sim não

8. Rede de esgoto sim não

9. Banheiro sim não

Quantos? _____

10. Cortina nas janelas sim não

11. Tela nas janelas sim não

12. Caixa de água com tampa? sim não

1.8. Como é o quintal de sua residência?

1.9. Sua residência fica próxima a área com muita vegetação?

sim não

1.10. Já viu outros animais em seu quintal que não sejam os seus?

sim não

Quais? _____

1.11. Em sua residência, tem algum tipo de proteção contra insetos?

sim não. Explique _____

1.12. Possui algum desses elementos perto ou próximo de sua residência?

bananeira curral chiqueiro galinheiro nenhum

2. **Informações sobre conhecimento de doenças infecciosas e zoonoses:**

2.1. O senhor (a) tem algum conhecimento sobre doenças transmitidas por animais?

(...) sim não. Caso “sim”, qual seria?

2.2. O senhor (a) já ouviu falar sobre leishmaniose?

sim não . Caso sim, quem o informou? _____

2.3. O que o senhor sabe sobre a transmissão da leishmaniose?

2.4. O senhor (a) saberia prevenir a transmissão da leishmaniose?

sim não . Caso “sim”, como faria?

3. Informações sobre saúde/doença:

3.1. Alguém em sua residência apresenta ou já apresentou episódios de febre com frequência?

() sim () não. Quantas pessoas? _____

3.2. Algum membro de sua residência já apresentou quadro de “barriga d’água” (hepatoesplenomegalia)?

() sim () não . Quantas pessoas? _____

3.3. Tem acesso fácil aos serviços de saúde?

() sim () não .

3.4. Costuma fazer algum exame de rotina?

() sim () não. Quais? _____

3.5. Alguém na residência já apresentou quadro de anemia?

() sim () não. Quantas pessoas? _____

4. Informações sobre os cães?

4.1. Possui animais em casa?

() sim () não. Qual / Quais? _____

Quantos cães? _____

Quantos gatos? _____

Outro (especificar) _____

4.2. O senhor (a) sabe a origem de seus animais?

() sim () não.

Cão: _____

Gato: _____

Outro: _____

4.3. Seus cães já saíram da Ilha da Marambaia?

() sim () não.

4.4. Costuma levar seu cão ao veterinário?

() sim () não. Qual a frequência? _____

4.5. Utiliza alguma medida de prevenção contra pulgas, carrapatos e mosquitos no cão?

sim não. Qual? _____

4.6. Seu cão ficou doente nos últimos 30 dias?

sim não. Caso “sim”, foi levado ao médico veterinário?

4.7. Seu cão costuma ficar preso na residência?

sim não. Caso “não”, explique seu modo de vida:

4.8. Caso seu cão já tenha saído da Ilha, o senhor (a) sabe quanto tempo ele ficou fora?

sim não. Quanto tempo? _____

APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO APLICADO AOS PARTICIPANTES DO ESTUDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Prezado participante,

Você está sendo convidado a participar da pesquisa “Estudo da Vulnerabilidade Socioambiental à Transmissão da Leishmaniose Visceral da População Residente da Ilha de Marambaia, Mangaratiba, Rio de Janeiro”, coordenada por Denise Alves de Lima Lyra, da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz (ENSP/Fiocruz). O convite para a participação se deve ao fato de você ser morador da Ilha da Marambaia e estar sob condições que favoreçam a infecção por *Leishmania infantum* – Agente causador da leishmaniose visceral tanto em cães, como em humanos.

O objetivo central do estudo é avaliar a presença e a quantidade de vetores e de humanos infectados por *Leishmania infantum* na Ilha da Marambaia. Chamamos este estudo de vulnerabilidade porque avaliamos também as condições sociais e ambientais, as quais toda a população humana e residente da Ilha da Marambaia está exposta, e que pode ou não ser um fator de influência na transmissão da leishmaniose visceral. Sabemos que em trabalhos anteriores, foram descritos casos de leishmaniose visceral canina diagnosticados na Ilha e que ainda nos dias atuais, existem na região cães com infecção assintomática, ou seja, sem nenhum sintoma, porém com o parasito no organismo. Casos de pessoas infectadas, mas sem apresentar nenhum sintoma, assim como casos de pessoas com sintomas clássicos da doença (leishmaniose visceral) já foram relatados no mundo todo por vários pesquisadores. Pode ser que situação semelhante esteja acontecendo na Ilha da Marambaia.

Por isso, inicialmente realizaremos algumas perguntas com cada residente da Ilha da Marambaia sobre o seu conhecimento acerca das leishmanioses e dos insetos vetores que transmitem o parasito *Leishmania infantum*, causador da leishmaniose visceral. Serão feitas também algumas perguntas aos moradores para saber se eles lembram de ter tido algum quadro clínico semelhante ao da leishmaniose visceral ou se, mesmo sem lembrar dos sintomas, elas teriam tido esta doença sem saber.

Em seguida, coletaremos um pouco de sangue de cada participante, que será transportado ao laboratório para fazer alguns testes com este sangue coletado. Após essa coleta de sangue de todos os moradores (incluindo crianças a partir de 07 anos de idade. Segundo censo realizado pelo CADIM, a população infantil da ilha está entre 7 e 14 anos de idade) este material coletado será transportado ao laboratório na Fiocruz para a realização dos testes, os quais identificam a presença de anticorpos de *Leishmania infantum* no sangue humano. A identificação desses anticorpos contra o agente não significa que você esteja doente. O teste informa apenas se você foi infectado em algum momento no passado, mesmo que não tenham tido sintomas.

Caso você esteja sintomático na hora da coleta, enviaremos imediatamente seu sangue coletado para confirmação diagnóstica, e informaremos a você o resultado tão logo ele esteja disponível, e encaminharemos você ao médico do Centro de Avaliação da Ilha da Marambaia - CADIM, que já estará ciente do resultado do seu exame para lhe prestar maiores cuidados. Vale salientar que todos os resultados (positivos e negativos para leishmanioses viscerais) serão informados pessoalmente e individualmente a cada um dos participantes do estudo, e todos os resultados positivos sintomáticos e assintomáticos serão encaminhados ao médico do CADIM.

A sua participação é voluntária, isto é, ela não é obrigatória, e você tem total autonomia e liberdade para decidir sobre a sua participação no estudo, bem como retirar-la a qualquer momento. Não haverá nenhuma penalização caso decida não consentir na participação ou desistir da mesma. Contudo, ela é muito importante para toda a população. A qualquer momento, durante a pesquisa ou posteriormente, você poderá solicitar do pesquisador informações sobre a sua participação e/ou sobre a pesquisa, o que poderá ser feito através dos meios de contato explicitados neste Termo.

Os resultados deste estudo não deverão beneficiá-lo (a) diretamente uma vez que detectar os anticorpos contra a leishmaniose não quer dizer que você tenha a doença e que isso traga/trará algum problema, mas sim que você foi infectado (a) em algum momento da sua vida. Poderá haver um benefício direto caso você esteja sintomático (a) na hora da entrevista, por conta do diagnóstico preciso da enfermidade e encaminhamento ao médico do CADIM, caso seja necessário. Entretanto, nossos resultados poderão servir de base para outros estudos, podendo também beneficiar outras pessoas, pois espera-se que este estudo contribua para saber qual a real situação epidemiológica e condições sociais e ambientais favoráveis para a transmissão da leishmaniose visceral na Ilha da Marambaia. Estes dados

são importantes principalmente para os gestores de saúde pública que são responsáveis pelo planejamento de medidas de prevenção contra esta doença.

Em relação a coleta de sangue venoso, você deve saber que esta poderá causar algum desconforto, como dor no momento da punção venosa e, eventualmente, poderá haver a formação de uma área arroxeadada no local, que voltará ao normal dentro de alguns dias. Tentaremos minimizar estes desconfortos usando profissionais bem treinados, enfermeiros e biólogos, para a coleta.

Serão garantidas a confidencialidade e a privacidade das informações prestadas, bem como seu anonimato. Qualquer dado que possa identifica-lo (a) será omitido na divulgação dos resultados da pesquisa, e durante o estudo apenas a pesquisadora responsável pela pesquisa e a sua orientadora terão acesso à informações que identifique os participantes. Além disso, ao final da pesquisa, todos os questionários e amostras de sangue coletadas serão mantidos permanentemente em local seguro, com acesso restrito, sob a responsabilidade da pesquisadora coordenadora. Todo material será mantido, por pelo menos 5 anos, conforme Resolução 466/12 e 510/2016 orientações do CEP/ENSP e com o fim deste prazo, será descartado. Os resultados poderão ser divulgados em palestras dirigidas ao público participante, relatórios individuais para os entrevistados, artigos científicos e em forma de dissertação/tese, sempre sem identificações pessoais.

ARMAZENAMENTO DO MATERIAL BIOLÓGICO (SANGUE) EM BIORREPOSITÓRIO

As amostras de sangue eventualmente colhidas nesta pesquisa serão armazenadas inicialmente em um Biorrepositório na unidade Instituto Nacional de Infectologia (INI), dentro da Fiocruz (INI/Fiocruz) de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 441/11, art. 4. Biorrepositórios são depósitos nos quais as suas amostras ficarão armazenados durante o tempo de realização deste projeto de pesquisa, cuja guarda ficará com o pesquisador responsável pelo estudo e de responsabilidade institucional de INI/Fiocruz. Este depósito permanecerá durante o tempo programado para a realização da pesquisa, ou seja, até 03/2021. Caso haja necessidade, o prazo de armazenamento poderá ser prorrogado por até 10 (dez) anos, conforme art.12 da Res. 441/11, mediante justificativa e aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP (CEP/ENSP).

É importante esclarecer que você tem garantia de acesso às informações sobre os resultados obtidos com a utilização das amostras de sangue fornecidas e as orientações

quanto às suas implicações, em qualquer tempo. Para isso, basta entrar em contato com o pesquisador responsável por esta pesquisa.

Concordo que uma amostra de sangue minha seja coletada e armazenada em laboratório específico dentro da Fiocruz (biorrepositório) para a realização de testes diagnósticos complementares.

Concordo

Não concordo

Este Termo foi redigido em duas vias, sendo uma para você e outra para o pesquisador responsável. Todas as páginas deverão ser rubricadas por você e pelo pesquisador responsável pelo estudo, além da assinatura de ambos na última página. O contato com o pesquisador responsável, Denise Alves de Lima Lyra, poderá ser feito pelo telefone (21) 979763249 ou pelo e-mail dalvesdelima@uol.com.br. Em caso de dúvida quanto à condução ética do estudo, entre em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da ENSP. O Comitê de Ética é a instância que tem por objetivo defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento da pesquisa dentro de padrões éticos. Dessa forma o comitê tem o papel de avaliar e monitorar o andamento do projeto de modo que a pesquisa respeite os princípios éticos de proteção aos direitos humanos, da dignidade, da autonomia, da não maleficência, da confidencialidade e da privacidade.

É importante esclarecer para o participante que de acordo com a Resolução do Conselho Nacional de Saúde 466/12, item IV.3.h., é garantida sua indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

CEP/ENSP: Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca/ FIOCRUZ, Rua Leopoldo Bulhões, 1480 –Térreo - Manguinhos - Rio de Janeiro – RJ - CEP: 21041-210; telefone: (21) 2598-2863; e-mail: cep@ensp.fiocruz.br; <http://www.ensp.fiocruz.br/etica>. Se desejar, consulte ainda a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep): telefone: (61) 3315-5878 / (61) 3315-5879; e-mail: conep@saude.gov.br.

Declaro que entendi os objetivos e condições de minha participação na pesquisa e concordo em participar.

Nome do (a) participante:

Assinatura do (a) participante:

Nome do (a) pesquisador (a) de campo:

Assinatura do (a) pesquisador (a) de campo:

Rio de Janeiro, ____/____/____

APÊNDICE C – FICHA DE INVESTIGAÇÃO E INFORMAÇÕES CANINA

Ficha de Investigação de Cão Suspeito de Leishmaniose

| Identificação do Animal |
|---|
| <p>1. Data da Investigação ____/____/____</p> <p>2. Tipo de entrada: () inquérito amostral () demanda espontânea () busca ativa</p> <p>3. Nome do animal _____</p> <p>4. Raça _____</p> <p>5. Idade _____</p> <p>6. Sexo: () Macho () Fêmea () Ignorado</p> <p>7. Pelagem: () Curta () Média () Longa</p> <p>8. Cor da Pelagem _____</p> <p>9. Situação de Moradia _____</p> <p>10. Endereço atual _____</p> <p>11. Município: _____</p> <p>12. Há quanto tempo reside no endereço atual? () dias () meses () anos</p> <p>13. Nome do proprietário/tutor/responsável :</p> <p>14. Documento do proprietário/tutor/responsável (nº): _____ Tipo: () RG () CPF () Outros</p> <p>15. Telefone para contato:</p> |
| Histórico Familiar do Animal |
| <p>Sobre o nascimento:</p> <p>16. País: _____ UF: _____ Município: _____</p> <p>Endereço: _____ Localidade/Bairro: _____</p> <p>Sobre os genitores:</p> <p>17. Possui genitor vivo: () Não Sim: () Pai () Mãe</p> <p>18. Convive no mesmo endereço? () Sim () Não</p> <p>Sobre os irmãos:</p> <p>19. Possui irmãos? () Não () Sim Especifique: _____</p> <p>20. Condições clínicas dos irmãos: () sadios () suspeitos</p> <p>Sobre os conviventes:</p> <p>21. Convive com outros cães: () Não () Sim Quantos: _____</p> |

22. Há quanto tempo convivem no mesmo endereço? _____

23. Condições clínicas dos cães conviventes: () sadios () doentes

Histórico Clínico do Animal

24. Animal sintomático: () Não () Sim

25. Caso “sim”, data do início dos sintomas ____/____/____

26. Sinais e sintomas:

() onicogribose (unhas grandes)

() descamação (região periocular, bordas e orelhas)

() Lesões/alterações na pele (úlceras, queda de pelos, etc)

() Ceratoconjuntivite

() Aumento de linfonodos

() Apatia

() Emagrecimento

() Vômitos

() Diarréia

() Sinais hemorrágicos. Especificar _____

() Edema de patas

() Paresia de Patas posteriores

() Outros. Especificar _____

27. Tomou vacina para LVC? () Não () Sim () Sem informação

28. Se sim, quando iniciou ____/____/____. Quantas doses já tomou?

29. Realizou algum tratamento para LVC? () Não () Sim () Sem informação.
Caso sim, qual foi o tratamento realizado?

30. Possui médico veterinário responsável pelo tratamento? () Não () Sim

Caso sim, qual o nome do profissional, o número do CRMV, telefone de contato e qual o estabelecimento?

31. Histórico de Infecção/cirurgias atuais ou anteriores:

Histórico Epidemiológico do Animal

32. Houve deslocamento dentro ou fora do estado do Rio de Janeiro antes do aparecimento dos sintomas?

() Não () Sim Especificar: _____

| Data de Ida | Data de Retorno | Município/UF | Tempo de Permanência |
|-------------|-----------------|--------------|----------------------|
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |
| | | | |

33. O animal cruzou com outro animal procedente ou com histórico de deslocamento para uma das áreas? _____

Investigação Ambiental do Domicilio ou Local de Permanência

34. Tipo de área: () urbana () rural () periurbana () assentamento () terra indígena () silvestre

35. Características da residência e do entorno:

() presença de bananeiras, distância aproximada: _____

() presença de galinheiro, distância aproximada: _____

() presença de cursos d'água (cachoeiras, rios, lagoas, etc), distância aproximada _____

() quintal sombreado/úmido

() janelas/porta teladas, milimetragem aproximada: _____

() presença de canil, distância aproximada: _____

() outros: _____

Exames Realizados

36. Tipo de exame e resultado:

DPP () reagente () não reagente

Laboratório executor: _____ Data do diagnóstico: _____

ELISA () reagente () não reagente () indeterminado

Laboratório executor: _____ Data do diagnóstico _____

Situação final do cão

37. Eutanasiado? () não () sim Data da Eutanásia: ____/____/____

38. Será submetido a tratamento: () sim () Não

Caso sim, nome do médico veterinário responsável pelo tratamento e número do CRMV _____

Observações

APÊNDICE D – TERMO DE CONSENTIMENTO PARA COLETA E ANÁLISE DA AMOSTRA CANINA**TERMO DE CONSENTIMENTO PARA COLETA E ANÁLISE DA AMOSTRA CANINA**

Declaro que fui informado (a) e que recebi de forma clara e objetiva, todas as explicações pertinentes para o Diagnóstico de Leishmaniose Visceral canina (LVC) conduzidas pela equipe do Departamento de Ciências Biológicas da Escola Nacional de Saúde Pública – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca - Fundação Oswaldo Cruz, RJ. Declaro também ter conhecimento e compreensão sobre as implicações relacionadas a um possível resultado positivo para LVC em meu animal.

Sendo assim, autorizo a coleta a análise do sangue do animal _____ que se encontra sob a minha responsabilidade e propriedade:

Nome do proprietário/responsável /tutor:

RG: _____

CPF: _____

Endereço: _____

Telefone pra contato: _____

Local: _____

Assinatura: _____

APÊNDICE E – TERMO DE RECUSA DE COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA CANINA

MODELO DE TERMO DE RECUSA DE COLETA DE AMOSTRA BIOLÓGICA PARA DIAGNÓSTICO DA LVC

Venho por meio deste, DECLARAR que NÃO PERMITO REALIZAR A COLETA DE AMOSTRA DE SANGUE PARA EXAME SOROLÓGICO DE LVC NO ANIMAL DE MINHA PROPRIEDADE.

Estou ciente das consequências que esta decisão implica, em termos de Saúde Pública, e assumo os riscos das sanções legais, conforme Legislação Sanitária do Estado do Rio de Janeiro

Nome: _____ Raça: _____
 Espécie: _____
 Sexo: _____ Idade: _____ Pelagem: _____
 Proprietário/Responsável: _____ Endereço: _____ Telefone: _____
 RG: _____
 CPF: _____
 _____, _____ de _____ de _____