

Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS
DOCTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS
INFECCIOSAS

TUANNE ROTTI ABRANTES

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA
REEMERGENTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Rio de Janeiro

2018

TUANNE ROTTI ABRANTES

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA REEMERGENTE NO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientadores: Dr. Fabiano Borges Figueiredo e Dr. Guilherme Loureiro Werneck

Rio de Janeiro

2018

ABRANTES, TUANNE ROTTI .

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA REEMERGENTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO / TUANNE ROTTI ABRANTES. - Rio de janeiro, 2017.
72 f.; il.

Tese (Doutorado) - Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, 2017.

Orientador: FABIANO BORGES FIGUEIREDO.
Co-orientador: GUILHERME LOUREIRO WERNECK.

Bibliografia: f. 29-38

1. Leishmaniose visceral. 2. cão. 3. sensoriamento remoto. 4. inquérito canino. I. Título.

TUANNE ROTTI ABRANTES

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA REEMERGENTE NO ESTADO DO RIO DE
JANEIRO

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas para obtenção do grau de Doutor em Ciências.

Orientadores: Dr. Fabiano Borges Figueiredo

Dr. Guilherme Loureiro Werneck

Aprovada em / / .

BANCA EXAMINADORA

Dr. Flavio Fernando Batista Moutinho (Componente) UFF

Dra. Marina Carvalho Furtado (Componente) CFMA/FIOCRUZ

Dra. Andreia Sobral de Almeida (Componente) ENSP/FIOCRUZ

Dr. Rodrigo Caldas Menezes (Componente) INI/FIOCRUZ

Dr. Sandro Antônio Pereira (Presidente) INI/FIOCRUZ

Dra. Luisa de Miranda (Suplente) INI/FIOCRUZ

AGRADECIMENTOS

A Deus por todas as oportunidades.

Aos meus queridos pais por toda luta e esforço. Sem vocês seria impossível a minha chegada até aqui. Obrigada por todo amor, carinho e apoio durante todos esses anos. Vocês são meu alicerce. À minha mãe Rosana pela cumplicidade, paciência e amor. Ao meu pai Cesario, pelo amor à nossa família, por ter me ensinado a ser dedicada, determinada e por correr atrás dos meus objetivos.

Ao meu amor Daniel, por ser meu companheiro, por me dar força nos momentos mais difíceis, pela paciência e por todo amor.

Aos meus lindos gatos Fred, Eva e Lina por serem a alegria da nossa casa.

Aos meus avós e tios pela convivência e carinho.

Aos meus padrinhos, apesar da distância, sempre me amaram e foram fundamentais na minha criação.

Aos meus sogros pelo apoio e carinho.

Ao meu orientador, Dr. Fabiano Figueiredo, por ser uma das pessoas mais incríveis que eu já conheci, por ter sempre uma palavra de conforto nos momentos mais difíceis e por estar sempre acreditando que tudo dará certo. Obrigada pela amizade, pelo respeito e carinho, por todas as oportunidades, ensinamentos, paciência e orientação.

Ao meu coorientador, Dr. Guilherme Werneck, pela oportunidade, orientação, dedicação e apoio.

Agradeço sempre por tê-los como meus orientadores.

À Dra. Andréa Sobral por toda ajuda ao longo do doutorado.

À minha querida amiga Adriana Mayrink, por ter sido a minha melhor professora, por ter contribuído na vida acadêmica, pela ajuda na conquista do estágio na Fiocruz, por ser o meu exemplo. Também agradeço pela nossa amizade, amor e carinho ao longo desses anos.

À minha amiga Stella, pela cumplicidade e por estar por perto em todos os momentos da minha vida.

À minha amiga Érica pela amizade, apoio, carinho e amor.

À minha amiga Ana Caroline por todo apoio, amizade, carinho e amor.

Aos meus afilhados Heitor, Maria Clara e Julia por todo amor.

Às minhas queridas amigas Denise Torres, Monique Paiva, Luisa Miranda, Jessica Nunes, Isabella Dib, Marina Furtado, Marina Pinheiro, que ganhei ao longo desses anos na Fiocruz.

Aos queridos amigos de Lapclin-Dermzoo Sandro Antonio, Rodrigo Caldas, Arthur Augusto, Adilson, Carlos Barbosa, Renato Orsini pelo apoio, amizade e carinho.

Aos meus queridos amigos Claudiane Nascimento, Valéria Batista, Hevelin Martins, Ticiane Pinheiro, Valeria Mendes, Silvia Thiré e Tiago Abrahão, por serem fundamentais na minha vida.

A todos do LAPCLIN-DERMZOO pela ajuda, amizade, carinho e pelos momentos de descontração. À Tania, Beatriz Wanderosck, Jéssica Boechat, Paula Viana, Viviane Boechat, Emília, Anna Barreto, Isabela, Juliana e Thais pelo Carinho, alegria e ajuda.

A todos os médicos veterinários da Veterinária Xanadu: Carlos, Maurício, Frederico, Tiago, Gustavo, Pedro, Stella, Valéria, Silvia, Ticiane, Marcelo, Fabricio, Beatriz, Pamela, Thiago e Naiara pela ajuda e carinho, assim como todos os funcionários, desde os enfermeiros às recepcionistas.

À minha eterna amiga, Denise Amaro (em memória), por toda alegria, amizade, amor, carinho e respeito. Obrigada pela afilhada linda que você me deu.

Ao querido amigo Leonardo Rabelo (em memória), por toda alegria e carinho.

Aos que me ajudaram nas coletas a campo. Apesar das dificuldades, como a distância, pude contar com o companheirismo de vocês.

À toda equipe dos laboratórios: VigiLeish (INI), o Setor de Imunodiagnóstico (ENSP) e ao Lacen e à Secretaria Municipal de Saúde de Barra Mansa.

À Faperj pelo apoio financeiro à bolsa de doutorado nota 10.

A todos os meus professores que contribuíram para a minha formação.

E a todos que, direta ou indiretamente, tornaram possível a realização desta conquista, agradecerei eternamente.

“Por mais longa que seja a caminhada,
o mais importante é dar o primeiro passo”

(Vinicius de Moraes)

Resumo

ABRANTES, T. R. **Leishmaniose visceral americana reemergente no estado do Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2018 72f. Tese [Doutorado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas] Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas.

A leishmaniose visceral americana (LVA) é considerada uma das principais parasitoses reemergentes no Brasil e no mundo. No estado do Rio de Janeiro, casos de leishmaniose visceral canina (LVC) e humana foram recentemente notificados em regiões outrora indenes para essa doença. Tal fato gera preocupação já que, além de seu difícil controle o estabelecimento de focos endêmicos de transmissão tem sido precedido de surtos semelhantes a estes em muitas regiões do país. O presente estudo tem como objetivo investigar a prevalência da LVC em duas regiões de recente introdução da doença no estado do Rio de Janeiro, através de inquérito sorológico canino, utilizando o teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (DPP®) e o ensaio imunoenzimático (EIE). Os resultados são apresentados em dois manuscritos: o primeiro avalia a associação entre características ambientais obtidas pelo sensoriamento remoto e a prevalência de LVC no Bairro do Jacaré, Niterói; e o segundo avalia a distribuição espacial e caracterização dos perfis de prevalência da LVC no município de Barra Mansa, ambos no estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foram avaliados 97 cães no bairro do Jacaré, Niterói e 701 em Barra Mansa, com soroprevalências de 21,6% e 11,5%, respectivamente. No Jacaré, cães residentes em áreas com maior cobertura de vegetação esparsa apresentaram prevalência da infecção por *L. infantum* cinco vezes maior do que aqueles que residiam em áreas menos vegetadas (OR=5.72; 1.47–22.20). Por outro lado, áreas mais urbanizadas caracterizadas como comerciais ou residenciais carentes, identificadas pelo sensoriamento remoto como aquelas com alta densidade de estruturas cinza estiveram associadas à menor ocorrência da LVC (OR=0.09; 0.01–0.92). A maior prevalência de infecção em cães convivendo com outros animais silvestres e em áreas com maior cobertura vegetal, associada com menor prevalência em áreas urbanizadas, indica um padrão rural de transmissão da LVC nesta área. Em Barra Mansa Foi realizado o método da classificação e regressão (Classification and Regression Trees - CART) para a análise dos dados para identificação dos perfis de prevalência. Dos 12 perfis de risco identificados, 62,5% dos cães positivos estão incluídos no subconjunto com os perfis de risco 8, 9, 10, 11 e 12, distribuídos em 124 domicílios. A maior prevalência de infecção em cães no município de Barra Mansa ocorreu em áreas com maior percentual de telhado de cerâmica e com alguma cobertura vegetal, indicando um padrão de transmissão da LVC mais urbanizado nessa área,

diferente dos resultados encontrados no Jacaré, Niterói. Estes resultados mostram a existência de um alto grau de complexidade envolvido no risco de infecção por *L. infantum* e apontam a necessidade de investigar os fatores relacionados à infecção em cada área. A utilização de ferramentas como o SIG e o sensoriamento remoto se mostrou útil para identificar características ambientais que podem ser utilizadas para definir áreas de maior risco para a LVC.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; cão; sensoriamento remoto

Abstract

ABRANTES, T. R. **Reemerging American visceral leishmaniasis in the state of Rio de Janeiro**. Rio de Janeiro, 2018 72p. Thesis [PhD in Clinical Research on Infectious Diseases] National Institute of Infectious Diseases Evandro Chagas.

The American visceral leishmaniasis (AVL) is considered one of the main reemerging parasitic diseases in Brazil and worldwide. In the state of Rio de Janeiro, cases of canine visceral leishmaniasis (CVL) and human recently have been reported in previously endemic regions for this disease. This fact is of concern since, in addition to its difficult control, the establishment of endemic transmission foci has been preceded by similar outbreaks in many regions of the country. The aim of the present study is to investigate the prevalence of CVL in two regions of recent introduction of the disease in the state of Rio de Janeiro, through a canine serological survey using the dual-path platform test (DPP®) and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and the results are presented in two manuscripts: the first describes the evaluation of the association between environmental characteristics obtained by remote sensing and the prevalence of LVC in the neighborhood of Jacaré, Niterói and the second evaluates the spatial distribution and characterizes the prevalence profiles of (LVC) in the municipality of Barra Mansa, both in the state of Rio de Janeiro, Brazil. We evaluated 97 dogs in the neighborhood of Jacaré, Niterói and 701 in Barra Mansa, with 21.6% and 11.5% of respectively seroprevalences. In Jacaré, dogs living in areas with greater coverage of sparse vegetation presented a prevalence of *L. infantum* infection five times higher than those residing in less vegetated areas (OR = 5.72, 1.47-22.20). On the other hand, more urbanized areas characterized as commercial or residential deprived, identified by remote sensing as those with high density of gray structures were associated to the lower occurrence of CVL (OR = 0.09; 0.01-0.92). The higher prevalence of infection in dogs living with other wild animals and in areas with higher vegetation cover, associated with lower prevalence in urbanized areas, indicates a rural pattern of CVL transmission in this area. In Barra Mansa the classification and regression trees (CART) method was used to analyze the data to identify the prevalence profiles. Of the 12 risk profiles identified, 62.5% of the positive dogs are included in the subset with the risk profiles 8, 9, 10, 11 and 12, distributed in 124 households. The highest prevalence of infection in dogs in Barra Mansa occurred in areas with maior highest area covered by ceramic roof and some vegetation cover, indicating an urbanized pattern of

CVL transmission in this area, different from the results found in Jacare, Niterói. These results show the existence of a high degree of complexity involved in the risk of infection by *L. infantum* and point out the need to investigate the factors related to infection in each area.

Keywords: Visceral leishmaniasis; dog; remote sensing

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

CART- Classification and Regression Trees (Árvore de classificação e regressão)

CE - Ceará

Ceua - Comissão de ética no uso de animais

CDC - Centers for disease control (Centro de controle de doenças)

DPP® - Dual-Path platform technology

EIE - Ensaio imunoenzimático

Ensp– Escola nacional de Saúde Pública

Fiocruz – Fundação Oswaldo Cruz

GPS – Global Position System (Sistema de posicionamento global)

HIV – Human immunodeficiency virus (Vírus da imunodeficiência)

HP - Histopatologia

IBGE - Instituto brasileiro de geografia e estatística

IHQ - Imunohistoquímica

Inpe - Instituto nacional de pesquisas espaciais

Lacen- Laboratório Central de Saúde Pública Noel Nutels

Lapclin-Dermzoo - Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatozoonoses em Animais Domésticos

LTA – Leishmaniose tegumentar americana

LTC – Leishmaniose tegumentar canina

LV – Leishmaniose visceral

LVA – Leishmaniose visceral americana

LVC – Leishmaniose visceral canina

MA – Maranhão

MG – Minas Gerais

MS – Mato Grosso do Sul

MLEE – Multilocus enzyme electrophoresis

NDVI - Índice de vegetação por diferença normalizada

NNN –Novy, Nicolle e McNeal

N₂ – Nitrogênio líquido

PBS – Phosphate buffered saline

PI - Piauí

RJ - Rio de Janeiro

RN- Rio Grande do Norte

RS- Rio Grande do Sul

SIG - Sistema de informação geográfica

SP - São Paulo

SR - Sensoriamento remoto

SFM - Sistema fagocítico mononuclear

SPSS – Statistical Package for the Social Science

TO - Tocantins

UTM -Universal transversa mercator

VigiLeish - Laboratório de Vigilância em Leishmanioses

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRO MANUSCRITO

Figura 1. Área de estudo, o bairro do Jacaré, município de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil, derivado do processamento da imagem WorldView 2 de 2010 **41**

Figura 2. Georreferenciamento dos casos caninos provenientes de investigação do foco para leishmaniose visceral com aplicação de *buffers* e grades ao redor dos casos, derivado do processamento da imagem WorldView 2 de 2010, no bairro do Jacaré, município de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil, entre dezembro de 2011 e março de 2012 **45**

SEGUNDO MANUSCRITO

Figura 1. Georreferenciamento de cães positivos e negativos para LVC e classificação da imagem nas áreas com buffers ao redor dos casos, derivados do processamento da imagem WorldView 2 de 2011. Município de Barra Mansa, Rio de Janeiro **59**

Figura 2. Estimador de intensidade kernel de cães positivos para LVC, no Município de Barra Mansa, Rio de Janeiro **60**

Figura 3. Modelo de árvore de classificação para a prevalência de infecção por *L.infantum* em cães, Barra Mansa, Rio de Janeiro, Brasil **61**

LISTA TABELAS

PRIMEIRO MANUSCRITO

Tabela 1. Prevalência de leishmaniose visceral canina segundo características do ambiente de criação dos cães, bairro do Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, 2011-2012 **44**

Tabela 2. Razões de chances (odds ratios - OR) e intervalos de 95% de confiança (IC95%) para leishmaniose visceral canina associada às características ambientais no Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, realizado entre os anos de 2011 e 2012 **46**

SEGUNDO MANUSCRITO

Tabela 1. Prevalência de infecção canina por *L. infantum* de acordo com perfis ambientais do peridomicílio, Barra Mansa, Rio de Janeiro, Brasil **63**

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	15
1.1 CICLO BIOLÓGICO	16
1.2 LV EM SERES HUMANOS.....	17
1.3 LV NOS CÃES.....	18
1.4 DIAGNÓSTICO.....	18
1.5 SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA.....	19
1.6 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE.....	21
1.7 ANÁLISE ESPACIAL EM EPIDEMIOLOGIA	22
2. JUSTIFICATIVA	24
3. OBJETIVOS	25
3.1.OBJETIVO GERAL.....	25
3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS	25
4. RESULTADOS	26
4.1. FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM UMA ÁREA DE RECENTE INTRODUÇÃO DA DOENÇA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO	26
4.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E PERFIS DE PREVALÊNCIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ÁREA ENDÊMICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO ...	27
5. CONCLUSÃO	28
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
APÊNDICES	39
APÊNDICE A- PRIMEIRO ARTIGO	39
APÊNDICE B - SEGUNDO ARTIGO	51

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são zoonoses de grande importância em saúde pública, que acometem o ser humano e diferentes espécies de mamíferos silvestres e domésticos, em regiões tropicais e subtropicais do Velho e do Novo Mundo (WHO, 2011). São causadas por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, sendo transmitidas através da picada das fêmeas de insetos vetores do gênero *Lutzomyia* (*Diptera: Psychodidae*), conhecidos como flebotomíneos (Marzochi e Marzochi 1994; WHO, 2010).

São endêmicas em 97 países e territórios e consideradas doenças negligenciadas, afetando a população mais pobre, principalmente nos países em desenvolvimento (África, Ásia e América Latina) (WHO, 2013).

Existem três formas principais de leishmaniose: tegumentar (LT), visceral (LV) ou kala-azar e mucocutânea. (WHO, 2013).

Em 2014, mais de 90% dos novos casos de LV foram reportados ocorrendo em seis países: Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. A maioria dos casos de LC ocorre no Afeganistão, Argélia, Brasil, Colômbia, República Islâmica do Irã, Paquistão, Peru, Arábia Saudita e República Árabe da Síria (WHO, 2014).

Mais de um bilhão de pessoas vivem em áreas endêmicas, com risco de infecção. Estima-se 300 mil casos de LV ocorram anualmente, com mais de 20 mil mortes por ano, e um milhão de casos de LT foram notificados nos últimos cinco anos. (WHO, 2013)

No Brasil, a LV é causada pelo parasito *Leishmania (Leishmania) infantum*, o principal vetor envolvido na transmissão é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* e o cão (*Canis familiaris*) é o reservatório no ambiente doméstico e peridoméstico (França-Silva et al., 2005).

Historicamente, a LV era caracterizada como uma endemia rural, porém, desde os anos 1980 a doença vem sofrendo um processo de urbanização. A primeira epidemia urbana importante no país foi em Teresina, estado do Piauí, entre 1981 a 1986 (Costa et al., 1990). Outras epidemias ocorreram posteriormente em Natal, estado do Rio Grande do Norte, São Luís, estado do Maranhão, em seguida a doença foi encontrada em outras áreas urbanas como Araçatuba (SP), Bauru (SP), Belo Horizonte (MG), Fortaleza (CE), Campo Grande (MS) e

Palmas (TO) (Jeronimo et al., 1994; Silva et al., 1997; Luz et al., 2001; Ministério da Saúde, 2006; Camargo-Neves, 2007).

Nos últimos anos, casos autóctones de leishmaniose visceral (LV) vêm sendo relatados em mais de 1.600 municípios, em 21 unidades federadas, confirmando a expansão e urbanização da doença. Esse processo de urbanização pode ser justificado por diversos fatores, como o processo de migração, a destruição ambiental, ocupação desordenada, más condições sanitárias. É fundamental considerar a heterogeneidade de transmissão em diferentes cenários urbanos com o objetivo de estabelecer estratégias de intervenção (Werneck, 2010).

Para compreender o problema da introdução, disseminação e manutenção da LV em ambiente urbano, há necessidade de uma abordagem analítica de variáveis, além de métodos mais elaborados para captar a dinâmica demográfica e mudanças ambientais em áreas de transmissão. A combinação de métodos estatísticos para a análise de dados espaço-temporais, sistema de informação geográfica (SIG) e imagens de sensoriamento remoto (SR) pode ajudar a lidar com esse desafio (Werneck, 2010; Almeida et al., 2014).

1.1 CICLO BIOLÓGICO

Os protozoários pleomórficos do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida e família Tripanosomatidae (Rey, 2001).

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas ao sugarem o sangue de mamíferos infectados ingerem macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania*. As formas intracelulares são liberadas no trato digestivo do inseto, se diferenciam em formas promastigotas e se multiplicam por divisão binária. Estas promastigotas transformam-se em paramastigotas as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor e ficam aderidas ao epitélio pelo flagelo. Quando se diferenciam em formas infectantes, as promastigotas metacíclicas migram para a probóscide do inseto, podendo infectar um novo hospedeiro mamífero (Ministério da Saúde, 2006).

Durante o repasto sanguíneo do flebotômíneo fêmea, as promastigotas são inoculadas nos hospedeiros e fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear (SFM), como monócitos, histiócitos e macrófagos, transformando-se então, em amastigotas, e se dirigem para os órgãos linfóides secundários, principalmente o fígado, baço, medula óssea e

linfonodos. As amastigotas se multiplicam por fissão binária até romperem a célula hospedeira, disseminando-se pelas vias hematogênica e linfática (Rey, 2001).

Há indício de que o período de maior transmissão da LV ocorra durante e logo após a estação chuvosa, quando há aumento da densidade populacional do inseto (Ministério da Saúde, 2006).

1.2 LV EM SERES HUMANOS

A infecção pela *L. (L.) infantum* caracteriza-se por um amplo espectro clínico, que pode variar desde as manifestações clínicas discretas (oligossintomáticas), moderadas e graves (Ministério da Saúde, 2006).

Alguns pacientes cursam com o desenvolvimento de uma síndrome com características clínicas próprias. Nos casos não tratados a doença tende a ser progressiva e cursar com elevada taxa de mortalidade. Usualmente, o paciente evolui ao óbito após cerca de dois anos de evolução, porém a doença pode persistir por vários anos. Acredita-se que a evolução da infecção esteja condicionada, dentre outras variáveis, à idade (Prado et al., 2009), estado nutricional e padrão alimentar do paciente (Malafaia, 2009), e coexistência de outras infecções, como *human immunodeficiency virus* (HIV) (Daher et al., 2009).

Os sinais clínicos podem ser evidenciados por diversos sinais clínicos como febre, anemia, vômito, diarreia, hepatoesplenomegalia, entre outros sinais. Como as manifestações clínicas da LV podem ser semelhantes a outras doenças, dificulta o seu diagnóstico (Pedrosa, et al., 2004).

O diagnóstico diferencial inclui malária, esplenomegalia tropical, esquistossomose ou cirrose com hipertensão porta, tuberculose miliar, brucelose, febre tifóide, endocardite bacteriana, histoplasmose, desnutrição, linfoma e leucemia (Herwaldt, 1999).

O treinamento de profissionais de saúde para a detecção e manejo da LVA é fundamental, já que o retardo no diagnóstico é responsável por grande parte da letalidade associada à doença. O estudo de Luz e colaboradores (2009) detectou diminuição da letalidade em municípios de Minas Gerais, cujos profissionais participaram de treinamentos e implantaram ações em seus municípios que envolviam a disseminação de informações para os demais profissionais de saúde (Borges et al., 2008).

1.3 LV NOS CÃES

As manifestações clínicas da doença no cão e no ser humano são similares, e apresentam sinais inespecíficos, como febre irregular por longos períodos, anemia, perda progressiva de peso e caquexia em seu estágio final (Marzochi et al., 1985a).

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença sistêmica que potencialmente pode envolver qualquer órgão, tecido ou fluido corporal. As lesões cutâneas são as manifestações clínicas mais comuns, podendo estar associada a outros sinais clínicos, como a linfadenite generalizada, perda de peso, hepatoesplenomegalia, febre, vômitos, diarreia, ceratoconjuntivite, epistaxe, entre outros (Solano-Galego et al., 2011).

Alterações dermatológicas são bastante frequentes nos cães com LV. A descamação cutânea é uma delas, podendo acometer a região periocular, borda das pinas, e eventualmente, se distribuir por todo o corpo. Alguns animais apresentam despigmentação cutânea, prurido, pelame seco, queda de pêlos e áreas de hiperqueratose e lignificação, principalmente em locais correspondentes a saliências ósseas (Genaro, 1993). Úlceras podem aparecer em qualquer sítio, mas na maioria das vezes ocorrem nas áreas ósseas salientes (úlceras de decúbito), no plano nasal, na pina e na região interdigital (Marzochi et al., 1985a). Observa-se também onicogribose associada à presença do parasita estimulando a matriz ungueal (Tilley, 2003).

1.4 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das leishmanioses deve considerar a associação entre dados clínicos, laboratoriais e epidemiológicos. Os testes laboratoriais contam com ferramentas de diferentes complexidades, cuja aplicabilidade pode variar de acordo com a forma da doença (LTA ou LVA) ou da infraestrutura local (Ministério da Saúde, 2006).

Os testes sorológicos são considerados sensíveis e específicos, embora possuam limitações na detecção de baixos níveis de anticorpos e podem apresentar reatividade cruzada com a leishmaniose tegumentar canina (LTC), observada em áreas endêmicas de sobreposição (Ferrer et al., 1995).

A partir de 2012, nos inquéritos epidemiológicos, o teste imunocromatográfico rápido Dual-Path Platform technology (DPP®) passou a ser utilizado como teste de triagem, podendo ser feito a campo, pois além de utilizar uma quantidade mínima de sangue, apresenta

os resultados em apenas 15 minutos. E o EIE passou a ser utilizado como teste confirmatório. e (Grimaldi et al., 2012; Silva et al., 2012).

Os métodos parasitológicos incluem identificação microscópica direta e isolamento do parasita em meio de cultura, a partir de diferentes espécimes clínicos (Ministério da Saúde, 2006). A histopatologia (HP) e a imunohistoquímica (IHQ) são métodos diretos, realizados através da identificação de amastigotas de *Leishmania*. A IHQ é mais sensível quando comparada à HP (Quintella et al., 2009). O exame parasitológico indireto visa o isolamento do agente infeccioso em meios de cultivo apropriados, sendo comumente utilizado o meio de cultura bifásico Novy, MacNeal, Nicole (NNN) e meio Schneider acrescido de 10% de soro fetal bovino (Silva, 2011). O teste padrão de referência para o diagnóstico das leishmanioses é a cultura parasitológica positiva (Chouih et al., 2009), porém não é realizada na rotina, principalmente devido ao grande volume de trabalho e a necessidade de estrutura laboratorial especializada (Madeira et al., 2006).

1.5 SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA

As leishmanioses são endêmicas em 97 países ou territórios, com uma incidência anual de 0,7 a 1,2 milhões de novos casos de LT e 200.000 a 400.000 novos casos de LV (WHO, 2016).

A LV causa cerca de 50.000 mortes anualmente, sendo considerada em nono lugar em relação às doenças infecciosas em uma análise global (WHO, 2010). Possui ampla distribuição ocorrendo na Ásia, na Europa, no Oriente Médio, na África e nas Américas (Ministério da Saúde, 2006). Na América Latina, a doença já foi descrita em pelo menos 12 países, sendo que 90% dos casos ocorrem no Brasil, especialmente na Região Nordeste. (Ministério da Saúde, 2006; WHO, 2016).

O registro do primeiro caso da doença no Brasil ocorreu em 1913, sendo encontrado em material de necrópsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso (Alencar et al. 1991). A partir de um estudo de febre amarela no Brasil, foram encontrados 41 casos positivos para *Leishmania* de amostras de vísceras no *pos mortem* em indivíduos oriundos das regiões Norte e Nordeste (Pena et al, 1934).

Acredita-se que a introdução da LV no país tenha sido durante a colonização portuguesa, por meio de cães infectados, e o parasito tenha se adaptado aqui a novos hospedeiros e vetores (Shaw, 2002). Em meados dos anos 1980, observou-se uma mudança

drástica na distribuição da LVA no Brasil. Antes, restrita às áreas rurais do nordeste brasileiro, avançou para outras regiões indenes, alcançando a periferia de grandes centros urbanos. A partir dos anos 90, os estados do Pará e Tocantins (região Norte), Mato Grosso do Sul (região Centro-oeste), Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste) passaram a influenciar de maneira significativa nas estatísticas da LVA no Brasil (Ministério da Saúde, 2006). Casos caninos autóctones de LV foram relatados na cidade de São Borja (RS) e em Santa Catarina (SC) região sul do país, onde não havia registro da doença, demonstrando a sua expansão da doença (Souza et al., 2009; Steindel et al., 2013). Em SC a doença se tornou endêmica e vem se expandindo nos últimos anos (Indá, 2016).

Mais de 70 mil casos de LV foram relatados no Brasil durante o período de 1980 a 2008, tendo 3.800 mortes. Em 1990, 90% dos casos aconteceram na Região Nordeste, porém em 2007 a incidência reduziu para 50% dos casos. Entre 2006 a 2008, a transmissão autóctone da LV foi relatada em mais de 1.200 municípios, em 21 unidades federadas (Werneck, 2010).

Acredita-se que esta expansão para diversas regiões do Brasil pode ser atribuída a fatores como dificuldades na eliminação do reservatório, diversidade epidemiológica das regiões afetadas, capacidade adaptativa do vetor, medidas insuficientes no controle do vetor e alto custo financeiro e social, além de outros fatores desconhecidos (Oliveira et al., 2008). Admite-se também que a urbanização decorra de modificações sócio-ambientais causadas por ações antrópicas, bem como pelo processo da migração de populações rurais para as periferias urbanas desprovidas de moradias e infraestrutura sanitária adequada, dividindo ainda o pequeno espaço com animais domésticos como os cães (Marzochi et al., 1985a; Costa et al., 1990; Costa et al., 1995; Camargo-Neves et al., 2001; Mendes et al., 2002).

No Estado do Rio de Janeiro, o primeiro caso humano de LV foi relatado em 1977, na zona oeste da cidade do Rio de Janeiro, e desde então, a área é considerada endêmica para a LVC (Marzochi et al., 2009).

A partir de 1980, o Ministério da Saúde estabeleceu oficialmente o inquérito canino em áreas endêmicas, como Realengo, Bangu e Serra do Lameirão - Senador Camará. Nos anos seguintes, outras investigações foram realizadas após relatos de novos casos humanos em Campo Grande e Jacarepaguá, também consideradas áreas de sobreposição com a LT. Desde então, os inquéritos caninos ocorrem nesses bairros (Marzochi et al. 1985b; 2009).

Entre os anos de 2010 e 2013, casos autóctones e alóctones de LVC foram notificados em Mangaratiba, Maricá, Niterói, Barra Mansa, Cachoeiras de Macacu, Volta Redonda, Resende e Rio de Janeiro, demonstrando a expansão da doença para outras regiões do estado

(Figueiredo, et al., 2010a; Rio de Janeiro, 2012; Campos et al., 2013; Mello et al., 2014; Oliveira et al., 2015; Silva et al., 2015).

A precedência de casos caninos de LV aos casos humanos, concomitantemente à presença do vetor *L. longipalpis* e ambientes susceptíveis colocam as autoridades de vigilância epidemiológica em alerta da expansão geográfica dos casos caninos no estado do Rio de Janeiro (Werneck, 2008).

1.6 ESTRATÉGIAS DE CONTROLE

O programa nacional de controle da leishmaniose visceral visa o diagnóstico precoce e tratamento de casos humanos, triagem sorológica em cães com sacrifício dos soropositivos, emprego de inseticidas em áreas de focos notificados e educação da população (Oliveira et al., 2008; Werneck, 2010). Porém, mesmo com essas medidas sendo tomadas há mais de duas décadas a prevalência da LV vem aumentando em diversas áreas do país (Ministério da Saúde, 2006; Costa, 2008).

Na LV, o cão doméstico é a principal fonte de infecção para os insetos vetores em área urbana (Ministério da Saúde, 2006). Embora o Ministério da Saúde recomende a eutanásia de cães soropositivos, esse assunto é muito polêmico e questionado acerca da sua eficácia (Desjeux, 2004). Romero e colaboradores sugerem que a retirada e eutanásia dos cães infectados como estratégia de controle é ineficaz para a interrupção da transmissão da leishmaniose em cães, devido à alta taxa de substituição de cães eliminados por outros cães suscetíveis (Romero et al., 2010).

O combate ao vetor não é um método fácil se realizado apenas pelo controle químico, por isso torna-se necessária a limpeza de quintais, terrenos e praças públicas para possivelmente evitar condições que favoreçam o desenvolvimento de criadouros de formas imaturas do vetor (Ministério da Saúde, 2006).

Devido à complexidade do cenário epidemiológico da LVA, e da sua distribuição heterogênea, podendo levar a um aumento substancial em níveis de transmissão, as ações de controle devem ser concentradas preferencialmente em áreas de alto risco (Werneck, 2008).

1.7 ANÁLISE ESPACIAL EM EPIDEMIOLOGIA

Análise espacial em saúde é o estudo quantitativo da distribuição das doenças ou serviços de saúde, onde o objeto de estudo é referenciado geograficamente. Os métodos para a análise espacial podem ser divididos em visualização (onde o mapeamento de eventos de saúde é a ferramenta primária); análise exploratória de dados (utiliza para descrever padrões espaciais e relações entre mapas); e modelagem (utilizada quando se pretende testar formalmente uma hipótese ou estimar relações, como, por exemplo, entre a incidência de uma determinada doença e variáveis ambientais) (Medronho, 2009). Essa ferramenta pode ajudar a entender a expansão e identificar os fatores de risco das doenças.

O geoprocessamento é o conjunto de técnicas de coleta, tratamento e exibição de informações referenciadas geograficamente. Um dos sistemas que se utilizam dessas técnicas é o sistema de informação geográfica (SIG), que é constituído em uma estrutura de processamento eletrônico de dados que permite a captura, armazenamento, manipulação, análise, demonstração e relato de dados. O SIG tem como função integrar informações espaciais dos dados cartográficos, censitários e de cadastramento, imagens de satélite, redes e modelos numéricos de terreno numa única base de dados; cruzar informações através de algoritmo de manipulação para gerar mapeamentos derivados; consultar, recuperar, visualizar e permitir saídas gráficas para o conteúdo da base de dados geocodificadas (Sanson, 1991).

O SR é uma tecnologia capaz de adquirir informações sobre a superfície da Terra sem qualquer contato, por meio de sensores localizados em satélites meteorológicos e ambientais, permitindo o monitoramento sistemático e regular das condições ambientais da Terra, fornecendo grandes quantidades de dados espaciais e temporais e a possibilidade de extrair informações climáticas e ecológicas. A associação desses dados com estudos de campo pode ser usada para identificar e mapear os potenciais habitats de parasitas e vetores de doenças, prever alterações nas populações de vetores e parasitas, monitorando alterações quantitativas e qualitativas nos respectivos habitats, e planejar programas de controle, indicando áreas de maior e menor risco da doença (Hugo-Jones, 1989).

Em estudos ecológicos é importante revelar os relacionamentos dos padrões de ocorrência de doenças com estas variáveis de caracterização ambiental. A presença ou ausência de cobertura vegetal é a característica mais frequentemente utilizada nos estudos que buscam relacionar ambiente e doenças endêmicas, pelo seu papel na manutenção do ciclo biológico de vetores e agentes infecciosos, uma vez que esta variável é de resposta

relativamente rápida, quando da alteração de outras variáveis ambientais como a precipitação, temperatura e umidade (Hay et al, 1996).

Ferramentas de geoprocessamento, em especial o SR, podem ser alternativas 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 (Almeida et al., 2014; Almeida & Werneck, 2014). Alguns estudos vêm salientando que o uso potencial de imagens obtidas por SR para estudo de endemias em áreas urbanas e periurbanas implica em grandes desafios conceituais e técnicos (Correia et al, 2014).

2. JUSTIFICATIVA

A LV encontra-se em processo de expansão em várias regiões brasileiras, sendo registrados casos humanos e caninos tanto em áreas rurais como em áreas urbanizadas (Bevilacqua et al., 2001; Gontijo; Melo, 2004; Ministério da Saúde, 2006).

No Estado do Rio de Janeiro, as áreas endêmicas da LV concentravam-se em algumas regiões periurbanas da capital (Cabrera et al., 2003), entretanto, nos últimos anos, foram notificados casos de LVC em regiões indenes para essa doença, tanto município quanto no estado do Rio de Janeiro, como no bairro de Laranjeiras (Figueiredo et. al., 2010a) e no município de Maricá (de Paula et al., 2009), demonstrando a expansão da doença para outras regiões do estado.

Entre os anos de 2010 e 2013, no município de Barra Mansa, estado do RJ, nove casos de LV foram diagnosticados, e quatro deles evoluíram para óbito (Pimentel et al., 2014). Posteriormente, foi realizado um inquérito canino, sendo identificados 141 cães soropositivos no município (Mello et al., 2014).

No Jacaré, região de Niterói, estado do RJ, foi realizado um inquérito sorológico em uma amostra da população, após a identificação do primeiro caso de LVC entre os anos de 2011 e 2012, sendo encontrada uma prevalência de 15,5% (Oliveira et al, 2015).

Através da identificação da LV no bairro do Jacaré e município de Barra Mansa, duas áreas de recente introdução da doença com a ocorrência de casos humanos e caninos, gera preocupação, já que em muitas regiões do país as endemias são precedidas de surtos semelhantes a estes.

A investigação da prevalência da LVC por diferentes métodos laboratoriais no bairro do Jacaré e no município de Barra Mansa, assim como identificar algumas das variáveis epidemiológicas associadas à infecção canina, através do SR podem elucidar algumas variáveis epidemiológicas e caracterizar perfis de risco para infecção por *L. infantum* nas áreas afetadas, assim como outras regiões do estado do Rio de Janeiro, visando novas alternativas de vigilância e controle da leishmaniose visceral.

3. OBJETIVOS

3.1.OBJETIVO GERAL

Avaliar a ocorrência da LVC em duas regiões de recente introdução da doença no estado do Rio de Janeiro.

3.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Avaliar a prevalência da LVC nas duas áreas de estudo, através de inquérito sorológico canino, utilizando o Teste Imunocromatográfico Rápido em Dupla Plataforma (*Dual Path Platform* – DPP®) e o ensaio imunoenzimático (EIE);
2. Identificar as amostras de *Leishmania* isoladas em meio de cultura, empregando a técnica de eletroforese de enzimas dos animais sororretores;
3. Avaliar os fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina no bairro do Jacaré, Niterói, estado do Rio de Janeiro;
4. Caracterizar perfis de risco para infecção por *L. infantum* em cães de Barra Mansa como base nas informações ambientais obtidas pelo SR.

4. RESULTADOS

A metodologia empregada neste estudo e os resultados obtidos serão apresentados no formato de artigos científicos. Nesta seção encontram-se dois artigos com os resultados relacionados ao projeto.

4.1. FATORES AMBIENTAIS ASSOCIADOS À OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM UMA ÁREA DE RECENTE INTRODUÇÃO DA DOENÇA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Artigo publicado no periódico *Cadernos de Saúde Pública* em anexo

Foi avaliada a associação entre características ambientais obtidas por sensoriamento remoto e a prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) no bairro do Jacaré, área de recente introdução da doença, no Município de Niterói, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Trata-se de um estudo seccional para avaliação da prevalência de LVC, definida por meio da positividade no teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (*dual path platform – DPP*), confirmada com o ensaio imunoenzimático (EIE). Foram incluídos 97 cães com prevalência e LVC de 21,6%. Houve maior frequência de LVC em cães com a convivência com outro cão, gambá, mico e ouriço-terrestre, assim como com a história de remoção de outros cães com LVC do domicílio. Na análise multivariada, ajustada por sexo e idade do cão, cães residentes em áreas com maior cobertura de vegetação esparsa apresentaram prevalência da infecção por *Leishmania infantum* cinco vezes maior do que aqueles que residiam em áreas menos vegetadas (OR = 5,72; IC95%: 1,47-22,20). Por outro lado, áreas mais urbanizadas caracterizadas como comerciais ou residenciais carentes, identificadas pelo sensoriamento remoto como aquelas com alta densidade de estruturas cinza, estiveram associadas à menor ocorrência da LVC (OR = 0,09; IC95%: 0,01-0,92). A maior prevalência de infecção em cães convivendo com outros animais silvestres e em áreas com maior cobertura vegetal, associada com menor prevalência em áreas urbanizadas, indica um padrão rural de transmissão da LVC

nessa área.

Os resultados obtidos respondem aos objetivos específicos de nº 1, 2 e 3 desta tese.

4.2 DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E PERFIS DE PREVALÊNCIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ÁREA ENDÊMICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Artigo submetido

O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição espacial e caracterizar os perfis de prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC), no município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foi utilizada uma amostra de 701 cães do inquérito sorológico censitário canino, realizado a partir de casos humanos de leishmaniose visceral (LV), no município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro. A avaliação da prevalência de LVC foi definida por meio da positividade no teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (DPP®), confirmada com o ensaio imunoenzimático (EIE). Houve captura de 12 exemplares de *L. longipalpis* machos, um exemplar de *L. longipalpis* fêmea, cinco exemplares de *L. intermedia* macho, quatro de *L. intermedia* fêmea e um de *L. migonei* fêmea. O padrão da distribuição espacial da infecção canina foi avaliado através do estimador kernel de intensidade. Foi realizado o método da classificação e regressão (Classification and Regression Trees - CART) para a análise dos dados para identificação dos perfis de prevalência. A prevalência de infecção por LVC na nossa amostra foi de 11,5%. Foram identificados 12 perfis de acordo com a prevalência de infecção canina por *L. infantum* e com os perfis ambientais do peridomicílio. Os resultados deste estudo descrevem algumas características ambientais associadas à ocorrência de infecção canina por *L. infantum* em Barra Mansa. A identificação de áreas prioritárias e suas características ambientais, através da categorização dos perfis de risco, tem o objetivo de facilitar a identificação dos padrões ambientais da LVC, otimizando os inquéritos e estudos epidemiológicos neste Município, assim como em outras áreas de ocorrência da LVC.

Os resultados obtidos respondem aos objetivos específicos de nº 1, 2 e 4 desta tese.

5. CONCLUSÃO

- A maior prevalência de infecção em cães convivendo com outros animais silvestres e em áreas com maior cobertura vegetal e uma menor prevalência em áreas urbanizadas, indica um padrão com características rurais de transmissão da LVC no Jacaré, Niterói;

- Apesar da existência de núcleos de população de baixa renda e aglomerados subnormais no Jacaré, Niterói, foi observado que a distribuição espacial da infecção por *L. infantum* ocorreu apenas na região rural do bairro, ao longo da rua principal, em casas com melhores estruturas e menos aglomeradas;

- A maior prevalência de infecção em cães no município de Barra Mansa ocorreu em áreas com maior percentual de telhado de cerâmica e com alguma cobertura vegetal, indicando um padrão de transmissão da LVC mais urbanizado nessa área;

- 62,5% dos cães positivos no estudo em Barra Mansa estão incluídos no subconjunto com os perfis de risco 8, 9, 10, 11 e 12, distribuídos em 124 domicílios. Através desses resultados, sugere-se que esses subconjuntos devem ser investigados a fim de identificar a dinâmica de transmissão da LVC nessas áreas, por serem consideradas prioritárias;

- Embora existam muitas incertezas sobre os fatores relacionados aos padrões de ocorrência e disseminação da LV, a utilização de ferramentas como o SIG e o sensoriamento remoto se mostrou útil para identificar características ambientais que podem ser utilizadas para definir áreas de maior risco para a LVC.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alencar JE, Dietze R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: Veronesi R. Doenças infecciosas e parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1991. p.706-17.

Almeida MA, Jesus EE, Sousa-Atta ML, Alves LC, Berne ME, Atta AM. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Vet Parasitol*. 2005;127:227-32.

Almeida AS, Medronho RA, Werneck GL. Identification of Risk Areas for Visceral Leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 2011;84(5): 681–7.

Almeida AS, Werneck GL. Prediction of high-risk areas for visceral leishmaniasis using socioeconomic indicators and remote sensing data. [periódico na internet]. *Int J Health Geogr*. 2014. [Acesso em 10 jan. 2017] 13;13. Disponível em: <https://ij-healthgeographics.biomedcentral.com/track/pdf/10.1186/1476-072X-13-13?site=ij-healthgeographics.biomedcentral.com>

Almeida AS, Werneck GL, Resendes, APC. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. *Cad Saúde Publica*. 2014;30:1639-53.

Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. *Arq Brasil Med Vet Zootec*. 2001;53:1-8.

Borges BK, Silva JA, Haddad JP, Moreira EC, Magalhaes DF, Ribeiro LM, et al. Assessment of knowledge and preventive attitudes concerning visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Cad Saúde Publica*. 2008;24:777-84.

Cabrera MA, Paula AA, Camacho LA, Marzochi MC, Xavier SC, da Silva AV, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2003;45:79-83.

Camargo-Neves VLF, Katz G, Rodas LA, Poletto DW, Lage LC, Spinola RM, et al. Use of spatial analysis tools in the epidemiological surveillance of American visceral leishmaniasis, Aracatuba, Sao Paulo, Brazil, 1998-1999. *Cad Saúde Publica*. 2001;17(5):1263-7.

Camargo-Neves, VLF. Leishmaniose Visceral Americana no Estado de São Paulo: situação atual. *BEPA, Bol. epidemiol. paul.* (Online) 2007v:4.

Campos MP, da Silva DA, Madeira MF, Júnior AAMV, Figueiredo FB. First autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2013; 22 .

Carvalho MS, Souza-Santos R. Análise de dados espaciais em saúde pública: métodos, problemas, perspectivas. *Cad Saude Publ*. 2005;21(2):361-78.

Correia VRM, Carvalho MS, Sabroza PC, Vasconcelos CH. Remote sensing as a tool to survey endemic diseases in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2004; 20:891-904.

Costa JML. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. *Gazeta Médica da Bahia*. 2008; 74: 3-17.

Costa CH, Pereira HF, Araujo MV. Visceral leishmaniasis epidemic in the State of Piauí, Brazil, 1980-1986. *Rev Saúde Publ*. 1990;24(5):361-72.

Costa JM, Viana GM, Saldanha AC, Nascimento MD, Alvim AC, Burattini MN, et al. Visceral leishmaniasis in the State of Maranhao, Brazil: evolution of an epidemic. *Cad Saúde Publ*. 1995;11(2):321-4.

Cupolillo E, Grimaldi G Jr, Momen H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *Am J Trop Med Hyg*. 1994;50:296-311.

Daher EF, Fonseca PP, Gerhard ES, Leitao TM, Silva Junior GB. Clinical and epidemiological features of visceral leishmaniasis and HIV co-infection in fifteen patients from Brazil. *J Parasitol.* 2009;95(3):652-5.

Deane LM, Deane MP. Observações preliminares sobre a importância comprovativa do homem, do cão e da rapôsa (*Lycalopex vetulus*) como reservatórios da *Leishmania donovani*, em área endêmica de calazar, no Ceará. *O Hospital.* 1955;48:61-70.

Deane LM, Deane MP. Leishmaniose visceral urbana (no cão e no homem) em Sobral, Ceará. *O Hospital.* 1955b;47(1):75-87.

Degrave W, Fernandes O, Campbell D, Bozza M, Lopes UG. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania*: a mini review. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1994; 89:463-469.

Desjeux, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases.* 2004; 27: 305-18.

Dinesh DS, Das P, Picado A, Davies A, Speybroeck N, Boelaert M and Coosemans M. The efficacy of indoor CDC light traps for collecting the sandfly *Phlebotomus argentipes*, vector of *Leishmania donovani*. *Med. and Vet. Entomol.* 2008; 22: 120–3.

Ferrer L. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *Vet Record.* 1995; 136,:514-6,.

Figueiredo FB, Barbosa Filho CJ, Schubach EY, Pereira SA, Nascimento LD, Madeira MF. Report on an autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in the southern zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2010a;43, 98-9,

Figueiredo FB, Madeira MF, Nascimento LD, Abrantes TR, Mouta-Confort E, Passos SR, et al. Canine visceral leishmaniasis: study of methods for the detection of IgG in serum and eluate samples. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2010b;52(4):193-6.

Franca-Silva JC, Barata RA, Costa RT, Monteiro EM, Machado-Coelho GL, Vieira EP, et al. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet. Parasitol.* 2005;131:213-20.

Galati EAB. Classificação de Phlebotominae. In: Rangel EF, Lainson R, editors. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2003; p.23-51.

Gatrell AC, Bailey TC, Diggle PJ, Rowlingson BS, 1996. Spatial point pattern analysis and its application in geographical epidemiology. *Trans. Inst. Br. Geogr.* 1996; 21: 256-274.

Genaro O. Leishmaniose visceral canina experimental. Belo Horizonte. Tese [Doutorado]- Universidade Federal de Minas Gerais; 1993.

Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev. Brasil. de Epi.* 2004;3.

Grimaldi G Jr., Teva A, Ferreira AL, dos Santos CB, Pinto IS, de-Azevedo CT, et al. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP(R) CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2012;106:54-9.

Hugh-Jones M. Applications of remote sensing to the identification of the habitats of parasites and disease vectors. *Parasitol Today.* 1989; 5:244-51

Hay SI, Tucker CJ, Rogers DJ, Packer MJ. Remotely sensed surrogates of meteorological data for the study of the distribution and abundance of arthropod vectors of disease. *Ann Trop Med Parasitol* 1996; 90:1-19.

Herwaldt BL. Leishmaniasis. *Lancet*, 1999;354:1191-9,

IBGE. [Homepage na Internet]. Cidades. [Acesso em 07 de junho de 2017]. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php?lang=>.

Inda FMC. Estudo epidemiológico de leishmaniose visceral na população canina em seis localidades do município de Florianópolis, Santa Catarina. Florianópolis. Dissertação [Mestrado] - Universidade federal de Santa Catarina, Centro de ciências biológicas; 2016.

Jeronimo SM, Oliveira RM, McKay S, Costa RM, Sweet J, Nascimento ET, et al. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88:386-8.

Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977; 33:159-74.

Luz ZM, Carneiro M, Schall V, Rabello A. The organization of health services and visceral leishmaniasis: an integrated intervention to improve diagnosis and treatment. *Cad. Saude Publ.* 2009;25(5):1177-84.

Luz, ZMP. et al. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolatividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Rev da Soc Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, p.249-254, 2001.

Madeira MF, Schubach AO, Schubach TMP, Pereira AS, Figueiredo FB, Baptista C, et al. Post mortem parasitological evaluation of dogs seroreactive for *Leishmania* from Rio de Janeiro, Brazil. *Vet Parasitol* 2006; 138:366-370.

Malafaia G. Protein-energy malnutrition as a risk factor for visceral leishmaniasis: a review. *Parasite Immunol.* 2009;31(10):587-96.

Mancianti F, Gramiccia M, Gradoni L, Pieri S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 1988;82(4):566-7.

Marzochi MC, Coutinho SG, De Souza WJ, De Toledo LM, Grimaldi Junior G, Momen H, et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz.* 1985a;80(3):349-57.

Marzochi MC, Fagundes A, Andrade MV, Souza MB, Madeira MF, Mouta-Confort E. Visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: eco-epidemiological aspects and control. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42:570–580.

Marzochi MCA, Marzochi KBF. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil: emerging anthroponosis and possibilities for their control. *Cad. de Saúde Publ.* 1994;10(2):359-75.

Marzochi MCA, Marzochi KBF, Fagundes A, Conceição-Silva F. A questão do controle das leishmanioses no Brasil. *In: Conceição-Silva F, Alves CR (org.). Leishmanioses do continente americano.* ISBN: 978-85-7541-439-2, Editora FIOCRUZ, 2014. 512 p.

Marzochi MC, Sabroza PC, Toledo LM, Marzochi KBF, Tramontano NC, Rangel-Filho FB. Leishmaniose visceral na cidade do Rio de Janeiro - Brasil. *Cad Saude Pública.* 1985b;1:5–17.

Medronho RA, Werneck GL. *Epidemiologia. Análise de dados espaciais em saúde.* Cap.27 Pag 493-97, São Paulo: Atheneu, 2009

Mello CX, Figueiredo FB, Júnior AAVM, Furtado MC, Miranda LFC, Madeira MF. Outbreak of canine visceral leishmaniasis in Barra Mansa, State of Rio de Janeiro. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2014; 47 (6).

Mendes S, Silva AA, Trovao Jde R, Silva AR, Costa JM. Space expansion of the American visceral leishmaniasis in Sao Luis, Maranhao, Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2002;35(3):227-31.

Ministério da Saúde (Brasil). *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.* Brasília-DF. Ministério da Saúde - MS (ed), Brasília. 2003.

Ministério da Saúde (Brasil). *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.* Brasília-DF. Ministério da Saúde - MS (ed), Brasília. 2006.

Oliveira, AC, Figueiredo, FB, Silva, VL, Santos, FN, Souza, MB, Madeira, MF, Abrantes, TR, Périssé, ARS. - Canine visceral leishmaniasis case investigation in the Jacare region of Niteroi, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*, 57(4): 325-32, 2015.

Oliveira CD, Morais MH, Machado-Coelho GL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad. Saude Pub.* 2008;24(12):2953-8.

Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, et al. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* 2010;236(11):1184-91.

Pattabhi S, Whittle J, Mohamath R, El-Safi S, Moulton GG, Guderian JA, Colombara D, Abdoon AO, Mukhtar MM, Mondal D, Esfandiari J, Kumar S, Chun P, Reed SG, Bhatia A. Design, Development and Evaluation of rK28-Based Point-of-Care Tests for Improving Rapid Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Neglected tropical diseases.* 2010; 4 , 1 -11.

Paula CC, Figueiredo FB, Menezes RC, Mouta-Confort E, Bogio A, Madeira MF. Canine visceral leishmaniasis in Marica, State of Rio de Janeiro: first report of an autochthonous case. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2009; 42, 77-8.

Pedrosa CMS, Rocha EMM. Aspectos clínicos e epidemiológicos da leishmaniose visceral em menores de 15 anos procedentes de Alagoas, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37:300-304.

Penna HA. Leishmaniose Visceral no Brasil. *Bras Med.*1934;48:949-50.

Pimentel MIF, Alves ELM , da Silva MHFF , Moza PG, Almeida PMP , Cunha CS , Mello CX , Schubach AO, High visceral leishmaniasis mortality rate in Barra Mansa, a new area of visceral leishmaniasis transmission in the State of Rio de Janeiro, Brazil. 2014. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2014; 47 (4)

Prado PF, Rocha MF, Sousa JF, Caldeira DI, Paz GF, Dias ES. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in Montes Claros, State of Minas Gerais, Brazil, between 2007 and 2009. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2011;44(5):561-6.

Pugedo H, Barata RA, Franca-Silva JC, Silva JC, Dias ES. HP: an improved model of suction light trap for the capture of small insects. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2005;38(1):70-2.

Quintella LP, Cuzzi T, Madeira MF, Okamoto T, Schubach AO. Immunoperoxidase technique using an anti-Leishmania (L.) chagasi hyperimmune serum in the diagnosis of culture confirmed American tegumentary leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2009; 51:83-6.

Rey L. Leishmania e leishmaniasis: Os parasitos. *Parasitologia.* 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2001. p. 214-226.

Rojas LI, Barcellos C, Peiter P. Utilização de mapas no campo da epidemiologia no Brasil. *Inf Epidemiol SUS.* 1999;8(2):27-35.

Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America – a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4:e584.

Nota técnica Nº 5/2012- GDTVZ/DTI/CVE/SVEA/SVS-SES RJ. Assunto: Intensificação da Vigilância para Leishmaniose Visceral no Estado do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2012.

Sanson RL, Pfeiffer DU, Morris RS. Geographic information systems: their application in animal disease control. *Rev. Sci Tech* 1991;10(1):179-95.

Rio de Janeiro. Secretaria Municipal de Saúde. Niterói-Bairros - Secretaria Municipal de Desenvolvimento, Ciência e Tecnologia de Niterói – 1991. Acesso em 07 de junho de 2017] Disponível em: <http://culturaniteroi.com.br/blog/?id=344>

Shaw JJ. New World Leishmaniasis: the ecology of leishmaniasis and the diversity of leishmaniasis species in Central and South America. In: Farrel, editor. *World Class Parasites: Leishmania.* London: 4 Kluwer Academic Publishe Boston; 2002. p.11-31.

Silva AR, Viana GMC, Varonil C, Pires B, Nascimento MDSD, Costa JML. Leishmaniose visceral (Calazar) na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. *Rev Soc Bras Med Trop* 1997; 30:359-68.

Silva DA, Madeira MF, Figueiredo FB. Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2015; 57(5): 435-8.

Silva DA, Madeira MF, Teixeira AC, Souza CM, Figueiredo FB. Laboratory tests performed on *Leishmania* seroreactive dogs euthanized by the leishmaniasis control program. *Vet Parasitol*. 2011;179(1-3): 257-61.

Silveira FT, Lainson R, Crescente JA, de Souza AA, Campos MB, Gomes CM, et al. A prospective study on the dynamics of the clinical and immunological evolution of human *Leishmania (L.) infantum chagasi* infection in the Brazilian Amazon region. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2010;104(8):529-35.

Solano-Gallego L, Miro G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*. 2011; 4:86

Souza GD, Santos E, Andrade Filho JD. The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalps* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. *Mem do Inst Osw Cruz* 2009; 104 (8): 1181-2.

Souza TL, Figueiredo FB, Almeida AB, Benigno CV, Pontes CS, Souza MB. Natural breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) on Marambaia Island, Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Trop*. 2014; 136: 104-7.

Steindel, M; Menin, Á.; Tatiane EvangelistaII; Patrícia H. StocoI; Mariel A. MarlowI; Renata C. FleithI; Celso PilatiIII; Edmundo C. GrisardI. Outbreak of autochthonous canine visceral leishmaniasis in Santa Catarina, Brazil. *Pesq. Vet. Bras*. 2013:33.

Smith Jr.FW. Leishmaniose. In:Tilley LP, editor. Consulta Veterinária em 5 minutos – espécies canina e felina. 2ª ed. São Paulo: Manole, 2003. p.892.

WHO. World Health Organization Control of Leishmaniasis. Technical Report Series Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Acesso em 05/09/2016 [Disponível em: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_949_eng.pdf].:949

WHO. World Health Organization. Health topics Leishmaniasis. Acesso em 22/05/2016. [Disponível em: <http://www.who.int/topics/leishmaniasis/en/>]

Werneck, GL. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. Cad. Saúde Publ., 2010;26(4):644-5.

Werneck, GL. Forum: Geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. Cad. Saúde Publ. 2008;24(12):2937-40.

APÊNDICES

APÊNDICE A- PRIMEIRO ARTIGO

CSP CADERNOS DE SAÚDE PÚBLICA
REPORTS IN PUBLIC HEALTH

ARTIGO
ARTICLE

Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença no Estado do Rio de Janeiro, Brasil

Environmental factors associated with canine visceral leishmaniasis in an area with recent introduction of the disease in the State of Rio de Janeiro, Brazil

Factores ambientales asociados a la ocurrencia de leishmaniosis visceral canina en un área de reciente introducción de la enfermedad en el estado de Río de Janeiro, Brasil

Tuanne Rotti Abrantes ¹
Guilherme Loureiro Werneck ²
Andréa Sobral de Almeida ³
Fabiano Borges Figueiredo ⁴

doi: 10.1590/0102-311X00021117

Resumo

Foi avaliada a associação entre características ambientais obtidas por sensoriamento remoto e a prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC) no bairro do Jacaré, área de recente introdução da doença, no Município de Niterói, Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Trata-se de um estudo seccional para avaliação da prevalência de LVC, definida por meio da positividade no teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (dual path platform – DPP), confirmada com o ensaio imunoenzimático (EIE). Foram incluídos 97 cães com prevalência de LVC de 21,6%. Houve maior frequência de LVC em cães com a convivência com outro cão, gambá, mico e ouriço-terrestre, assim como com a história de remoção de outros cães com LVC do domicílio. Na análise multivariada, ajustada por sexo e idade do cão, cães residentes em áreas com maior cobertura de vegetação esparsa apresentaram prevalência de infecção por *Leishmania infantum* cinco vezes maior do que aqueles que residiam em áreas menos vegetadas (OR = 5,72; IC95%: 1,47-22,20). Por outro lado, áreas mais urbanizadas caracterizadas como comerciais ou residenciais carentes, identificadas pelo sensoriamento remoto como aquelas com alta densidade de estruturas cinza, estiveram associadas à menor ocorrência da LVC (OR = 0,09; IC95%: 0,01-0,92). A maior prevalência de infecção em cães convivendo com outros animais silvestres e em áreas com maior cobertura vegetal, associada com menor prevalência em áreas urbanizadas, indica um padrão rural de transmissão da LVC nessa área.

Leishmaniose Visceral; Cães; Sensores Remotos

Correspondência

T. R. Abrantes
Programa de Pós-graduação em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz.
Av. Brasil 4365, Rio de Janeiro, RJ 21040-900, Brasil.
tuanne_rotti@yahoo.com.br

¹ Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

² Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

³ Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil.

⁴ Instituto Carlos Chagas, Fundação Oswaldo Cruz, Curitiba, Brasil.



Este é um artigo publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Attribution, que permite uso, distribuição e reprodução em qualquer meio, sem restrições, desde que o trabalho original seja corretamente citado.

Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose de importância em saúde pública e ocupa o nono lugar em relação à carga de doenças infecciosas mundialmente ^{1,2}. A doença é endêmica em 65 países, com uma incidência estimada em 400 mil novos casos e 50 mil mortes por ano ³.

No Brasil, a doença é causada por *Leishmania infantum*, o principal vetor é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* e o cão (*Canis familiaris*) é o principal reservatório no ambiente doméstico e peridoméstico ⁴. Nos cães, o parasitismo é abundante nas vísceras e na derme, porém os cães infectados podem permanecer sem sinais clínicos por um longo período de tempo, servindo como fonte de infecção para o vetor ¹.

Nas áreas endêmicas, o Ministério da Saúde preconiza para o controle do reservatório canino a realização de inquérito sorológico e eutanásia em cães sororretores ⁵.

Anteriormente conhecida como uma doença de características rurais, a LV vem se tornando endêmica e epidêmica em grandes cidades brasileiras desde a década de 1980 ⁶. O processo desordenado de ocupação urbana associado à migração, assentamentos urbanos não planejados e saneamento precário leva às condições precárias de vida e destruição ambiental, promovendo condições favoráveis para a reprodução do flebotomíneo ^{7,8}.

A avaliação de doenças endêmicas na perspectiva de vários elementos envolvidos no ciclo de transmissão, tais como os determinantes ambientais e sociais da doença, tem sido o enfoque de alguns estudos empregando técnicas de geoprocessamento ^{8,9,10,11,12}. Ferramentas de geoprocessamento, em especial o sensoriamento remoto, pode 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 ^{1,11,12}. Entretanto, alguns estudos têm salientando que o uso potencial de imagens obtidas por sensoriamento remoto para estudo de endemias em áreas urbanas e periurbanas implica grandes desafios conceituais e técnicos ^{12,13,14}.

No Estado do Rio de Janeiro, novas áreas têm sido identificadas com ocorrência de leishmaniose visceral canina (LVC) em diversos municípios ^{15,16,17}. Contudo, pouco se conhece acerca dos fatores ambientais envolvidos no aparecimento da LVC nessas áreas. Este artigo tem como objetivo avaliar a associação entre características ambientais obtidas por sensoriamento remoto e a ocorrência da LVC em área de recente introdução da doença no bairro do Jacaré, Município de Niterói.

Materiais e métodos

Desenho e local do estudo

Foi realizada a investigação do foco para LVC pelo caso índice identificado em 2009, no bairro do Jacaré (Figura 1). Seguindo a recomendação do Ministério da Saúde para avaliação da infecção canina por *L. infantum*, foi delimitada a área para investigação do foco, realizando um estudo seccional entre 110 cães residentes ao redor do caso índice, entre dezembro de 2011 e março de 2012 ⁵.

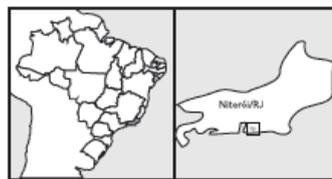
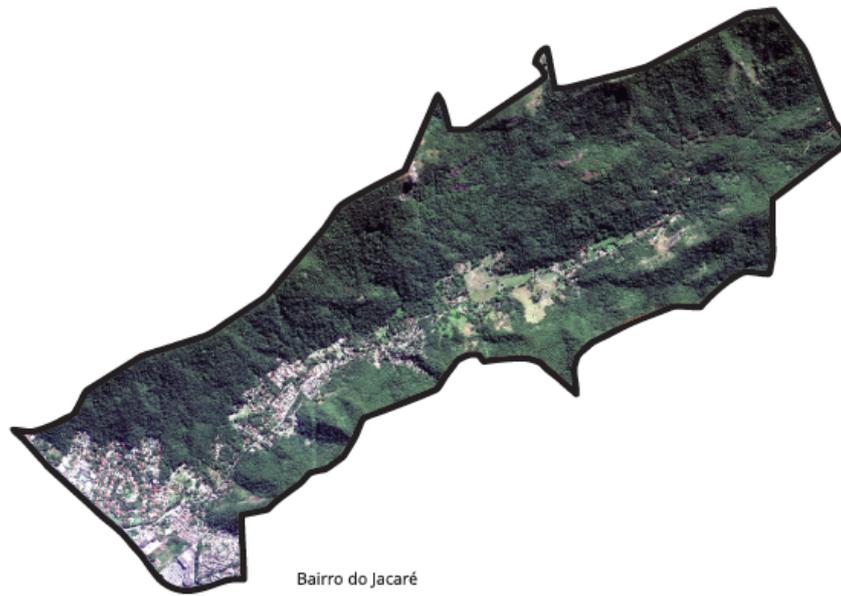
O bairro do Jacaré tem como limites os bairros de Piratininga, Cafubá, Cantagalo, Vila Progresso, Muriqui, Rio do Ouro, Serra Grande e Santo Antônio ¹⁸. Está localizado no Município de Niterói, com coordenadas 22°53'00" de latitude Sul e 43°06'13" de longitude Oeste, a 5 metros de altitude, e sua vegetação constituída de Mata Atlântica ¹⁹. A partir da década de 1960, a área passou a ser ocupada por posseiros oriundos de diversos locais. Está localizado na Reserva Ecológica Darcy Ribeiro, possuindo características rurais e presença de alguns sítios, além de um recente aumento de aglomerados subnormais. A ocupação espacial se desenvolveu em torno da principal via do bairro, onde predomina a população de baixa renda ²⁰. Segundo o *Censo Demográfico* de 2010, o Jacaré possui uma área de 9,45km² e uma população de 3.563 habitantes ¹⁹.

Coleta de dados

Foram realizadas visitas domiciliares pela equipe de campo, em todas as residências, com base no caso índice, até atingir a amostra de 110 cães.

Figura 1

Imagem de satélite WorldView 2 do bairro do Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.



Após o esclarecimento dos objetivos do estudo e assinatura do termo de consentimento, foi preenchido o questionário com informações dos cães, como sexo, faixa etária e convivência com outros animais, e dos domicílios (se estava localizado em área rural ou urbana), assim como a ocorrência anterior de caso humano ou canino de LV na residência.

Em seguida, os cães foram contidos mecanicamente e amordaçados para a coleta de sangue para realização do teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (*dual path platform* – DPP) e ensaio imunoenzimático (EIE), ambos produzidos pelo Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos (Bio-Manguinhos) na Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). O DPP foi realizado em campo com sangue total. O sangue foi acondicionado em tubos sem anticoagulante e transportado sob refrigeração até o setor de Imunodiagnóstico do Laboratório de Pesquisa e Serviço em Saúde Pública da Escola Nacional de Saúde Pública Sergio Arouca (ENSP/Fiocruz), onde foi obtido o soro para a realização do EIE com o *kit* EIE, de acordo com as recomendações do fabricante.

Os cães sororretores ao DPP foram sedados para obtenção de amostras de pele íntegra da região escapular e aspirado de medula óssea, seguindo protocolo de Abrantes et al.¹⁵. As amostras de pele foram acondicionadas em solução salina tamponada com fosfato (PBS), acrescido de antibióticos (penicilina e estreptomicina) e antifúngico (fluorocitosina), e as amostras de medula óssea foram armazenadas direto no meio de cultura bifásico Novy, MacNeal, Nicole (NNN), ambas transportadas sob refrigeração, sendo enviadas e processadas no Laboratório de Pesquisa Clínica e Vigilância em Leishmanioses (LapClinVigiLeish), no Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI/Fiocruz) para a realização da cultura parasitológica, de acordo com Silva et al.²¹. A caracterização dos isolados por meio de isoenzimas foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Cupolillo et al.²².

O diagnóstico de infecção por *L. infantum* foi estabelecido pelo isolamento do parasito em cultura ou pela concordância positiva do DPP e EIE.

Geoprocessamento

A geocodificação dos endereços das residências dos cães foi feita por intermédio do sistema de posicionamento global (GPS). Os dados do receptor de sinal GPS foram configurados para fornecer as posições com coordenadas planas na projeção do Sistema Universal Transversa de Mercator (UTM) e *Datum* World Geodetic System (WGS) 84. Mapas de pontos foram elaborados utilizando o software livre TerraView 4.2.2, disponível no *site* do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE; <http://www.dpi.inpe.br/terraview>).

Para a realização do sensoriamento remoto no bairro do Jacaré, foi utilizada uma imagem do satélite sensor WorldView 2 do ano de 2010, sensor com alta resolução espacial. Foi utilizada a malha de vias do bairro do Jacaré, para melhor definição do contexto urbano, adquirida na página da Internet do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE).

Ao redor dos casos foi aplicado um *buffer* de 100 metros divididos em quadrículas de células de 25x25 (625 metros quadrados de área). A classificação da imagem, realizada apenas nas células com cães, intencionou extrair as seguintes características referentes à cobertura do solo: piscina (água), cobertura cinza escura (caracterizando áreas comerciais e também áreas com telha de amianto cinza, indicando áreas urbanizadas ocupadas por população vulnerável à pobreza), telhado de cerâmica (vermelho), telhado metálico e vegetação (densa ou esparsa). As classes de vegetação foram discriminadas por meio do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (*Normalized Difference Vegetation Index* – NDVI) que permitiu minimizar a confusão espectral decorrente de efeitos de sombreamento¹³.

Para a obtenção das características de cobertura do solo, foi realizada a classificação orientada a objetos, envolvendo cinco etapas: caracterização das classes, segmentação da imagem, elaboração da rede semântica, classificação e avaliação dos resultados¹².

O procedimento da classificação da imagem foi realizado no aplicativo eCognition Developer 64 8.0 (<http://www.ecognition.com/>), que inclui dois passos: segmentação multiresolução e classificação por algoritmos com lógica *fuzzy* e *booleana*.

Após uma interpretação visual de cada imagem para a definição das classes temáticas, a imagem do satélite foi segmentada pelo algoritmo multiresolução, em que se criaram objetos em diferentes escalas, de acordo com critérios de forma, cor e homogeneidade¹¹.

Análise estatística

Por meio de tabulações, foram descritas as seguintes características: prevalência da infecção por *L. infantum*, sexo, idade, proximidade do domicílio com região de mata, grau de confinamento do cão (dentro de casa, acesso ao quintal ou vida livre), convivência com outros animais, especificamente cães, gatos, gambás, micos e ouriço-terrestre e histórico de LVC no domicílio.

Nas análises bivariadas, utilizou-se o teste exato de Fisher para avaliar diferenças na ocorrência da infecção por *L. infantum* de acordo com as características dos cães e dos domicílios.

As variáveis ambientais foram categorizadas com uso do ponto de corte com melhor poder de predição identificado por meio de árvores de classificação da seguinte forma: NDVI mínimo ($\leq -0,85 / > -0,85$); NDVI médio ($\leq 0,63 / > 0,63$); NDVI máximo ($\leq 0,96 / > 0,96$); vegetação densa ($\leq 67,0 / > 67,5$); telhado de cerâmica (%) ($\leq 3,0 / > 3,0$); telhado metálico (%) ($\leq 1,75 / > 1,75$); cobertura cinza (%) ($\leq 5,0 / > 5,0$); vegetação esparsa (%) ($\leq 42,5 / > 42,5$).

Associações entre variáveis ambientais com a ocorrência de infecção canina foram expressas por razões de chances (*odds ratios* – OR) e seus respectivos intervalos de 95% de confiança (IC95%), obtidos por regressão logística simples e ajustada por sexo e idade do cão.

Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/Fiocruz), sob a licença LW-47-12.

Resultados

Foram investigados 49 domicílios nos quais havia relato de terem existido seis cães com LVC e ausência de casos humanos de LV antes do inquérito. Nos 110 cães avaliados no inquérito canino, 97 foram incluídos nas análises, devido à ausência de 13 pontos georreferenciados.

Quanto às características dos 97 cães, 54,1% eram machos, 61,1% tinham entre um e sete anos, 91,3% viviam em região de mata, 60% tinham acesso restrito ao quintal e 90,2% conviviam com outros animais, sendo 82,6% dessa convivência com outros cães.

Foi encontrada prevalência de infecção por *L. infantum* de 21,6%. A frequência de positividade do DPP, do EIE e da cultura parasitológica foi de 26,3%, 30,9% e 16,6%, respectivamente. Dos 21 cães considerados positivos, quatro apresentaram isolamento de *L. infantum* em cultura.

Características do ambiente de criação dos cães foram obtidas com os proprietários de 92 cães. Houve maior frequência de LVC em cães com a convivência com outro cão, gambá, mico e ouriço-terrestre, assim como com a história de remoção de outros cães com LVC do domicílio (Tabela 1).

A Figura 2 mostra o predomínio de vegetação densa e esparsa dentro das unidades de análise (quadrículas).

O percentual de cada classe nas quadrículas foi de 0,01% (piscina), 3,5% (cobertura cinza), 1,1% (telhado de cerâmica), 0,9% (telhado metálico), 69,7% (vegetação densa) e 24,5% (vegetação esparsa).

Cães residentes em áreas com maior cobertura de vegetação esparsa apresentaram prevalência da infecção por *L. infantum* cinco vezes maior do que aqueles que residiam em áreas menos vegetadas (OR = 5,72; IC95%: 1,47-22,20). Por outro lado, áreas mais urbanizadas, caracterizadas como comerciais ou residenciais carentes, identificadas pelo sensoriamento remoto como aquelas com alta densidade de estruturas cinza estiveram associadas à menor ocorrência da LVC (OR = 0,09; IC95%: 0,01-0,92) (Tabela 2).

Discussão

A prevalência de LVC encontrada neste estudo (21,65%) foi semelhante às encontradas no Estado Rio de Janeiro tanto em áreas de recente introdução (25,2% em Itaipuaçu, Maricá; 18,1% Ilha de Marambaia, Rio de Janeiro), como em áreas consideradas endêmicas (25% Barra de Guaratiba, Rio de

Tabela 1

Prevalência de leishmaniose visceral canina (LVC) segundo características do ambiente de criação dos cães. Bairro do Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, 2011-2012.

Características do ambiente de criação dos cães	n	%	Valor de p
Localização do domicílio			
Rural	8	25,0	1,000
Mata	84	22,6	
Mobilidade do cão			
Dentro de casa	7	14,2	0,734
Acesso ao quintal	54	22,2	
Acesso à rua	29	27,5	
Convive com outros animais			
Não	9	0,0	0,112
Sim	83	25,3	
Convive com cães			
Não	16	0,0	0,018
Sim	76	27,3	
Convive com gatos			
Não	70	27,1	0,090
Sim	22	9,0	
Convive com gambás			
Não	90	21,1	0,050
Sim	2	100,0	
Convive com micos			
Não	90	21,1	0,050
Sim	2	100,0	
Convive com ouriços			
Não	90	21,1	0,050
Sim	2	100,0	
Cão retirado com LVC			
Não	86	18,6	0,002
Sim	6	83,3	

Janeiro) ^{15,23,24}, embora haja diferença nas metodologias empregadas. Prevalências podem variar em decorrência do teste diagnóstico utilizado e da forma como cães foram recrutados para o estudo ²⁵, mas a similaridade dos resultados em diferentes estudos indica alta endemicidade da LVC em diferentes regiões do Estado do Rio de Janeiro.

A expansão geográfica da LVC vem sendo registrada em vários estados brasileiros, tendo sido atribuída a vários fatores, como dificuldades em eliminar os reservatórios, diversidade epidemiológica das regiões afetadas, altos custos financeiros para sustentação das ações de controle, alta capacidade de adaptação do vetor ao peridomicílio e medidas insuficientes para o seu controle ²⁶.

Em diversas regiões no Estado do Rio de Janeiro, novos casos de LVC vêm sendo relatados ^{17,27,28,29,30}, o que indica uma possível mudança no comportamento da doença, permitindo o surgimento de surtos em áreas urbanas, como já ocorreu em outras cidades brasileiras ³¹. Transformações ambientais associadas aos movimentos migratórios e ao processo de urbanização são possíveis explicações para a urbanização da LV, uma doença originalmente restrita às áreas rurais e que passou a ocorrer de forma endêmica e epidêmica em grandes cidades brasileiras ^{5,32}.

A avaliação entomológica descrita por Oliveira et al. ¹⁶, realizada na mesma área e período deste estudo, não encontrou o principal vetor de transmissão na LVC, o *Lu. longipalpis*. Mesmo considerando as dificuldades inerentes à detecção de vetores das leishmanioses, tal achado sugere que outras espécies encontradas nessa área, como *Lu. migonei*, possam estar envolvidas na transmissão da LVC ^{16,33}.

Figura 2

Distribuição espacial dos casos de leishmaniose visceral canina (LVC) com aplicação de *buffers* no bairro do Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil, entre 2011 e 2012.

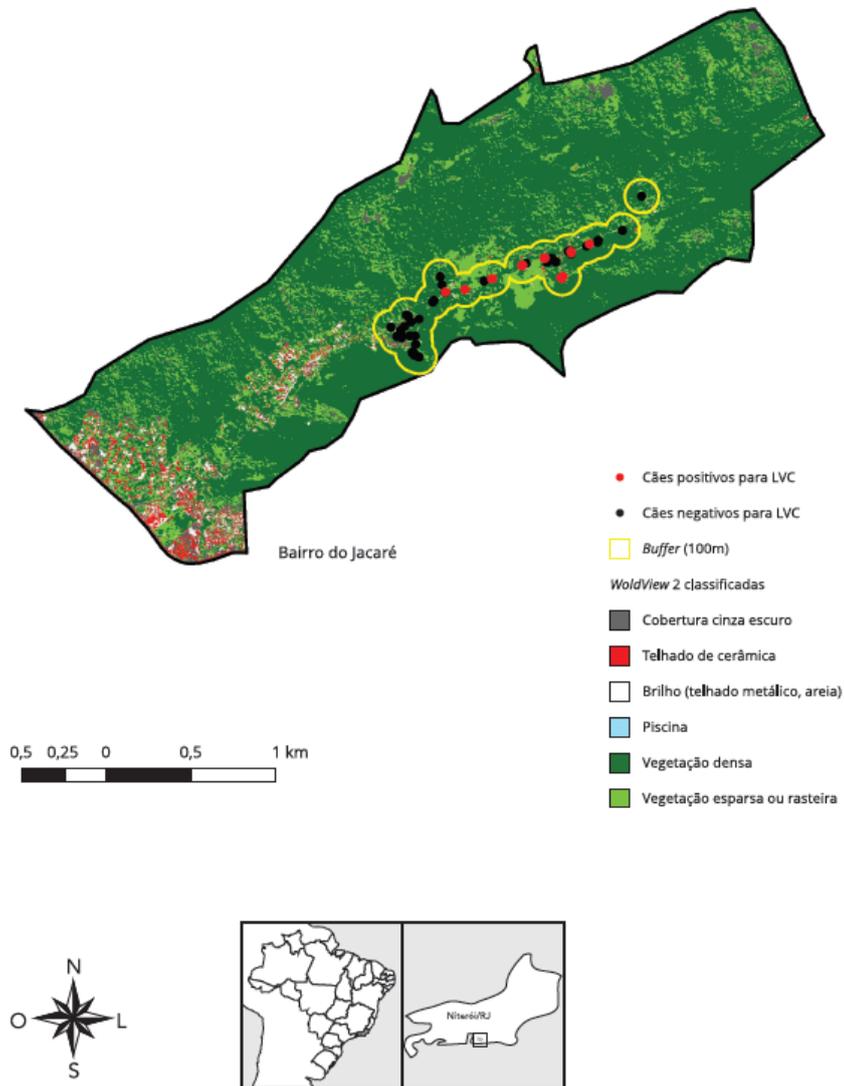


Tabela 2

Razões de chances (*odds ratios* – OR) e intervalos de 95% de confiança (IC95%) para leishmaniose visceral canina associada às características ambientais. Bairro Jacaré, Niterói, Rio de Janeiro, Brasil.

Variáveis ambientais	OR	IC95%	Valor de p	OR *	IC95% *	Valor de p *
NDVI mínimo						
≤ -0,85	1,00	0,50-9,08	0,300	1,00	0,40-8,89	0,421
> -0,85	2,14			1,88		
NDVI médio						
≤ 0,63	1,00	0,12-1,64	0,224	1,00	0,12-2,11	0,352
> 0,63	0,44			0,50		
NDVI máximo						
≤ 0,96	1,00	0,18-2,31	0,517	1,00	0,88-5,98	0,807
> 0,96	0,66			0,84		
Vegetação densa (%)						
≤ 67,5	1,00	0,09-1,77	0,235	1,00	0,13-2,90	0,544
> 67,5	0,41			0,61		
Telhado de cerâmica (%)						
≤ 3,0	1,00	0,04-2,28	0,249	1,00	0,02-2,15	0,194
> 3,0	0,30			0,22		
Telhado de metal (%)						
≤ 1,75	1,00	1,58-108,90	0,017	1,00	0,91-78,9	0,060
> 1,75	13,10			8,48		
Cobertura cinza (%)						
≤ 5,00	1,00	0,01-1,06	0,058	1,00	0,01-0,92	0,042
> 5,00	0,13			0,09		
Vegetação esparsa (%)						
≤ 42,5	1,00	1,77-28,40	0,006	1,00	1,47-22,2	0,012
> 42,5	7,11			5,72		

NDVI: Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (*Normalized Difference Vegetation Index*).

* Ajustado por sexo e idade do cão.

Não houve associação entre ocorrência de infecção por *L. infantum* com sexo, idade e grau de confinamento do cão, corroborando os resultados encontrados em outros estudos ^{24,34,35,36,37}. A proximidade do domicílio com região de mata também não apresentou associação com ocorrência da infecção por *L. infantum*. Entretanto, um estudo realizado em Cuiabá, Mato Grosso, identificou como os principais fatores de risco para infecção canina a permanência em ambiente peridomiciliar e a proximidade das residências com a mata e vegetação densa ³⁶. Talvez o fato possa estar associado à maior exposição ao vetor, aumentando a chance de infecção canina na área. A não identificação do *Lu. longipalpis*, neste estudo pode estar relacionada à diferença desses resultados.

A associação entre a ocorrência da infecção por *L. infantum* com o histórico de LVC no domicílio foi considerado um fator para o aumento de ocorrência da infecção, corroborando com os resultados encontrados em Teresina, Piauí ³⁸. Isso sugere que a retirada e eutanásia dos cães infectados como estratégia de controle é ineficaz para a interrupção da transmissão da leishmaniose em cães, em razão da alta taxa de substituição de cães eliminados por outros cães suscetíveis ³⁹.

A presença de animais domésticos e silvestres foi associada com maior prevalência de infecção. Tal fato sugere que a presença desses animais pode favorecer a manutenção do ciclo de transmissão da infecção canina, pela atração de flebotomíneos, como foi descrito em outros estudos ^{24,38,40}.

Apesar da existência de núcleos de população de baixa renda e aglomerados subnormais na área estudada, foi observado que a distribuição espacial da ocorrência de infecção por *L. infantum* ocorreu

apenas na região rural do bairro, ao longo da rua principal, em casas com melhores estruturas e menos aglomeradas. Esses resultados encontrados vão de encontro com aqueles que verificaram a proximidade da moradia dos cães com áreas favelizadas como fator de risco para a infecção por *Leishmania* 9. Porém, não se pode minimizar a preocupação com a expansão da doença em todo o bairro, já que o ambiente possui condições favoráveis ao desenvolvimento vetorial, sua adaptação e manutenção do ciclo de transmissão da doença. Fatores como temperatura, umidade relativa do ar e precipitação podem influenciar na densidade populacional de flebotomíneos. As mudanças ambientais por causa da ocupação humana desordenada e da invasão em áreas florestais permitem que os vetores se aproximem cada vez mais do peridomicílio e domicílio e ciclos das leishmanioses ocorram nesse ambiente modificado 41,42.

Verificaram-se prevalências de infecção por *L. infantum* mais altas em áreas com maior cobertura por vegetação esparsa. Por outro lado, não houve associação estatisticamente significante da cobertura por vegetação densa com a ocorrência de infecção por *L. infantum*. O fato de não ter sido encontrada associação com a presença ou proximidade com vegetação densa, o que vários estudos com LV humana e canina salientaram 11,43,44, pode decorrer do fato de esse tipo de cobertura do solo estar presente de forma muito abundante, cobrindo no mínimo 40% da área das quadriculas. Portanto, todas as quadriculas estavam sob influência das condições favoráveis à existência do vetor oferecidas pela presença e abundância de vegetação densa. Já para vegetação esparsa, sua frequência foi menor (24,5%), com quadriculas com pequena área coberta por essa classe (10%), e outras áreas com cobertura bem maior (55%), variedade essa que favorece a identificação de associações, quando elas de fato existem.

Por mais que existam muitas incertezas sobre os fatores relacionados aos padrões de ocorrência e disseminação da LV, a utilização de ferramentas como o SIG e o sensoriamento remoto se mostrou útil para identificar características ambientais que podem ser usadas para definir áreas de maior risco para a LVC e, por conseguinte, gerar subsídios para a implementação de estratégias de vigilância e controle da LV humana. A maior prevalência de infecção em cães convivendo com outros animais silvestres e em áreas com maior cobertura vegetal, associada com menor prevalência em áreas urbanizadas, indica um padrão rural de transmissão da LVC nessa área.

Colaboradores

T. R. Abrantes foi responsável pela concepção do estudo, avaliação clínica, coleta de amostra dos cães, interpretação dos resultados e redação do artigo. G. L. Werneck foi responsável pela análise estatística, interpretação dos resultados e revisão do artigo. A. S. Almeida foi responsável pelo processamento de imagens de satélite, interpretação dos resultados e revisão do artigo. F. B. Figueiredo foi responsável pela concepção do estudo e revisão do artigo.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) e pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) – Jovem Cientista do Nosso Estado e Bolsa de doutorado nota 10 da aluna T. R. Abrantes. Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq; processo: 475658/2013-2; Chamada: Universal 14/2013) e pela Bolsa de Produtividade concedida ao pesquisador F. B. Figueiredo.

Referências

- World Health Organization. Control of the leishmaniasis. Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva: World Health Organization; 2010. (WHO Technical Report Series, 949).
- Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One* 2012; 7:e35671.
- World Health Organization. Global Health Observatory data. Leishmaniasis: situation and trends. Geneva: World Health Organization; 2013.
- França-Silva JC, Barata RA, Costa RT, Monteiro EM, Machado-Coelho GL, Vieira EP, et al. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol* 2005; 131:213-20.
- Departamento de Vigilância Epidemiológica, Secretaria de Vigilância em Saúde, Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde; 2006. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
- Werneck GL. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2008; 24:2937-40.
- Rangel EF, Vilela ML. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2008; 24:2948-52.
- Cerbino Neto J, Werneck GL, Costa CHN. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2009; 25:1543-51.
- Werneck GL, Maguire JH. Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. *Cad Saúde Pública* 2002; 18: 633-7.
- Almeida AS, Medronho RA, Werneck GL. Identification of risk areas for visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2011; 84:681-7.
- Almeida AS, Werneck GL, Resendes APC. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. *Cad Saúde Pública* 2014; 30:1639-53.
- Almeida AS, Werneck GL. Prediction of high-risk areas for visceral leishmaniasis using socioeconomic indicators and remote sensing data. *Int J Health Geogr* 2014; 13:13.
- Correia VRM, Carvalho MS, Sabroza PC, Vasconcelos CH. Remote sensing as a tool to survey endemic diseases in Brazil. *Cad Saúde Pública* 2004; 20:891-904.
- Correia VRM, Monteiro AMV, Carvalho MS, Werneck GL. Uma aplicação do sensoriamento remoto para a investigação de endemias urbanas. *Cad Saúde Pública* 2007; 23:1015-28.
- Abrantes TR, Madeira MF, Silva DA, Perié CSFS, Mendes Júnior AAV, Menezes RC, et al. Identification of canine visceral leishmaniasis in a previously unaffected area by conventional diagnostic techniques and cell-block fixation. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2016; 58:3.
- Oliveira AC, Figueiredo FB, Silva VL, Santos FN, Souza MB, Madeira MF, et al. Canine visceral leishmaniasis case investigation in the Jacare region of Niterói, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2015; 57:325-32.
- Silva DA, Madeira MF, Figueiredo FB. Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2015; 57:435-8.
- Secretaria Municipal de Urbanismo e Mobilidade, Prefeitura Municipal de Niterói. Regiões e departamento, 2014. http://urbanismo.niteroi.rj.gov.br/wp-content/uploads/2014/09/SMU_MapaBairros_2014.pdf (acessado em 19/Jan/2016).
- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Sistema IBGE de Recuperação Automática (SIDRA), 2010. <http://www.sidra.ibge.gov.br/cd/cd2010rpu.asp?o=6&i=P> (acessado em 19/Jan/2016).
- Secretaria Municipal de Desenvolvimento, Ciência e Tecnologia de Niterói. Niterói: bairros, 2013. <http://culturaniteroi.com.br/blog/?id=344> (acessado em 04/Jan/2016).
- Silva DA, Madeira MF, Teixeira AC, Souza CM, Figueiredo FB. Laboratory tests performed on *Leishmania* seroreactive dogs euthanized by the leishmaniasis control program. *Vet Parasitol* 2011; 179:257-61.
- Cupolillo E, Grimaldi Gjr, Momen H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *Am J Trop Med Hyg* 1994; 50:296-311.
- Carmo LAL, Souza MB, Silva VL, Santos FN, Almeida AB, Barbosa Filho CJL, et al. Serological survey of cases of canine visceral leishmaniasis and evaluation of phlebotomine fauna on Marambaia Island, municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro state, Brazil. *Rev Bras Ciênc Vet* 2014; 21:247-51.

24. Cabrera MAA, Paula AA, Camacho LAB, Marzochi MCA, Xavier SC, Silva AVM, et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2003; 45:79-83.
25. Julião FS, Souza BMPS, Freitas DS, Oliveira LS, Laranjeira DF, Dias-Lima AG, et al. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Pesq Vet Bras* 2007; 27: 319-24.
26. Oliveira CD, Moraes MH, Machado-Coelho GL. Visceral leishmaniasis in large Brazilian cities: challenges for control. *Cad Saúde Pública* 2008; 24:2953-8.
27. Paula CC, Figueiredo FB, Menezes RC, Mouta-Confort E, Bogio A, Madeira MF. Leishmaniose visceral canina em Maricá, Estado do Rio de Janeiro: relato do primeiro caso autóctone. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42:77-8.
28. Campos MP, Silva DA, Madeira MF, Velho Júnior AAM, Figueiredo FB. First autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2013; 22:424-6.
29. Mello CX, Figueiredo FB, Mendes Júnior AAV, Furtado MC, Miranda LFC, Madeira MF. Outbreak of canine visceral leishmaniasis in Barra Mansa, State of Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47:788-90.
30. Sangenis LHC, Lima SRA, Mello CX, Cardoso DT, Mello JN, Espírito Santo MCC, et al. Expansion of visceral leishmaniasis in the State of Rio de Janeiro, Brazil: report of the first autochthonous case in the municipality of Volta Redonda and the difficulty of diagnosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 2014; 56:271-4.
31. Figueiredo FB, Lima Júnior FEF, Tomio JE, Indá FMC, Corrêa GLB, Madeira MF. Leishmaniose visceral canina: dois casos autóctones no município de Florianópolis, estado de Santa Catarina. *Acta Sci Vet (Impr.)* 2012; 40:1026.
32. Werneck GL, Costa CHN, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. The urban spread of visceral leishmaniasis: clues from spatial analysis. *Epidemiology* 2002; 13:364-7.
33. Souza MB, Marzochi MCA, Carvalho RW, Ribeiro PC, Pontes CS, Caetano JM, et al. Ausência da *Lutzomyia longipalpis* em algumas áreas de ocorrência de leishmaniose visceral no Município do Rio de Janeiro. *Cad Saúde Pública* 2003; 19:1881-5.
34. Moreira Jr ED, Souza VMM, Sreenivasan M, Lopes NL, Barreto RB, Carvalho LP. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2003; 69:393-7.
35. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Bras Epidemiol* 2008; 8:338-49.
36. Almeida ABPF, Faria RP, Pimentel MF, Dahroug MA, Turbino NC, Sousa VR. Inquérito soropidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 42:156-9.
37. Oliveira LC, Araujo RR, Alves CR, Mouta-Confort E, Lopez JA, Mendonça-Lima FW. Seroprevalence and risk factors for canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Dias D'Ávila, State of Bahia, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2010; 43:400-4.
38. Silva JP, Werneck GL, Macedo EC, Carvalho H, Pires e Cruz MS. Fatores associados à infecção por *Leishmania chagasi* em cães domiciliados de Teresina, Estado do Piauí, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45:480-4.
39. Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America – a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis* 2010; 4:e584.
40. Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – a review. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2005; 100:811-27.
41. Lainson R, Shaw JJ. New World leishmaniasis: the neotropical *Leishmania* species. In: Collier L, Balows A, Sussman M, editors. *Microbiology and microbial infections*. 9th Ed. London: Topley & Wilson's; 1998. p. 241-66.
42. Madeira MF, Uchoa CMA, Leal CA, Silva RMM, Duarte R, Magalhães CM, et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis* em cães naturalmente infectados. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36:551-5.
43. Belo VS, Werneck GL, Barbosa DS, Simões TC, Nascimento BW, da Silva ES, et al. Factors associated with visceral leishmaniasis in the Americas: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 25:7:e2182.
44. Belo VS, Struchiner CJ, Werneck GL, Barbosa DS, de Oliveira RB, Teixeira Neto RG, et al. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. *Vet Parasitol* 2013; 195:1-13.

Abstract

The study assessed the association between environmental characteristics obtained by remote sensing and prevalence of canine visceral leishmaniasis (CVL) in the neighborhood of Jacaré, an area with recent introduction of the disease in the municipality (county) of Niterói, Rio de Janeiro State, Brazil. This was a cross-sectional study to assess CVL prevalence, defined as a positive result in the dual path platform (DPP) rapid immunochromatographic assay, confirmed by immunoenzymatic assay (IEA). The study included 97 dogs, with 21.6% CVL prevalence. CVL prevalence was higher in dogs with contact with another dog, opossum, marmoset, or hedgehog, as well as history of culling of other dogs with CVL from the household. In the multivariate analysis, adjusted for the dog's sex and age, dogs in areas with sparse vegetation showed fivefold higher prevalence of *Leishmania infantum* infection compared to dogs in areas with less vegetation (OR = 5.72; 95%CI: 1.47-22.20). Meanwhile, less urbanized areas, characterized as commercial or low-income residential areas, identified by remote sensing as those with high density of gray structures, were associated with lower CVL prevalence (OR = 0.09; 95%CI: 0.01-0.92). The higher prevalence of infection in dogs living alongside wild animals and in areas with more vegetation and lower prevalence in more urbanized areas suggest a rural transmission pattern for CVL in this area.

Visceral Leishmaniasis; Dogs; Remote Sensors

Resumen

Se evaluó la asociación entre las características ambientales obtenidas por teledetección y la prevalencia de la leishmaniasis visceral canina (LVC) en el barrio de Jacaré, área de reciente introducción de la enfermedad, en el municipio de Niterói, Estado de Rio de Janeiro, Brasil. Se trata de un estudio seccional para la evaluación de la prevalencia de LVC, definida mediante la positividad en el test inmunocromatográfico rápido en una plataforma de doble vía (dual path platform – DPP), confirmada con un ensayo inmunoenzimático (EIE). Se incluyeron a 97 perros con una prevalencia de LVC de un 21,6%. Hubo una mayor frecuencia de LVC en perros que conviven con otros perros, zangüeyas, monos y erizos terrestres, así como con el historial de retirada de otros perros con LVC del domicilio. En el análisis multivariado, ajustado por sexo y edad del perro, los perros residentes en áreas con una mayor cobertura de vegetación muy dispersa presentaron una prevalencia de infección por *Leishmania infantum* cinco veces mayor que aquellos que residían en áreas con menos vegetación (OR = 5,72; IC95%: 1,47-22,20). Por otro lado, las áreas más urbanizadas, caracterizadas como comerciales o residenciales con pocos recursos, identificadas mediante teledetección como aquellas con una alta densidad de estructuras en gris, estuvieron asociadas a una menor ocurrencia de la LVC (OR = 0,09; IC95%: 0,01-0,92). La mayor prevalencia de infección en perros, conviviendo con otros animales silvestres y en áreas con una mayor superficie vegetal, se asocia con una menor prevalencia en áreas urbanizadas, lo que indica un padrón rural de transmisión de la LVC en ese área.

Leishmaniasis Visceral; Perros; Sensores Remotos

Recebido em 09/Fev/2017
Versão final reapresentada em 23/Mai/2017
Aprovado em 13/Jun/2017

APÊNDICE B - SEGUNDO ARTIGO

DISTRIBUIÇÃO ESPACIAL E PERFIS DE PREVALÊNCIA DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM ÁREA ENDÊMICA NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO

Tuanne Rotti Abrantes^{1*}; Guilherme Loureiro Werneck²; Andrea de Almeida Sobral³; Artur Augusto V. Mendes Júnior⁴; Adilson Benedito de Almeida⁴; Fabiano Borges Figueiredo^{1;5}

¹Programa de Pós-Graduação, Stricto sensu, em doenças infecciosas do Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-INI, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Endereço: Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ – Brasil. CEP: 21040-900. Telefone: 3865-9555.

²Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. R. São Francisco Xavier, 524 - 7º andar - UERJ - Maracanã, Rio de Janeiro – RJ – Brasil. CEP: 20550-013. Telefone: 2334-0504. E-mail: gwerneck@iesc.ufrj.br. Responsável pela análise estatística, interpretação dos resultados e revisão do artigo.

³Departamento de Endemias Samuel Pessoa, Escola Nacional de Saúde Pública-ENSP, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. R. Leopoldo Bulhões, 1480 - Bonsucesso, Rio de Janeiro – RJ – Brasil. CEP: 21041-210. Telefone: 2598-2683. E-mail: asasobral@gmail.com. Responsável pelo processamento de imagens de satélite, interpretação dos resultados e revisão do artigo.

⁴Laboratório de Pesquisa Clínica em Dermatозoonoses em animais domésticos, Instituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas-INI, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Endereço: Avenida Brasil, 4365 – Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ – Brasil. CEP: 21040-900. Telefone: 3865-9536// 3865-9553. Responsável pela concepção do estudo, avaliação clínica, coleta de amostra dos cães e redação do artigo.

⁵Laboratório de biologia celular, Instituto Carlos Chagas/Fiocruz-PR, Rua Prof. Algacyr Munhoz Mader 3775, Cidade Industrial, Curitiba, PR Brazil. E-mail: fabiano.figueiredo@ini.fiocruz.br. Responsável pela concepção do estudo e revisão do artigo.

*Autor correspondente: Tuanne Rotti Abrantes (Abrantes, T. R.) Telefone: 3865-9536// 3865-9553. E-mail: tuannerotti25@gmail.com. Responsável pela concepção do estudo, avaliação clínica, coleta de amostra dos cães, interpretação dos resultados e redação do artigo.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral; cão; sensoriamento remoto

Resumo

O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição espacial e caracterizar os perfis de prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC), no município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro, Brasil. Foi utilizada uma amostra de 701 cães do inquérito sorológico censitário canino, realizado a partir de casos humanos de leishmaniose visceral (LV), no município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro. A avaliação da prevalência de LVC foi definida por meio da positividade no teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (DPP®), confirmada com o ensaio imunoenzimático (EIE). Houve captura de 12 exemplares de *L. longipalpis* machos, um exemplar de *L. longipalpis* fêmea, cinco exemplares de *L. intermedia* macho, quatro de *L. intermedia* fêmea e um de *L. migonei* fêmea. O padrão da distribuição espacial da infecção canina foi avaliado através do estimador kernel de intensidade. Foi realizado o método da classificação e regressão (Classification and Regression Trees - CART) para a análise dos dados para identificação dos perfis de prevalência. A prevalência de infecção por LVC na nossa amostra foi de 11,5%. Foram identificados 12 perfis de acordo com a prevalência de infecção canina por *L. infantum* e com os perfis ambientais do peridomicílio. Os resultados deste estudo descrevem algumas características ambientais associadas à ocorrência de infecção canina por *L. infantum* em Barra Mansa. A identificação de áreas prioritárias e suas características ambientais, através da categorização dos perfis de risco, tem o objetivo de facilitar a identificação dos padrões ambientais da LVC, otimizando os inquéritos e estudos epidemiológicos neste Município, assim como em outras áreas de ocorrência da LVC.

Introdução

A leishmaniose visceral americana (LVA) é uma zoonose que afeta homens e outras espécies de animais domésticos e silvestres. É endêmica em 65 países, com uma incidência estimada em 400.000 novos casos e 50.000 mortes por ano (WHO, 2013).

No Brasil, a LVA também conhecida como Calazar, é causada por *Leishmania infantum*, o principal vetor é o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* e o cão (*Canis familiaris*) é o reservatório no ambiente doméstico e peridoméstico (França-Silva et al., 2005).

A LVA encontra-se em processo de expansão em várias regiões brasileiras, sendo registrados casos humanos e caninos tanto em áreas rurais como em áreas urbanizadas (Bevilacqua et al., 2001; Gontijo ; Melo, 2004; Ministério da Saúde, 2006).

No Estado do Rio de Janeiro, as áreas endêmicas da LVA concentravam-se em algumas regiões periurbanas da capital (Cabrera et.al., 2003), entretanto nos últimos anos foram notificados casos de LVC em regiões indenes para a doença, tanto município quanto no estado do Rio de Janeiro, demonstrando a expansão da doença para outras regiões do estado (Figueiredo et al., 2010; Campos et al., 2013; Silva et al., 2015).

Entre os anos de 2010 e 2013, nove casos humanos de LV foram diagnosticados em Barra Mansa, quatro deles evoluindo para óbito (Pimentel et al., 2014). Após a notificação dos casos humanos, 141 cães foram detectados como soropositivos para LVC, confirmando o ciclo de transmissão no Município de Barra Mansa (Mello et al., 2014). Tal fato gera preocupação, já que em muitas regiões do país as endemias são precedidas de surtos semelhantes a estes e pouco se conhece em relação aos fatores ambientais envolvidos no aparecimento da LVC nessas áreas.

A utilização de ferramentas de geoprocessamento, como o sensoriamento remoto (SR), para caracterizar o uso e a cobertura do solo pode ser uma ferramenta auxiliar na demarcação e identificação de áreas de alto risco para LV, o que poderia ser útil para informar como e onde as estratégias de intervenção podem ser mais eficientemente implementadas (Werneck, 2010).

Diante deste cenário, o presente estudo tem o objetivo de avaliar a distribuição espacial e caracterizar os perfis de prevalência da leishmaniose visceral canina (LVC), no município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro, Brasil.

Materiais e métodos

Local e desenho do estudo

Foi realizado um inquérito canino para LVC, a partir dos casos humanos para LV, município de Barra Mansa, estado do Rio de Janeiro, Brasil, entre os anos 2012 e 2013.

A área de estudo envolve alguns bairros do município de Barra Mansa, sendo eles Ano Bom, Nove de Abril, Santa Izabel, Santa Rosa, Verbo Divino, Nossa Senhora de Fátima, Vila Orlandélia, Jardim América, Piteiras e Vila Independência. Barra Mansa está localizada no Sudeste do Brasil, no Sul Fluminense do estado do Rio de Janeiro entre as Serras do Mar e da Mantiqueira. Faz fronteira com os municípios de Volta Redonda, Piraí, Barra do Piraí, Valença, Rio Claro, Porto Real, Quatis, Resende e com o estado de São Paulo. Fica a 110 km do Rio de Janeiro (RJ), 300 km de São Paulo (SP). Segundo o Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), a população estimada em 2016 é de 180.126 pessoas em uma área de aproximadamente 547,20 km² (IBGE, 2016). Suas coordenadas geográficas são 22°32'399"S e 44°10'17"O, e está situada numa altitude de 381 metros e seu ponto culminante encontra-se a 1.305m na Serra do Rio Bonito. O clima é mesotérmico, com verões quentes e chuvosos e inverno seco. A umidade relativa do ar é de 77% e a temperatura média mínima anual é de 16°C e a média é de 28°C. O período de chuvas está entre os meses de novembro e março, com pluviosidade de 1.380 mm/ano (IBGE, 2016).

Foi realizado o inquérito sorológico censitário canino pela Secretaria Estadual de Barra Mansa para investigar casos de LVC nas áreas com ocorrência de casos humanos de LV, como preconizado pelo Ministério da Saúde (Brasil, 2006).

Foi utilizada uma amostra de conveniência com 701 cães. Foi realizada busca ativa dos cães durante o inquérito canino, e os critérios de inclusão no projeto foram os cães que possuíam os resultados sorológicos e o georreferenciamento.

Diagnóstico laboratorial

Os cães foram contidos mecanicamente e amordaçados para a coleta de sangue para realização do teste imunocromatográfico rápido em dupla plataforma (Dual Path Platform) (DPP®) e ensaio imunoenzimático (EIE), ambos produzidos por Biomanguinhos® na Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ).

O DPP® foi realizado a campo com sangue total. O sangue foi acondicionado em tubos sem anticoagulante e transportado sob refrigeração até o Laboratório Central Noel

Nutels (LACEN- RJ), onde foi obtido o soro para a realização do EIE através do kit EIE, de acordo com as recomendações do fabricante.

Após os resultados sorológicos, os cães com diagnóstico positivo nas duas técnicas sorológicas foram retirados das residências pelos profissionais da secretaria estadual de Barra Mansa, após autorização dos seus proprietários e enviados ao Laboratório de pesquisa clínica em Dermatozoonoses em animais domésticos (Lapclin-Dermzoo)- Instituto Nacional de infectologia/Fiocruz para realização da eutanásia e coleta de amostras para diagnóstico parasitológico, como preconiza o ministério da saúde (Brasil, 2006).

Após a sedação, foi realizado o aspirado de medula óssa da região esternal, e após a eutanásia, biópsia de pele íntegra da região escapular, seguindo o protocolo de Abrantes e colaboradores (2016). Após as coletas, as amostras foram armazenadas e processadas no Laboratório de Pesquisa Clínica em Leishmanioses (LapClinVigiLeish) no Instituto Nacional de Infectologia (INI)/FIOCRUZ-RJ para a realização da cultura parasitológica, de acordo com Silva et al. (2011). A caracterização dos isolados por meio de isoenzimas foi realizada de acordo com o protocolo descrito por Cupolillo e colaboradores (1994).

O diagnóstico parasitológico positivo foi estabelecido pelo isolamento em cultura do parasito *L. infantum* em pelo menos uma das amostras coletadas.

Armadilhas

Foi realizado um estudo entomológico para verificar a presença de flebotomíneos na estudada, assim como o inquérito canino, ao redor dos casos humanos. Foram utilizadas armadilhas luminosas de capturas do tipo CDC (Dinesh et al., 2008), instaladas no peridomicílio da residência de alguns animais incluídos no estudo, após a coleta das amostras. As armadilhas foram colocadas a um metro do solo, em locais com características de maior chance de captura de flebotomíneos, como galinheiros e bananeiras. As mesmas foram instaladas às 18h e recolhidas na manhã seguinte às 8h, totalizando 14 horas de captura (Souza et al., 2014). Os flebotomíneos adultos foram colhidos vivos e transferidos para recipientes de plástico rotulados e identificados de acordo com os pontos de coleta. Após o transporte ao o laboratório, as flebotomíneos adultos foram mortos por congelamento em um freezer a -20 ° C, e submetidos à identificação taxonômica ao nível da espécie, de acordo com Galati (2003).

Geoprocessamento

A geocodificação dos endereços das residências dos cães que participaram desse estudo e de sete casos humanos notificados pela Secretaria de Saúde de Barra Mansa, foi feita por meio do sistema de posicionamento global (GPS). Os dados do receptor de sinal GPS foram configurados para fornecer as posições com coordenadas planas na projeção do Sistema Universal Transversa de Mercator (UTM) e Datum World Geodetic System (WGS) 84. Mapas de pontos foram elaborados utilizando o software livre TerraView 4.2.2, disponível no site do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais (INPE).

Para a realização do SR em uma área do município de Barra Mansa, foi utilizada um recorte da imagem do satélite sensor WorldView 2 do ano de 2011, sensor com alta resolução espacial. Foi utilizada a malha de vias do município de Barra Mansa, para melhor definição do contexto urbano, adquirida através da Secretaria de Planejamento de Barra Mansa.

Ao redor dos casos foi aplicado um buffer de 300 metros divididos em quadrículas de células de 25x25 (625 metros quadrados de área). A classificação da imagem, realizada apenas nas células com cães, teve como objetivo extrair as seguintes características referentes à cobertura do solo: piscina, água, asfalto, sombra, telhado cinza (caracterizando áreas comerciais e também áreas com telha de amianto cinza, indicando áreas urbanizadas ocupadas por população vulnerável à pobreza), telhado de cerâmica (vermelho), telhado metálico. As classes de vegetação foram discriminadas por meio do Índice de Vegetação por Diferença Normalizada (Normalized Difference Vegetation Index – NDVI) em baixo (vegetação esparsa) (0,1–0,4), médio (vegetação intermediária) (0,4-0,7) e alto (vegetação densa) (0,7≤1), permitindo minimizar a confusão espectral decorrente de efeitos de sombreamento (Correia et al. 2004) (Figura 1).

Para a obtenção das características de cobertura do solo, foi realizada a classificação orientada a objetos envolvendo cinco etapas: caracterização das classes, segmentação da imagem, elaboração da rede semântica, classificação e avaliação dos resultados (Almeida & Werneck, 2014).

O procedimento da classificação da imagem foi realizado no aplicativo eCognition Developer 64 8.0, que inclui dois passos: segmentação multiresolução e classificação por algoritmos com lógica fuzzy e booleana.

Após uma interpretação visual de cada imagem para a definição das classes temáticas, a imagem do satélite foi segmentada através do algoritmo multiresolução, onde se criou objetos em diferentes escalas, de acordo com critérios de forma, cor e homogeneidade (Almeida et al., 2014).

Análise estatística

O padrão de distribuição espacial da infecção canina em Barra Mansa foi avaliado através do Estimador kernel de intensidade (Gatrell et al., 1996).

A análise dos dados para identificação dos perfis de prevalência foi realizada pelo método da classificação e regressão (Classification and Regression Trees - CART) que pode ser entendida como uma regra para prever uma variável dependente por meio dos valores de suas variáveis preditoras, bem como uma forma de identificar perfis de risco. Nesta técnica, a amostra é subdividida por divisão binária com o objetivo de delimitar subgrupos mais homogêneos quanto à prevalência de LVC. A técnica CART é um procedimento de simples aplicação que possibilita a detecção de interações entre variáveis e produz resultados facilmente interpretáveis, além de ser uma alternativa a outros métodos estatísticos de regressão e classificação (Taconeli, 2009). Neste estudo, a árvore foi construída com a restrição de que cada perfil (nó) deve ter pelo menos 20 observações (cães) antes da divisão, e os "nós" terminais devem ter pelo menos 10 observações. Para diminuir o problema do excesso de ajuste da árvore com um baixo erro de classificação, mas muito dependente dos dados do estudo, usamos um método de validação cruzada em que os dados foram divididos em dez subconjuntos para obter uma árvore ideal. As análises estatísticas foram feitas usando programas de software Stata 9.0 (STATA Corp., College Station, TX) e o R.

Aspectos éticos

Este trabalho fez uso de dados secundários, obtidos através de inquérito sorológico e contidos em banco de dados oriundo da Secretaria de Saúde de Barra Mansa, não havendo a necessidade de autorização do Comitê de Ética.

Para a realização de coleta de amostras e eutanásia dos cães sororretores, foi submetido um projeto à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- FIOCRUZ), sendo aprovado, sob a licença LW-54/13.

Resultados

Foram avaliados 315 domicílios, sendo incluídos 701 cães, onde 108 cães foram positivos no DPP e 81 confirmaram o diagnóstico com o EIE.

Não foi realizada a análise descritiva quanto ao sexo, faixa etária e tipo de ambiente que os cães estavam restritos em Barra Mansa, devido aos dados insuficientes.

Dos 81 cães sororretores nas duas técnicas sorológicas, 11 evoluíram para óbito, 68 cães foram recolhidos pelos profissionais da secretaria estadual de Barra Mansa para realização da eutanásia e coleta das amostras para exames parasitológicos no Lapclin-Dermzoo/FIOCRUZ e dois não foram recolhidos.

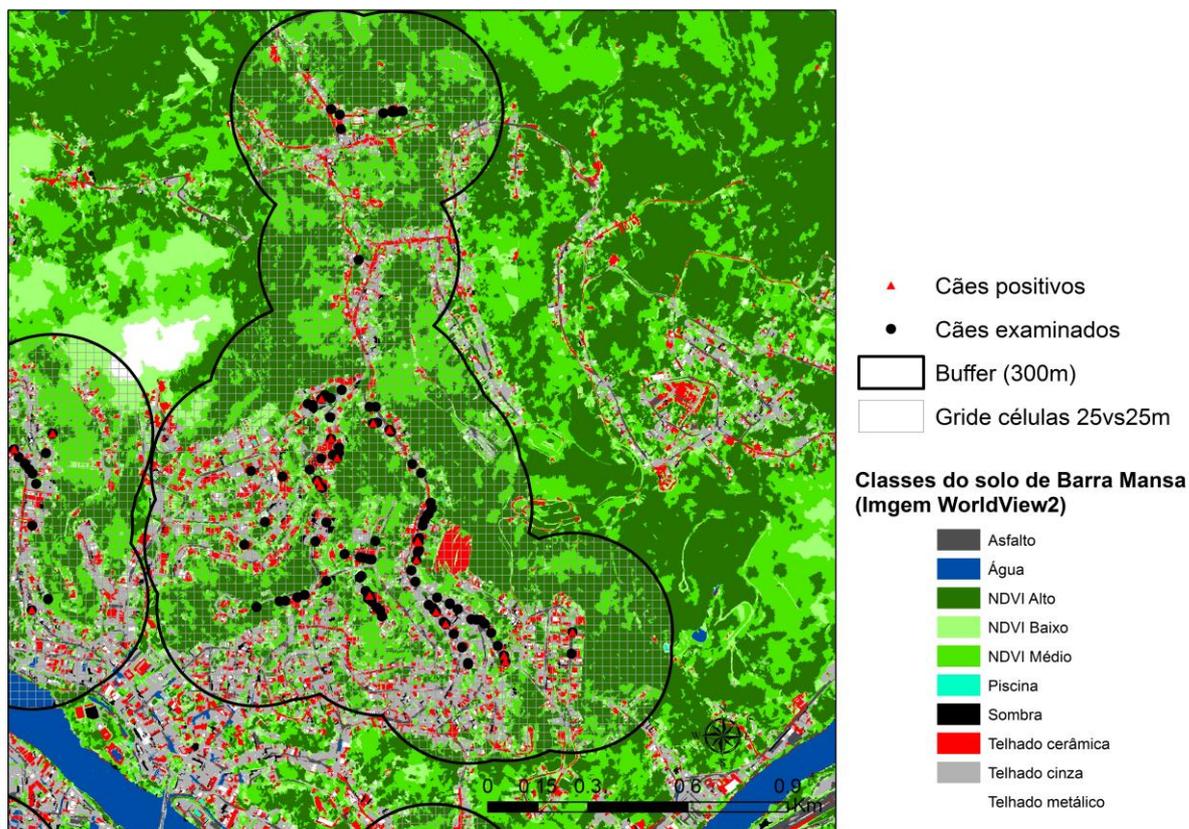
Sessenta e seis cães tiveram isolamento de *L. infantum* e dois foram considerados negativos nos exames parasitológicos.

Foi encontrada uma soroprevalência de 11,5% de LVC nesse estudo, através da triagem positiva do DPP e confirmação com EIE.

Durante o período do estudo, foram colocadas 15 armadilhas em diferentes pontos, porém houve captura em apenas três, sendo encontrados 12 exemplares de *L. longipalpis* machos, um exemplar de *L. longipalpis* fêmea, cinco exemplares de *L. intermedia* macho, quatro de *L. intermedia* fêmea e um de *L. migonei* fêmea.

A figura 1 sugere que na área ao redor do buffer há predomínio de vegetação, representada pelo NDVI baixo, médio e alto e na área classificada (dentro do buffer), podemos observar uma área mais urbanizada.

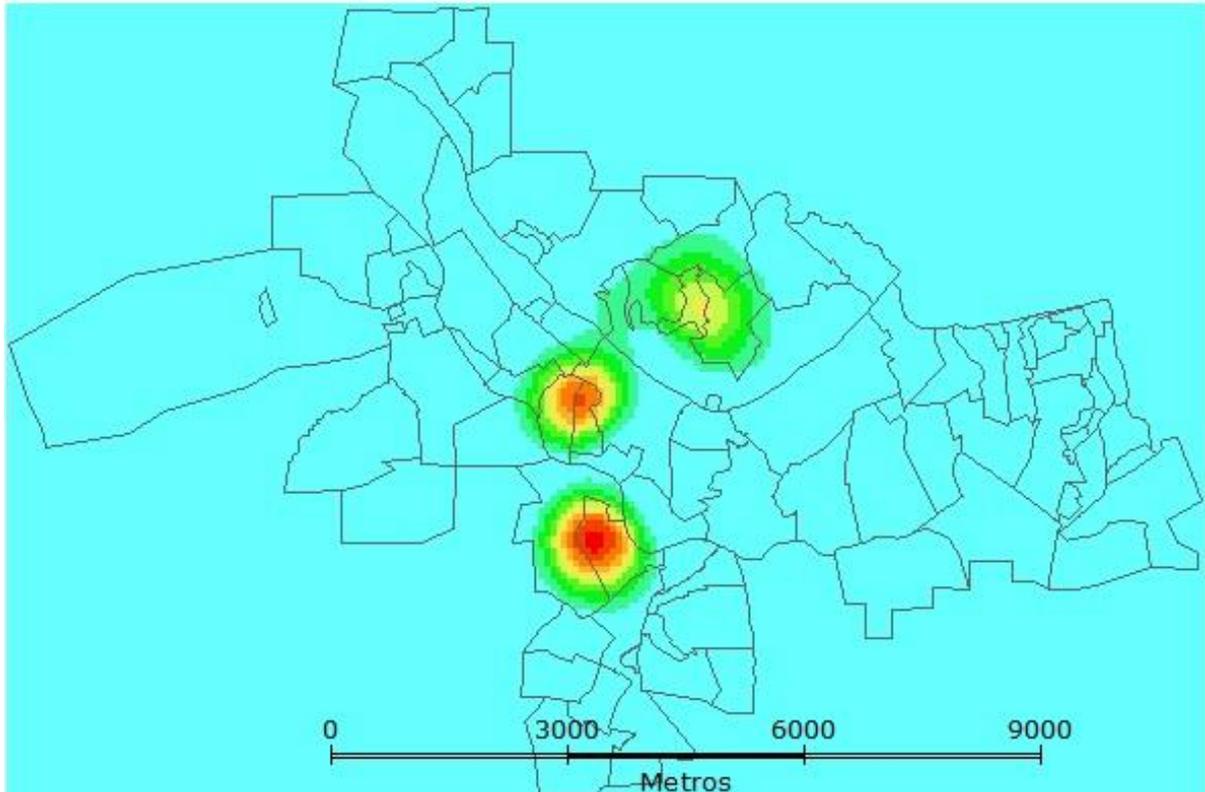
Figura 1. Georreferenciamento de cães positivos e negativos para LVC e classificação da imagem nas áreas com buffers ao redor dos casos, derivados do processamento da imagem WorldView 2 de 2011. Município de Barra Mansa, Rio de Janeiro.



O percentual de cada classe foi avaliado apenas nas quadrículas, sendo encontrados os seguintes percentuais: 0,16% piscina, 0,0009% água, 3,72% asfalto, 2,58% sombra, 34,87% telhado cinza, 17,0% telhado de cerâmica, 3,3% telhado metálico, 15,72% NDVI baixo, 12,41% NDVI médio e 10,24% NDVI alto.

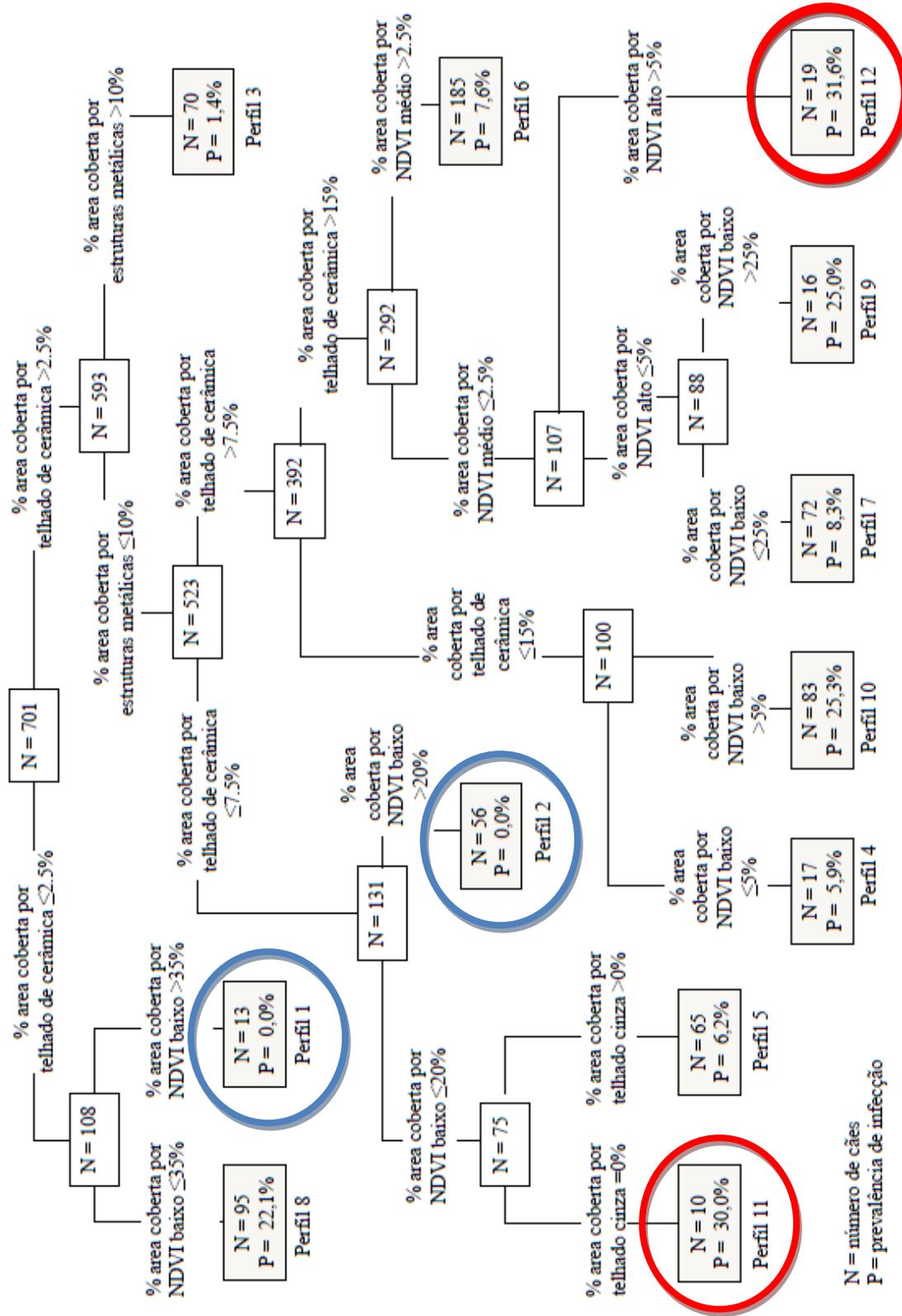
Foram identificadas duas áreas com maior intensidade de transmissão de infecção por *L. infantum*, através do estimador de intensidade kernel. A primeira inclui os bairros Jardim América e Vila Independência e a segunda inclui os bairros Cotiara e Verbo Divino (Figura 2).

Figura 2. Estimador de intensidade *kernel* de cães positivos para LVC, no Município de Barra Mansa, Rio de Janeiro, 2013.



Foram identificados 12 perfis de risco, de acordo com a prevalência de infecção canina por *L. infantum* e com os perfis ambientais do peridomicílio, através da técnica de CART. Cada perfil possui o número de cães (N) e a sua prevalência (P) (Figura 3). O % área coberta por telhado de cerâmica >2.5% foi considerado a variável preditora e o % área coberta por estruturas metálicas >10% variável dependente.

Figura 3 – Modelo de árvore de classificação para a prevalência de infecção por *L. infantum* em cães, Barra Mansa, Rio de Janeiro, Brasil



Os 701 cães avaliados no estudo estão distribuídos em 315 domicílios. Os 12 perfis encontrados foram categorizados em 3 sub conjuntos, de acordo com as prevalências encontradas.

O sub conjunto 1, que inclui os perfis 1, 2 e 3, apresentou menor importância epidemiológica, devido às baixas prevalências, seguido do sub conjunto 2 (perfis 4, 5, 6 e 7), que já possui importância epidemiológica, cujas prevalências variam de 5,9 a 8,3%.

Através da categorização, o sub conjunto 3 foi identificado como área prioritária devido aos maiores percentuais de prevalência, compreendido pelos perfis 8, 9, 10, 11 e 12. Dos 81 cães positivos, 55 (62,5%) encontram-se nesse sub conjunto, distribuídos entre 124 domicílios. O mesmo possui características ambientais semelhantes como % área coberta por telhado de cerâmica $\leq 2.5\%$ $> 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ e algum % de NDVI (Tabela 1).

Tabela 1 – Prevalência de infecção canina por *L. infantum* de acordo com perfis ambientais do peridomicílio, Barra Mansa, Rio de Janeiro, Brasil, 2012.

Perfil	Characteristics	Total de cães (N)	Cães positivos (N)	Prevalência (%)	Total de domicílios (N)
1	% área coberta por telhado de cerâmica $\leq 2,5\%$ + % área coberta por NDVI baixo $> 35\%$	13	0	0,0	7
2	% área coberta por telhado de cerâmica $> 2,5\%$ e $\leq 7,5\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI baixo $> 20\%$	56	0	0,0	18
3	% área coberta por telhado de cerâmica $> 2,5\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $> 10\%$	70	1	1,4	37
4	% área coberta por telhado de cerâmica $> 7,5\%$ e $\leq 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI baixo $\leq 5\%$	17	1	5,9	10
5	% área coberta por telhado de cerâmica $> 2,5\%$ e $\leq 7,5\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI baixo $\leq 10\%$ + % área coberta por telhado cinza $= 0\%$	65	4	6,2	32
6	% área coberta por telhado de cerâmica $> 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI médio $> 2,5\%$	185	14	7,6	86
7	% área coberta por telhado de cerâmica $> 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI médio $\leq 2,5\%$ + % área coberta por NDVI alto $\leq 5\%$ + % área coberta por NDVI baixo $\leq 25\%$	72	6	8,3	37
8	% área coberta por telhado de cerâmica $\leq 2,5\%$ + % área coberta por NDVI baixo $\leq 5\%$	95	21	22,1	49
9	% área coberta por telhado de cerâmica $> 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI médio $\leq 2,5\%$ + % área coberta por NDVI alto $\leq 5\%$ + % área coberta por NDVI baixo $> 25\%$	16	4	25,0	10
10	% área coberta por telhado de cerâmica $> 7,5\%$ e $\leq 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI baixo $> 5\%$	83	21	25,3	50
11	% área coberta por telhado de cerâmica $> 2,5\%$ e $\leq 7,5\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI baixo $\leq 10\%$ + % área coberta por telhado cinza $= 0\%$	10	3	30,0	5
12	% área coberta por telhado de cerâmica $> 15\%$ + % área coberta por estruturas metálicas $\leq 10\%$ + % área coberta por NDVI médio $\leq 2,5\%$ + % área coberta por NDVI alto $> 5\%$	19	6	31,6	10
Toda a área		701	81	11,6	315



Discussão

A prevalência de LVC encontrada no presente estudo foi 11,5%. Em áreas endêmicas, a soroprevalência para LVC tende a ser mais baixa quando comparada às áreas de recente introdução da doença (Oliveira et al., 2015; Carmo et al., 2014). Diante do cenário epidemiológico, esse aumento de soroprevalência pode estar associado às alterações ambientais, facilitando a expansão da LVC em ambiente urbano, como vem ocorrendo em Belo Horizonte e em outros municípios brasileiros (Diniz et al., 2008; Luz et al., 2001; Borges et al., 2014).

Embora os casos humanos de LV em Barra Mansa tenham sido notificados antes da identificação de casos caninos, Mello e colaboradores (2014) sugerem que a ocorrência de LVC já vinha acontecendo e se espalhando pelo o município de Barra Mansa, porém de forma silenciosa, já que em seu estudo 60% dos cães se apresentavam sem sinais clínicos, dificultando a sua identificação. Essa hipótese de que a infecção canina já vinha ocorrendo, corrobora com outros estudos que afirmam que a infecção canina tem precedido a ocorrência de casos humanos de LV (Oliveira et al., 2001; Figueiredo et al., 2008).

Apesar do inquérito entomológico ter apresentado baixa densidade de flebotomíneos, foi confirmada a presença de *Lutzomyia longipalpis* na área de estudo. Entretanto, a identificação do *L. longipalpis* não exclui a possibilidade de que outras espécies de flebotomíneos, como *L. migonei* encontrado na área, também estejam envolvidas na transmissão da LV em Barra Mansa (Salómon et al., 2010).

Através do percentual de cada classe obtido das quadrículas, observamos um maior percentual relacionado aos fatores que caracterizam a área antropizada (telhados metálico, de cerâmica e cinza) no nosso estudo comparado aos relacionados à vegetação (NDVI baixo, médio e alto), sugerindo que a ocorrência de casos se deu principalmente em área urbana, corroborando com estudos de Luz e colaboradores (2011) que descrevem a ocorrência da LV em área urbana na região metropolitana de Belo Horizonte, e Lopes e colaboradores (2011), que descreveram a distribuição espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte-MG.

Em relação à formação dos perfis, o perfil 12 foi o que apresentou maior prevalência (P=31,6%). Através desse perfil, podemos observar que para haver o aumento da prevalência de infecção por *L. infantum*, houve a associação de características ambientais representadas por alto percentual de área coberta por telhado de cerâmica (>15%) e baixo percentual de cobertura por estruturas metálicas ($\leq 10\%$) relacionadas ao domicílio e através das características do peridomicílio representadas por NDVI médio ($\leq 2.5\%$) e NDVI alto >5%.

Desta forma, este perfil descreve a ocorrência de infecção em área urbana sem características de favelização associada à presença de vegetação esparsa a vegetação densa no peridomicílio. Essa proximidade do domicílio com vegetação mais densa pode favorecer a transmissão de *L. infantum* por propiciar melhores condições para a manutenção tanto de populações de flebotomíneos como de reservatórios (Almeida et al., 2014).

Toda área de ocorrência de LV possui um padrão de distribuição e fatores que favorecem o risco de infecção por *L. infantum*. A utilização de ferramentas de georreferenciamento auxilia na visualização dessas áreas com maior risco de transmissão e permite a otimização de recursos humanos (Camargo-Neves et al., 2001).

Apesar das ações de vigilância e controle epidemiológico da LV sejam trabalhadas de forma global no sentido de controlar a endemicidade da doença no perímetro urbano, deve-se atender situações epidemiológicas específicas e distintas de alguns bairros onde se encontram os maiores números de casos, os quais estão dispersos pela cidade. Os sistemas de informação geográfica permitem a análise espacial da distribuição de casos de uma doença juntamente com dados populacionais e ambientais (Barcellos & Sabroza, 2000), o motivando a sua utilização neste estudo.

Os resultados deste estudo descrevem algumas características ambientais associadas à ocorrência de infecção canina por *L. infantum* em Barra Mansa. A identificação de áreas prioritárias e suas características ambientais, através da categorização dos perfis de risco, tem o objetivo de facilitar a identificação dos padrões ambientais da LVC, otimizando os inquéritos e estudos epidemiológicos neste Município, assim como em outras áreas de ocorrência da LVC.

A maior prevalência de infecção por *L. infantum* em cães em Barra Mansa ocorreu em áreas com maior percentual de telhado de cerâmica e estruturas metálicas, e com alguma cobertura vegetal, indicando um padrão de transmissão da LVC mais urbanizado. A identificação dessas características ambientais associadas à prevalência de LVC em um centro urbano, pode vir a orientar futuras medidas de controle e prevenção desta doença reemergente.

Agradecimentos

Este estudo foi apoiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) - Jovem Cientista do Nosso Estado, and Project PAEF/IOC- Code IOC-008-FIO-15. Fabiano Borges Figueiredo recebeu bolsa de produtividade do CNPq. Conselho Nacional de

Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) (Processo: 475658/2013-2; Chamada: Universal 14/2013) e pela Fundação de Apoio à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ).

Referências bibliográficas

Abrantes TR, Madeira MF, Silva DA, Perié CSFS, Mendes Júnior AAV, Menezes RC et al. Identification of canine visceral leishmaniasis in a previously unaffected area by conventional diagnostic techniques and cell-block fixation. [periódico na Internet]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2016. [Acesso em 14 jan. 2017] 58. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-9946201658003>.

Almeida AS, Werneck GL, Resendes, APC. Classificação orientada a objeto de imagens de sensoriamento remoto em estudos epidemiológicos sobre leishmaniose visceral em área urbana. Cad Saude Publica. 2014; 30(8):1639-53.

Almeida AS, Werneck GL. Prediction of high-risk areas for visceral leishmaniasis using socioeconomic indicators and remote sensing data. [periódico na Internet] Int J Health Geogr. 2014. [Acesso em 14 fev. 2017] 13. Disponível em: <http://www.ij-healthgeographics.com/content/13/1/13>.

Almeida AS, Medronho RA, Werneck GL. Identification of risk areas for visceral leishmaniasis in Teresina, Piaui State, Brazil. Am J Trop Med Hyg. 2011;84:681–7.

Barcellos C, Sabroza PC. Socio-environmental determinants of the leptospirosis outbreak of 1996 in western Rio de Janeiro: A geographic approach. [periódico na Internet]. Int J Environ Health Res. 2000. [Acesso em 3 mar. 2017] 10: 301-13. Disponível em: https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/542/2/BARCELLOS_Socio-environmental_2000.pdf.

Belo VS, Struchiner CJ, Werneck GL, Barbosa DS, de Oliveira RB, Neto RG, da Silva ES. A systematic review and meta-analysis of the factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs in Brazil. [periódico na Internet]. Vet Parasitol. 2013. [Acesso em 2 mar. 2017] 195:1-13. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.010>.

Bevilacqua PD, Paixão HH, Modena CM, Castro MCPS. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. [periódico na Internet]. Arq Brasil Med Vet Zootec. 2001. [Acesso em 3 mar. 2017] 53. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S0102-09352001000100001>

Borges LFNM, Lopes EGP, Freitas ACP, Silva MX, Haddad JPA, Silva JÁ, et al. Prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral em cães do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. *Ciencia Rural*. 2014; 44(2):352-7.

Cabrera MAA, Paula AA, Camacho LAB, Marzochi MCA, Xavier SC, Silva AVM, Jansen AM. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: Assessment of risk factors. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2003;45(2):79-83.

Camargo-neves VLFD, Katz G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage LC, Spinola RMF, et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cad. Saude Publica*.2001;17(5):1263-7.

Campos MP, Silva DA, Madeira MF, Velho AAJ, Figueiredo FB. First autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in Volta Redonda, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2013;22:424-6.

Carmo LAL, Souza MB, Silva VL, Santos FN, Almeida AB, Filho CJLB, Pontes CSP, Figueiredo FB. Serological survey of cases of canine visceral leishmaniasis and evaluation of phlebotomine fauna on Marambaia Island, municipality of Mangaratiba, Rio de Janeiro state, Brazil. [periódico na Internet]. *Rev Bras Ciencia Vet*. 2014. [Acesso em 27 fev 2017] 21: 247-51. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4322/rbcv.2015.304>.

Correia VRM, Carvalho MS, Sabroza PC, Vasconcelos CH. Remote sensing as a tool to survey endemic diseases in Brazil. *Cad Saude Publica*. 2004;20:891-904.

Cupolillo E, Grimaldi G Jr, Momen H. A general classification of New World *Leishmania* using numerical zymotaxonomy. *Am J Trop Med Hyg*.1994;50:296-311.

Dinesh DS, Das P, Picado A, Davies A, Speybroeck N, Boelaert M, et al. The efficacy of indoor CDC light traps for collecting the sandfly *Phlebotomus argentipes*, vector of *Leishmania donovani*. *Med Vet Entomol*. 2008;22(2):120–3.

Diniz SA, Silva FL, Carvalho Neta AV, Bueno R, Guerra RMSNC, Abreu-Silva AL, et al. Animal reservoirs for visceral leishmaniasis in densely populated urban areas. [periódico na Internet]. *J Infect Dev Ctries*. 2008. [Acesso em 1 mar. 2017] 2:24-33. Disponível em: <http://jidc.org/index.php/journal/article/view/19736384/178>.

Figueiredo FB, Gremiao ID, Pereira SA, Fedulo LP, Menezes RC, Balthazar DA, et al. First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* in Brazil. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2008;102(2):200-1.

Figueiredo FB, Barbosa Filho CJ, Schubach EY, Pereira SA, Nascimento LD, Madeira MF. Report on an autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in the southern zone of the municipality of Rio de Janeiro. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43:98-9.

Franca-Silva JC, Barata RA, Costa RT, Monteiro EM, Machado-Coelho GL, Vieira EP, et al. Importance of *Lutzomyia longipalpis* in the dynamics of transmission of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Porteirinha Municipality, Minas Gerais, Brazil. *Vet Parasitol*. 2005;131(3-4):213-20.

Galati, EAB. Classificação de Phlebotominae. In: Rangel EF, Lainson R, editores. *Flebotomíneos do Brasil*. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2003.p. 23-51.

Gatrell AC, Bailey TC, Diggle PJ, Rowlingson BS, 1996. Spatial point patten analysis and its application in geographical epidemiology. *Trans Inst Br Geogr*. 1996;21:256-74.

Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev Brasil de Epi* 2004;7(3):338-49.

IBGE [homepage na internet]. Cidades- Barra Mansa. {Acesso em 28 dez 2016}. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br/xtras/home.php?lang=>.

Lopes EGP, Magalhães DF, Silva JA, Haddad JPA, Moreira EC. Distribuição temporal e espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte-MG, 1993 a 2007. *Arq Bras Med Vet Zootec.* 2010;62(5):1062-1071.

Luz ZMP, Pimenta DN, Cabral ALLV, Fiúza VOP, Rabello A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolatividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. [periódico na Internet]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001 [Acesso em 20 fev. 2017] 34:249-54. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0037-86822001000300004.

Mello CX, Figueiredo FB, Júnior AAVM, Furtado MC, Miranda LFC, Madeira MF. Outbreak of canine visceral leishmaniasis in Barra Mansa, State of Rio de Janeiro. [periódico na Internet]. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014 [Acesso em 20 fev. 2017] 47(6):788-790. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0042-2014>.

Ministério da Saúde (Brasil). Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. 1.ed.Brasília: Ministério da Saúde; 2006.

Oliveira CL, Assunção RM, Reis IA, Proietti FA. Spacial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, 1994-1997. *Cad. Saude Publica.* 2001;7:1231-9.

Oliveira, AC, Figueiredo, FB, Silva VL, Santos FN, Souza MB, Madeira MF, et al. Canine visceral leishmaniasis case investigation in the Jacare region of Niteroi, Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2015;57(4):325-32.

Pimentel MIF, Alves ELM, Silva MHFF, Moza PG, Almeida PMP, Cunha CS, et al. High visceral leishmaniasis mortality rate in Barra Mansa, a new area of visceral leishmaniasis transmission in the State of Rio de Janeiro, Brazil. 2014. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2014;47(4):521-3.

Salomón OD, Quintana MG, Bezzi G, Morán ML, Betbeder E, Valdez DV. *Lutzomyia migonei* as putative vector of visceral leishmaniasis in La Banda, Argentina. *Acta Trop.* 2010;113:84-7.

Silva DA, Madeira MF, Figueiredo FB. Geographical expansion of canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro State, Brazil. *Rev. Inst. Med. Trop. Sao Paulo*. 2015;57(5):435-8.

Silva DA, Madeira MF, Teixeira AC, Souza CM, Figueiredo FB. Laboratory tests performed on *Leishmania* seroreactive dogs euthanized by the leishmaniasis control program. *Vet Parasitol*. 2011;179(1-3):257-61.

Souza TL, Figueiredo FB, Almeida AB, Benigno CV, Pontes CS, Souza MB. Natural breeding sites of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) on Marambaia Island, Rio de Janeiro State, Brazil. *Acta Trop*. 2014;136:104-7.

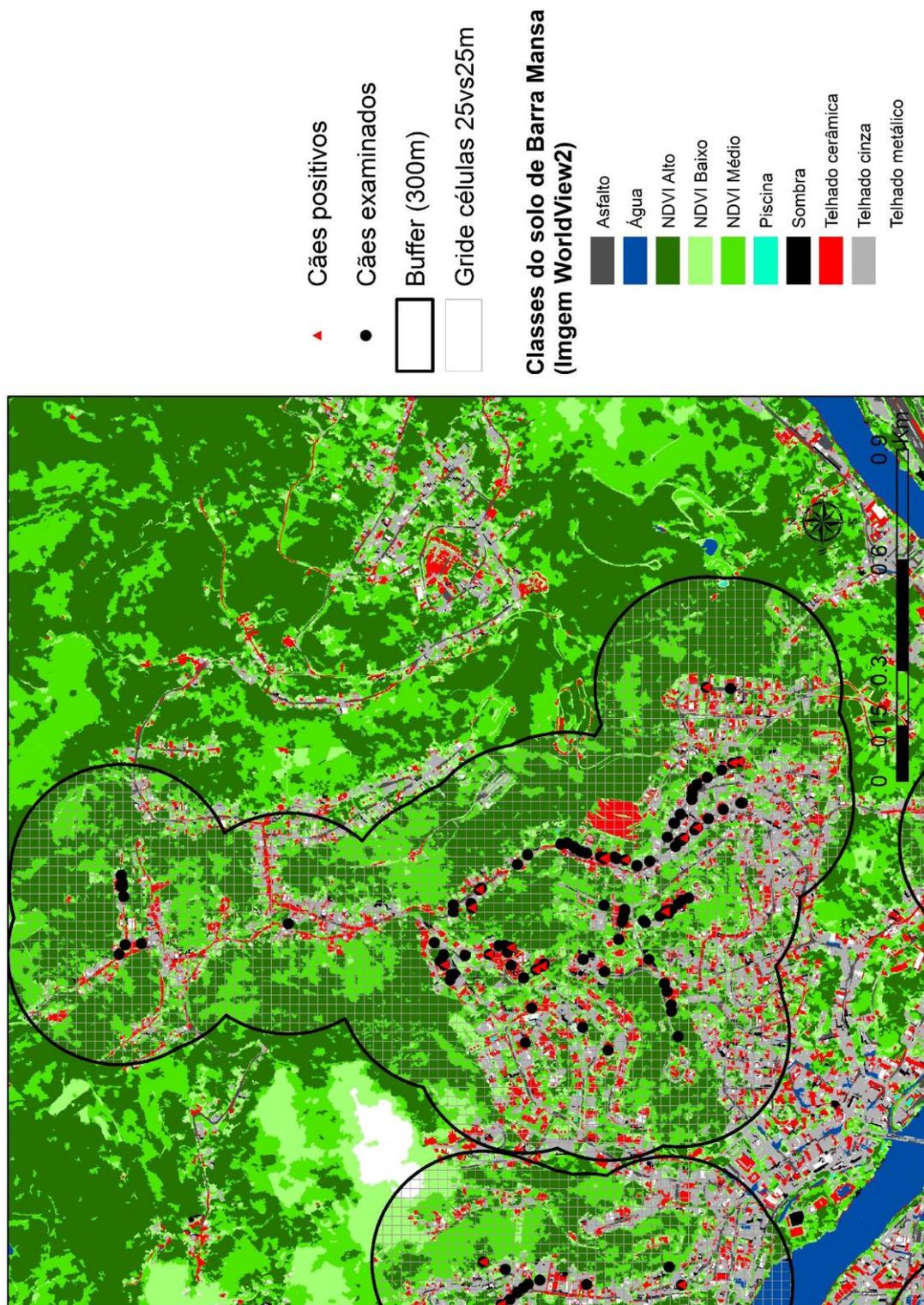
Taconeli CA, Zocchi SS, Dias CTS. Extensões do algoritmo de árvores de classificação para a análise de dados categorizados multivariados utilizando coeficientes de dissimilaridade e entropia. *Rev Bras de Biometria*. 2009;27(1):93-114.

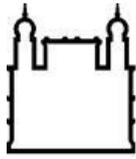
Teles APS; Herrera HM, Ayres FM, Brazuna JCM, Abreu UGP. Fatores de risco associados à ocorrência da Leishmaniose Visceral na área urbana do município de Campo Grande/MS. *Hygeia*.2015;11(21):35-48.

Werneck GL. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad Saude Publica* 2010; 26:644-5.

WHO [homepage na Internet]. Global Health Observatory (GHO) data 2013. Leishmaniasis. Situation and trends. [acesso em 27 fev 2017]. Disponível em: http://www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/.

APÊNDICE C – GEORREFERENCIAMENTO DE CÃES POSITIVOS E NEGATIVOS PARA LVC E CLASSIFICAÇÃO DA IMAGEM NAS ÁREAS COM BUFFERS AO REDOR DOS CASOS, DERIVADOS DO PROCESSAMENTO DA IMAGEM WORLDVIEW 2 DE 2011. MUNICÍPIO DE BARRA MANSA, RIO DE JANEIRO.





Ministério da Saúde

FIOCRUZ
Fundação Oswaldo Cruz



FUNDAÇÃO OSWALDO CRUZ
INSTITUTO NACIONAL DE INFECTOLOGIA EVANDRO
CHAGAS
DOUTORADO EM PESQUISA CLÍNICA EM DOENÇAS
INFECCIOSAS

TUANNE ROTTI ABRANTES

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA
REEMERGENTE NO ESTADO DO RIO DE JANEIRO**

Rio de Janeiro

2018