

INQUÉRITO AMOSTRAL DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO
DE CAMPOS NOVOS PAULISTA/SP-2018

SAMPLING SURVEY OF VISCERAL CANINE LEISHMANIASIS IN THE
MUNICIPALITY OF CAMPOS NOVOS PAULISTA/SP-2018

Fabiano Cardoso da SILVA¹, Mariana Vieira ANGELI², Rodrigo Simões CERQUEIRA²,
Luiz Otávio Rodrigues RIBEIRO², Marcelo Pelozzo HAYASHI³, Danilo Pacheco LIMA¹,
Patrícia de Fátima Florêncio HENSCHERL⁴, Fábio Fernando Ribeiro MANHOSO⁵

¹ Médico Veterinário Aprimorando em Clínica Médica de Pequenos Animais pela
Universidade de Marília-SP

² Discente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Marília-SP

³ Médico Veterinário Aprimorando em Clínica Cirúrgica de Pequenos Animais pela
Universidade de Marília-SP

⁴ Assistente Técnico de Pesquisa Científica e Tecnológica III do Instituto Adolfo Lutz de
Marília-SP

⁵ Docente do Curso de Medicina Veterinária da Universidade de Marília

Resumo

A leishmaniose é uma doença parasitária e infecciosa, sendo a *Leishmania chagasi infantum* as formas mais prevalentes no Brasil. Sua transmissão ocorre através da picada do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* fazendo com que os cães se tornem os principais reservatórios em áreas urbanas. Os sinais clínicos nestes animais podem se manifestar de várias formas, com destaque para descamações e alopecias generalizadas, erosões na pele, onicogribose, esplenomegalia, linfadenomegalia e desordens sistêmicas como vômito, diarreia, apatia, anorexia e emagrecimento. Visando o diagnóstico, existem algumas provas diretas e indiretas como exames sorológicos, parasitológicos e moleculares. Uma medida preconizada pela Organização Mundial da Saúde é a realização de inquéritos caninos, principalmente em áreas endêmicas ou com recentes casos autóctones. Baseado no exposto realizou-se um inquérito epidemiológico com 100 cães no Município de Campos Novos Paulista/SP, utilizando-se inicialmente do teste imunocromatográfico TR DPP®, Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos™, visando certificar a ocorrência da doença no Município e, em caso de positividade, a confirmação sorológica com o método ELISA

indireto. Buscando uma homogeneidade nas amostras, o Município foi dividido em quatro quadrantes, sendo assim colhidas 25 amostras em cada. Os animais foram escolhidos de forma aleatória dentro de cada quadrante, sendo coletado da veia cefálica 3 ml de sangue. As amostras foram encaminhadas ao Instituto Adolf Lutz em Marília/SP, onde foram submetidas aos testes diagnósticos. Das amostras, 4% apresentaram-se soro reagente ao teste rápido, sendo que destas, 50% foram positivas, na prova sorológica *ELISA* indireta, confirmando assim o diagnóstico para Leishmaniose Visceral.

Palavras- chave: Cães. Campos Novos Paulista. Leishmaniose canina visceral. Zoonose.

Abstract

Leishmaniasis is a parasitic and infectious disease, being a *Leishmania chagasi* infantum as the most prevalent forms in Brazil. Abstract: The capture method through the phlebotomy *Lutzomyia longipalpis* causes dogs to become the main reservoirs in urban areas. Signs on animals may manifest in a variety of ways, including desquamation and generalized alopecia, erosions on the skin, onychogriphosis, splenomegaly, lymphadenomegaly and systemic disorders such as vomiting, diarrhea, apathy, anorexia and weight loss. Aiming at the diagnosis there is some direct and indirect evidence such as a serological, parasitological and molecular examination. One measure advocated by the World Health Organization is a canine survey, especially in endemic areas in large indigenous cases. This study is epidemiological with 100 canines in the Municipality of Campos Novos Paulista/SP, using the -the-test immunocromatografic TR-DPP-Visceral Leishmaniasis Caninaating certifying the progression of a disease in the municipality, in case of positivity, serological with the indirect *ELISA* method. Looking for a homogeneity in the samples, the Municipality was divided in four quadrants, being thus collected 25 samples in each. The animals were randomly distributed within each quadrant, and 3 ml blood was collected from the cephalic vein. The samples were submitted to the Adolf Lutz Institute in Marília/SP, where they were submitted to the diagnostic tests. Of the samples, 4% are reagents to the rapid test, and these, 50% were positive, in the indirect *ELISA* serological test, thus confirming the diagnosis for Visceral Leishmaniasis.

Keywords: Dogs. Campos Novos Paulista. Visceral canine leishmaniasis. Zoonosis.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença parasitária e infecciosa causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que se multiplicam no interior de macrófagos e células dendríticas (CLEARE et al, 2014; STEINDEL et al, 2013). A *leishmania chagasi infantum* são as apresentações mais prevalentes no Brasil, e levam ao desenvolvimento da forma visceral, tanto em humanos como em cães (CASTRO et al, 2018; ALMEIDA, MENDONÇA & SOUSA, 2010). A transmissão da doença ocorre através da picada de fêmeas de insetos dípteros *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* principalmente ao entardecer (DUARTE & BADARÓ, 2015; BRILHANTE et al, 2018; TOSCANO et al, 2013). Tendo no ciclo biológico parasita, as formas promastigotas e amastigotas (BRASIL, 2014). A primeira forma apresenta um aspecto flagelado, presente no trato digestório do vetor, considerada a forma infectante, pois são inoculadas no indivíduo quando ocorre o repasso sanguíneo (JERICÓ; ANDRADE NETO; KOGIKA, 2015). Já as formas amastigotas estão presentes nos tecidos e macrófagos dos indivíduos humanos e nos reservatórios caninos (LANGONI, 2016).

Nos cães, as formas promastigotas dos parasitas, se disseminam por via hematogênica atingindo órgãos do sistema mononuclear fagocitário, como baço, fígado, linfonodos e medula óssea (DUARTE & BADARÓ, 2015). A apresentação clínica pode variar, destacando as formas assintomáticas, oligossintomáticas e sintomáticas da doença, dependendo da interação com o sistema imune de cada indivíduo (SALES et al, 2017). Já os sinais clínicos também são variados, sendo eles na forma cutânea com descamações, nódulos, hiperqueratoses, crostas e erosões (CLEARE et al, 2014; ASSIS et al, 2010). Ou então sistêmicos, como, vômitos, diarreias, apatia, anorexia e emagrecimento (LANGONI, 2016; CLEARE et al, 2014).

Para o diagnóstico, existem provas diretas e indiretas que se baseiam em exames sorológicos, parasitológicos e moleculares (SANTIS et al, 2013). Alguns dos testes utilizados são os de imunocromatografia, também chamados de testes rápidos; e os sorológicos, como por exemplo, o *ELISA* “*Enzyme-Linked Immunoabsorbent Assay*”, recomendado pelo Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral (CASTRO et al, 2018), também aplicados nesse trabalho.

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença grave, que vem apresentando preocupação por parte da saúde pública, devido ao seu crescimento significativo nos últimos anos (SALES et al, 2017). Só na América Latina, cerca de 96% dos casos estão concentrados

no Brasil (OMS, 2018). Uma medida preconizada pela Organização Mundial de Saúde é a realização de inquéritos caninos, principalmente em áreas endêmicas ou com detecção recente de casos autóctones, visando maior controle da doença (CASTRO et al, 2018; ALMEIDA et al, 2009). A região Nordeste do País, por exemplo, representada pelos Estados do Piauí, Maranhão, Bahia, Ceará e Rio Grande do Norte, apresentam o maior índice dos casos de LV (SALES et al, 2017). Sendo que atualmente, a doença está presente em mais de 19 Estados da Confederação Brasileira (LANGONI, 2016; PACHECO et al, 2013).

Alguns estudos e inquéritos foram elaborados para demonstrar a situação da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no País, como por exemplo, um estudo descritivo e observacional realizado pelo Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) no Estado de Alagoas, onde no período de 2007 a 2013, 45.112 animais foram investigados, e desses, 4.466 demonstraram positividade para a doença (ROCHA et al, 2018). Em Fortaleza, capital do Ceará, segundo os dados da Secretaria Municipal de Saúde, 39.626 cães foram reagentes para a doença, no período de 2009 a 2013 (RODRIGUES et al, 2017). Outro estudo, realizado por Sales et al (2017), no período de 2009 a 2012, com amostras provenientes de animais atendidos no Centro de Controle de Zoonose (CCZ) de São Luís/MA, e registros de notificação pela Secretaria de Estado de Saúde (SES), verificou que de 2.259 cães suspeitos 24,96% foram positivos. Silva et al (2016), realizou no ano de 2012, um estudo no Município de Patos, interior do Estado da Paraíba/PB, com o objetivo de estimar a prevalência de cães portadores de LVC, através de amostra sanguínea de 362 animais. Nesse trabalho concluíram que houve incidência de 11,33% cães sororeagentes.

Na região Sudeste do País, a cidade do Rio de Janeiro/RJ apresenta clima e vegetação que favorecem o desenvolvimento do flebotômio *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis*. Dessa forma, foi realizado um estudo ecológico territorial, no período de 2011 a 2014, com 3.799 amostras de sangue de cães, colhidas para análise da LV, pelo teste imunocromatográfico rápido TR-DPP® e *ELISA*, como confirmatório. Os resultados apontaram que apenas 9% foram reagentes, tanto no teste rápido quanto no *ELISA* (CASTRO et al, 2018).

No interior do Estado de São Paulo, no Município de Ilha Solteira, foi realizado um trabalho por Paulan et al (2016), em um assentamento, no presente estudo verificou-se que 28% de 93 animais foram positivos para LVC, submetidos apenas ao método de *ELISA*. Já na cidade de Marília/SP, localizada a 65 km de Campos Novos Paulista, foi feito um levantamento dos arquivos do Departamento de Zoonoses da Secretaria Municipal de Saúde, por Risso et al (2016), onde analisaram 113 cães domiciliados em diferentes regiões da cidade, através do teste rápido DPP Bio-Manguinhos/Fiocruz, observando que 58,41% dos

animais foram positivos, como triagem para LVC, concentrando-se a maioria deles 69,70% na Zona Norte da cidade. Sendo que testes confirmatórios dessas amostras como o *ELISA*, não foram analisados.

Considerando a importância da doença no Brasil e no Estado de São Paulo, e a proximidade do Município em estudo com regiões de transmissão de LV canina e humana, foi realizado um inquérito amostral em Campos Novos Paulista, até então considerado como, Município silencioso (sem confirmação de casos autóctones humanos e caninos) não receptivo (sem presença conhecida do vetor) vulnerável (selecionado pelos valores de distância), segundo o Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, junto ao Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral do Estado de São Paulo, (PVCLVESP), com o objetivo de verificar a presença de cães portadores autóctones e assintomáticos para a doença.

MATERIAIS E MÉTODOS

O Município de Campos Novos Paulista localiza-se no estado de São Paulo a uma latitude 22°36'11" sul e a uma longitude 50°00'09" oeste, estando a uma altitude de 446 metros do nível do mar, com uma população de aproximadamente 4.539 habitantes (IBGE, 2015). Antes de sua aplicação, o referido trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Uso Animal (CEUA) da Universidade de Marília - UNIMAR, sob o protocolo CIAEP-01.0218.2014. O material utilizado foi o soro de 100 cães adultos, ou seja, acima de um ano de idade, independente de sexo ou raça e que apresentavam assintomáticos. Após a coleta, as amostras foram submetidas à realização de teste de triagem imunocromatográfico TR-DPP – Leishmaniose Visceral Canina (Bio-Manguinhos®) e as que obtiveram resultados reagentes na triagem, foram confirmadas pelo método de *ELISA*, recomendado pelo protocolo do Ministério da Saúde (BRASIL, 2006).

Para uma maior homogeneidade, as coletas foram realizadas de forma aleatória. Para isso, o Município foi dividido em quatro quadrantes (Imagem 1), por apresentar arquitetura retangular. Optou-se por essa estratificação, visto que representa uma melhor distribuição das casas nesse formato, sendo que em cada um dos quadrantes três pessoas foram encarregadas da abordagem do tutor, esclarecimento sobre o intuito da pesquisa e coleta do material biológico de 25 cães. A colaboração dos tutores ocorreu de forma voluntária, sendo eles identificados e esclarecidos inicialmente por uma ficha resenha (Anexo A), além disso, todos que concordaram com a coleta de sangue do animal receberam um Termo de Esclarecimento

(Anexo B) preenchido em duas vias, ficando com uma cópia e outra com o Pesquisador responsável.

Imagem 1 - Vista aérea do Município de Campos Novos Paulista dividido em quadrantes.



GOOGLE. Google Earth. Campos Novos Paulista.

Cada grupo recebeu um isopor térmico contendo gelo reutilizável rígido para acondicionar as amostras coletadas, e 25 tubos de tampa amarela com gel separador. A coleta ocorreu em um único dia, sendo todas as amostras encaminhadas a Universidade de Marília - UNIMAR ao final da tarde, para serem submetidas ao procedimento de centrifugação a uma rotação de 4000 rpm (rotação por minuto) durante 5 minutos, para a separação do soro. O sangue foi obtido por venopunção cefálica (Imagem 2), com o auxílio de seringa de 5mL da marca BD™ e agulhas 25x8mm BD™ estéreis, de uso individual. Um total de 3 mL de sangue foi depositado imediatamente em tubo de gel separador. Nas residências onde existiam mais de um animal foi realizado uma escolha aleatória de apenas um deles, para uma maior homogeneidade das amostras. Após a coleta, todas as amostras foram devidamente identificadas com uma etiqueta, contendo informações como o nome do animal, número da amostra, quadrante onde foi coletado, sexo, e idade do animal.

As amostras seguiram ao Centro de Laboratório Regional IV de Marília, do Instituto Adolfo Lutz, localizado na rua Lima e Costa, 1630, bairro Alto Cafezal, Marília-SP, onde

foram submetidas ao teste rápido TR DPP®, Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos™, como teste de triagem. Os animais reagentes, foram submetidos ao teste confirmatório por *ELISA*, do mesmo fabricante.

TESTE DE TRIAGEM:

Para realização do teste rápido, foi coletado 5 µL da amostra a ser testada com uma alça coletora, ou micropipeta. Em seguida, a alça coletora foi posicionada verticalmente na área de aplicação (poço) da plataforma, e adicionados 2 gotas da solução tampão de corrida, após aguardou-se 5 minutos. Passado esse tempo, as linhas azul e verde, da janela desapareceram, marcas do controle de qualidade do teste. Caso isso não ocorra, é necessário descartar a plataforma e repetir o procedimento. Após esse procedimento, aguardou-se 10 minutos para o resultado. As plataformas com resultados não reagentes são indicados por uma linha roxa/rosa na área controle e nenhuma linha na área teste, ou seja, apenas umas das linhas ficarão marcadas. Nos resultados reagentes foi possível observar a presença das duas linhas, tanto a controle (C) como teste (T). Após a detecção das amostras reagentes no teste de triagem, as mesmas seguiram para o método de *ELISA*.

TESTE CONFIRMATÓRIO:

A técnica consiste em diluir (1/100) as amostras de controles e as que serão testadas, utilizando 5 µL dos controles a serem utilizados e das amostras de soro ou plasma dos cães que serão analisadas, em 500 µL de diluente, para formar uma proporção de diluição 1:100. Em seguida, foi distribuído nas placas já sensibilizadas 100 µL dos controles e as amostras já diluídas. Após a distribuição das amostras a placa foi incubada a 37°C por 30 minutos. Em seguida preparou-se a solução tampão, após os 30 minutos correntes lavou-se a placa seis vezes com o tampão de lavagem num volume de 200 µL em cada poço. Após esse procedimento o conjugado foi distribuído 100 µL nos poços, em seguida, incubou-se a placa por 30 minutos, em temperatura de 37°C. Após esse período, distribuiu 100 µL do substrato nos poços, e a placa foi incubada por mais 30 minutos, no escuro. A reação foi bloqueada após os 30 minutos com 50 µL de ácido sulfúrico 2M em todos os poços, e procedeu-se a leitura da mesma em aparelho de espectrofotômetro, num comprimento de onda de 450nm. A análise dos resultados foi comunicada ao tutor, quanto ao estado sorológico do animal para a LV.

RESULTADOS

Foram coletadas 100 amostras de sangue de cães do Município de Campos Novos Paulista, e a prevalência sorológica para LVC nessa região foi de 2%. A população estudada era composta de 100 animais, sendo que desses, inicialmente 4% apresentaram sororagência na etapa de triagem pelo teste rápido TR DPP®, Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos™, sendo três animais no quadrante 2 e um animal no quadrante 3. Após serem submetidas ao *ELISA*, foi observado que 50% desta, ou seja, 2 animais, foram positivos pela técnica sorológica, indicando uma positividade para LVC no município que até então era considerado como silencioso, não receptivo e vulnerável. Os animais confirmados são respectivamente um do quadrante 2, e outro do quadrante 3, ambos autóctones e assintomáticos.

DISCUSSÃO

No Brasil a doença vem se destacando em vários Estados, principalmente nas Regiões Nordeste, Sudeste e Centro-Oeste (OMS, 2018; LANGONI, 2016; PACHECO et al, 2013). No interior do estado de São Paulo Municípios como Araçatuba, Bauru, Marília, Presidente Prudente e São José do Rio Preto apresentam transmissão constante de LV canina e humana, segundo informações do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) (CARDIM et al, 2016).

O Município de Campos Novos Paulista, também localizado no Estado de São Paulo, apresentou uma incidência de 2% de 100 animais avaliados para LVC. Os resultados diferem dos observados por Castro et al (2018) e Silva et al (2016), onde foram apresentados respectivamente uma positividade de 9% de 3.799 animais na capital Rio de Janeiro e 11,33% de 362 cães no Município de Patos, terceira maior cidade do estado da Paraíba, ambos os trabalhos utilizando como triagem o teste rápido TR-DPP®, Leishmaniose Visceral Canina Bio-Manguinhos™ e como confirmatório o método de *ELISA* indireto, mesmos testes utilizados nesse trabalho. Brilhante et al (2018), observaram resultados próximos aos observados anteriormente, sendo 8,69% de 92 animais positivos ao método de *ELISA*, em área de turismo de pesca no Município de Bonito/MS.

Em fortaleza a frequência de animais sororeagentes foi de 10,48% em 84.960 amostras coletadas no ano de 2013, segundo registros da Secretaria Municipal de Saúde, corroborando também com os dados apresentados até então (RODRIGUES et al, 2017).

SALES et al (2017), observou uma positividade maior, sendo 24,96% de 564 animais submetidos ao teste de Imunofluorescência Indireta (RIFI), apresentados pela Secretaria de Estado de Saúde de São Luís/MA no período de 2009 a 2012. Os resultados apresentados por RISSO et al (2016), também mostraram alta incidência para a doença, sendo 58,41% de 113 animais avaliados para LVC na cidade de Marília/SP, no ano de 2012 a 2013, empregando nesse caso, apenas o método diagnóstico rápido TR-DPP®.

Em virtude de um N de 100 animais a soroprevalência para LVC em Campos Novos Paulista foi baixa, se comparado aos estudos anteriores, porém reflete mais próximo ao observado por Almeida et al (2009), onde a frequência de animais positivos foi de 3,41% em 468 cães, em inquérito sorológico cujo método empregado foi a RIFI, na cidade de Cuiabá, capital do Mato Grosso, entre setembro de 2007 a março de 2008. Apesar de resultados semelhantes às técnicas diagnósticas empregadas em ambos os trabalhos foram diferentes.

No presente estudo foi verificado que nenhum dos animais positivos eram sintomáticos. Em contrapartida, Paulan et al (2016), observaram 57% de 93 animais investigados para LVC em um assentamento no Município de Ilha Solteira classificavam-se como oligossintomáticos, ou seja, presença de até 3 sinais clínicos, e polissintomáticos apresentando mais de três sinais clínicos. ALMEIDA; MENDONÇA & SOUSA (2010), observaram em Cuiabá/MT, 50% de cães sintomáticos, 22% oligossintomáticos e 28% assintomáticos de um total de 150 animais. Almeida et al (2009), também verificou a presença de animais assintomáticos em inquérito soroepidemiológico em áreas endêmicas de Cuiabá/MT, sendo 56,25% de 468 investigados. No presente trabalho buscou-se a realização de coleta de material biológico apenas de cães assintomáticos, esse dado pode refletir a diferença apresentada entre os trabalhos citados e o apresentado em Campos Novos Paulista.

Todos os resultados foram repassados à Secretaria de Saúde do Município, para que as autoridades cientifiquem os tutores e quanto à vigilância dos casos, visando às medidas sanitárias pertinentes. Por se tratar de um Município silencioso, as medidas preventivas serão importantes no controle da doença, por exemplo, o uso de coleiras repelentes a base de deltametrina 4%, emprego de vacinas, por exemplo, a Leish-Tec®, limpeza dos quintais, uso de telas nas janelas das residências, repelentes, dentre outros.

CONCLUSÃO

Conclui-se no presente trabalho a existência de cães sororeagentes para LVC no Município de Campos Novos Paulista, sendo necessário que esses animais fiquem sob observação a partir do presente momento, além disso, o estudo serviu como modelo para que futuras iniciativas em relação à doença sejam implementadas no Município, assim como uma maior visibilidade para a questão da saúde animal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, A. B. P. F.; MENDONÇA, A.J.; SOUSA, V. R. F. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.40, n.7, p.1610-1615, 2010.

ALMEIDA, A. B. P. F.; FARIA, R. P.; PIMENTEL, M. F. A.; DAHROUG, M. A. A.; TURBINO, N. C. M. R.; SOUSA, V. R. F. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.42, n.2, p.156-159, 2009.

ASSIS, J.A.; QUEIROZ, N. M. G. P.; SILVEIRA, R. C. V.; NUNES, C. M.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; NORONHA JUNIOR, A. C. F.; NEVES, M. F.; MACHADO, R. Z.; BUZETTI, W. A. S. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para Leishmaniose Visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p. 17-25, 2010.

BRASIL. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília-DF: Ministério da Saúde. p.28-29, 59-60, 2014.

BRILHANTE, A. F.; DORVAL, M. E. C.; GALATI, E. A. B.; CASTRO, V. O. L.; ROCCA, M. E. G.; FACCO, G. G.; SOUZA, C. S. F.; NUNES, V. L. B. Canine visceral leishmaniosis in an area of fishing tourism, Bonito Municipality, Mato Grosso do Sul, Central-West Brazil. **Ciência Rural, Santa Maria**, v.48, n.03, p. 78-86, 2018.

CASTRO, C. O.; VASCONCELOS, T. C. B.; SANTOS, J. P. C.; FIGUEIREDO, F. B. Distribuição geográfica dos casos de leishmaniose visceral canina no município do Rio de Janeiro, RJ, entre os anos de 2011 e 2014. **Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde**, v.14, n.27, p.89-98, 2018.

CARDIM, M. F. M.; GUIRADO, M. M.; DIBO, M. R.; CHIARAVALLI NETO, F. Leishmaniose visceral no estado de São Paulo, Brasil: análise espacial e espaço-temporal. **Revista Saúde Pública**. v.48, n.50, p.123-134, 2016

CLEARE, E.; MASON, J.; GARBOR, M.; IRWIN, P. Remaining vigilant for the exotic: cases of imported canine leishmaniosis in Australia 2000–2011. **Australian Veterinary Journal**, v.92, n.4, p.119-127, 2014.

DUARTE, M. I. S.; BANDARÓ, R. S. In: Veronesi-Focaccia: **Tratado de infectologia**. São Paulo: Atheneu, 5.ed., 2015. p.1859-1887.

IBGE: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística IBGE/2008. Consultado em 03 de Junho de 2018 https://ww2.ibge.gov.br/home/estatistica/economia/pibmunicipios/2004_2008/.

GOOGLE. Google Earth. Pro7.3. 2018. Vista aérea da cidade do Município de Campos Novos Paulista. Disponível em: <https://earth.google.com/web/@-22.6373779,-50.0124965,7662.84942308a,85824.38776804d,35y,0h,0t,0r/data=CloaWBJQCiUweDk0YmZmZGYzMTZkOTewN2Q6MHhkZDVjOTVjYTE0OTk2NjI5Gfcu77szmjbAicU98ffm_0jAKhVDYw1wb3MgTm92b3MgUGF1bG1zdGEYAIBKAI>. Acesso em: 08-12-2018.

JERICÓ, M. M.; ANDRADE NETO, J. P.; KOGIKA, M. M. **Tratado de Medicina Interna de Cães e gatos**. Rio de Janeiro: Rocca, 2015. p.2206-2255.

LANGONI, H. **Doenças infecciosas em animais de produção e companhia**. Rio de Janeiro: Rocca, 2016. p.1013-1023.

OMS. Informe Epidemiológico das Américas. **Organização Pan-Americana da Saúde - OPAS/OMS**. nº 6 - fevereiro, 2018.

STEINDEL, M.; MENIN, A.; EVANGELISTA, T.; STOCO, P. H.; MARLOW, M. A.; FLEITH, R. C.; PILATI, C.; GRISARD, E. C. Surto autóctone de leishmaniose visceral canina no Estado de Santa Catarina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**. v.33, n.4, p.490-496, 2013.

PACHECO, A. D.; LAURENTI, M. D.; LIMA, V. M. F.; TOMOKANE, T. Y.; MARCONDES, M. Infecção por *Leishmania sp.* em cães de Florianópolis, Santa Catarina, SC, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.3, p.220-225, 2013.

PAULAN, S. C.; SILVA, D. T.; LINS, A. G. S.; LIMA, F. L.; TENÓRIO, M. S.; TASCA, K. I.; PANOSSO, A. R.; STARKE-BUZETTI, W. A. O conhecimento sobre leishmaniose visceral: suficiente para controle e prevenção? **Revista Ciência e Extensão**. v.12, n.2, p.47-60, 2016.

RISSO, D. F. A.; MARTINS, R. C.; GARRIDO NETO, L. L.; BRESCIANI, K. D. S.; MANHOSO, F. F. R. Inquérito Amostral da Leishmaniose canina no município de Marília – SP no período de 2012 a 2013 – **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV – SP**, v14, n3, p.52, 2016.

ROCHA, M. A. N.; MATOS-ROCHA, T. J.; RIBEIRO, C. M. B.; ABREU, S. R. O. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in State of Alagoas, Northeast, Brazil– **Brazilian Journal of Biology**, Fevereiro. 2018.

RODRIGUES, A. C. M.; MELO, A. C. F. L.; SILVA JÚNIOR, A. D.; FRANCO, S. O.; RONDON, F. C. M.; BEVILAQUA, C. M. L. Epidemiologia da leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.37, n10, p.1119-1124, 2017.

SALES, D. P.; CHAVES, D. P.; MARTINS, N. S.; SILVA, M. I. S. Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina e Humana no estado do Maranhão, Brasil (2009-2012). **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**, v.24, n.3, p.144-150, 2017.

SANTIS, B.; SANTOS, E. G. B.; SOUZA, C. S. F.; CHAVES, S. A. M. Desempenho do teste rápido imunocromatográfico (TRI) para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina:

comparação com outros métodos sorológicos em cães suspeitos de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.3, p.198-205, 2013.

SILVA, R. B. S.; MENDES, R. S.; SANTANA, V. L.; SOUZA, H. C.; RAMOS, C. P. S.; SOUZA, A. P.; ANDRADE, P. P.; MELO, M. A. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.36, n.7, p.625-629, 2016.

TOSCANO, C. P.; ROSSI, C. N.; RIBEIRO, V. M.; LAURENTI, M. D.; LARSSON, C. E. Caracterização clínica e epidemiológica das leishmanioses em cães no Estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.2, p.121-128, 2013.