

Capítulo 20

PREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA EM MUNICÍPIO NÃO ENDÊMICO DA AMAZÔNIA BRASILEIRA

SIRLEI FRANCK THIES^{1,2,3}
AMÍLCAR SABINO DAMAZO²
EDELBERTO SANTOS DIAS³
DAVID JOSÉ DA SILVA¹
ERIANA SERPA BARRETO¹
LARISSA SLOBODA¹
BRENDA PAZ DEECKEN¹
PAULLYNE AKEMI YAMANAKA MOREIRA¹
BRUNO RAMPAZZO¹
CAMILA QUERINO NEVES¹
ROBERTA VIEIRA DE MORAES BRONZONI¹

1. Laboratório de Imunologia e Biologia Molecular, Hospital Veterinário, Universidade Federal de Mato Grosso *campus* universitário de Sinop, Sinop, MT.
2. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde – Faculdade de Medicina, Universidade Federal de Mato Grosso, Cuiabá, MT.
3. Fundação Oswaldo Cruz, Instituto René Rachou, FIOCRUZ, Minas Gerais.
4. Escritório Regional de Saúde de Sinop, Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso, Mato Grosso.

Palavras-chave:

Leishmaniose visceral canina; Prevalência; Sinop.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma doença que atinge especialmente crianças, idosos e pessoas imunodeficientes, resultando em morte quando não tratada, com letalidade entre 10 a 20% (ALVAR *et al.*, 2012).

O Brasil é o país responsável por 90% dos casos de LV na América Latina (BRASIL, 2022), e a enfermidade pode ser considerada um problema importante na saúde pública do país devido à redução dos anos de vida produtiva do indivíduo acometido, gastos com internação e medicações de uso hospitalar e a possibilidade de óbito (MALTA *et al.*, 2017; MOURA *et al.*, 2007).

Humanos são considerados hospedeiros acidentais da *Leishmania infantum* (sinonímia *Le. chagasi*). O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) é o principal hospedeiro responsável pela manutenção da transmissão em meio urbano (QUINNELL & COURTENAY, 2009), sendo considerado como elo mais importante para a transmissão e disseminação dessa grave doença (FEITOSA *et al.*, 2000; CARVALHO NETA *et al.*, 2007).

A leishmaniose visceral é uma zoonose causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, caracterizada como uma das principais doenças tropicais negligenciadas no mundo (BRASIL, 2022).

A leishmaniose visceral canina (LVC) constitui-se em uma zoonose de extrema relevância em saúde pública, pois, além da doença ser, na maioria dos casos, severa e fatal para o cão, este é ainda o reservatório para os humanos (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2009). Os cães são incriminados como o principal reservatório da doença, considerando preencherem as condições necessárias para tal: altamente susceptíveis à infecção, possuem elevado parasitismo cutâneo e, principalmente, à sua estreita relação com o homem, tanto em

áreas rurais, como urbanas (DANTAS-TORRES & BRANDÃO-FILHO, 2006).

Dados da literatura mostram que os casos de LVC usualmente precedem o aparecimento da doença em humanos, refletindo a importância do monitoramento da infecção canina como um possível marcador de transmissão de LV (PEIXOTO *et al.*, 2015; SOCCOL *et al.*, 2017). Dessa forma, áreas consideradas de baixa transmissão são importantes sentinelas para prevenir a dispersão do protozoário na região e evitar a ocorrência de casos humanos (RODRIGUES *et al.*, 2013).

A complexidade da doença faz com que, ainda hoje, mais de cem anos após sua descoberta, não haja completo consenso científico sobre o seu manejo (BANETH *et al.*, 2008; SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2011).

O diagnóstico preciso da LVC é um dos maiores entraves para o controle desta antropozoonose devido à inespecificidade e variedade de manifestações clínicas observadas durante o curso da doença e pela inexistência de um método diagnóstico único com 100% de sensibilidade e especificidade, tornando necessária a associação de técnicas diagnósticas para a obtenção de um diagnóstico definitivo (MOREIRA *et al.*, 2007).

O diagnóstico sorológico busca anticorpos presentes na corrente sanguínea, através do soro. É possível usar a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) ou ensaio imunoenzimático (ELISA), porém, apresentam o maior número de casos falso positivos devido à possibilidade de ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar americana e doença de Chagas. Pode ocorrer também a baixa detecção de anticorpos, indicando o início da infecção, antes da soroconversão, que possui variação de 94 dias até um ano em cães infectados (BRASIL, 2014; FARIA & ANDRADE, 2012).

O diagnóstico da LVC atualmente instituído pelo Ministério da Saúde para confirmação da

doença, consiste no teste rápido imunocromatográfico *Dual Path Platform* – TR-DPP (Biomanguinhos/ Fiocruz/Brasil), com uma fusão dos antígenos recombinantes rK9, rK26 e rK39, como forma de triagem dos animais suspeitos (FONSECA *et al.*, 2014); seguido da reação de imunoabsorção enzimática (ELISA) (EIE-LVC-Bio-Manguinhos/Fiocruz/Brasil), a qual utiliza antígeno bruto solúveis de *L. major-like*, agente etiológico da leishmaniose tegumentar no Velho Mundo (BRASIL, 2014).

A sensibilidade obtida nas amostras de sangue total, apesar de apresentarem a vantagem de ser uma coleta menos invasiva, mostra-se inferior àquela obtida com outros tecidos (FARIA & ANDRADE, 2012).

Segundo Peixoto *et al.* (2015), ainda há escassez de estudos de prevalência canina na população assintomática.

Considerando a LV como doença de grande importância em saúde pública, grave e que pode levar a óbito quando não tratada, além da dificuldade de diagnóstico e tratamento, este estudo objetivou estimar a prevalência da LVC, utilizando os testes sorológicos preconizados pelo Ministério da Saúde (TR-DPP e Ensaio imunoenzimático ELISA), em cães sorteados de nove bairros do município de Sinop, Mato Grosso, constituindo três ecótopos distintos (bairros com resquícios de floresta, bairros completamente urbanizados e bairros no entorno das reservas de proteção permanente).

MÉTODOS

O presente estudo é observacional, transversal de prevalência. Foi realizado no município de Sinop (**Figura 20.1**), em Mato Grosso, localizado no bioma Amazônico, ao longo da BR-163, distando 500 km da capital Cuiabá, com extensão territorial de 3.942,231 km² e altitude de 384 m acima do nível do mar.

Sinop tem como referências geográficas as coordenadas 11°50'53" sul e longitude 55°38'57" oeste. É a quarta maior cidade do estado, sendo conhecida como a Capital do Nortão. Considerada atualmente polo de referência para o Norte mato-grossense, sua população em 2023 foi estimada em 196.067 habitantes. A cidade de Sinop constituiu-se em um núcleo urbano que polariza economicamente mais de 40 municípios da região Norte do estado, recebendo migrantes de todas as regiões do país.

Figura 20.1 Mapa do estado de Mato Grosso, evidenciando Sinop, município de estudo



As amostras biológicas de sangue total foram obtidas de cães de área urbana (n = 288), em nove bairros, distribuídos em três ecótopos classificados como: Bairros Completamente Urbanizados, Bairros no Entorno de Reservas de Proteção Permanente e Bairros com Resquícios de Floresta em Sinop, Mato Grosso (**Quadro 20.1**), animais com idades variadas, raças, de ambos os sexos e domiciliados.

As coletas foram realizadas no período de 13 a 30 de junho de 2014. Para garantir representatividade da população canina das áreas e evitar vício de seleção, utilizou-se o critério baseado na população humana residente em cada bairro, onde a canina corresponderia a 10% da população humana (Estimativa utilizada pelo Ministério da Saúde), o número de cães vacinados na campanha antirrábica animal (2011 a 2013) e cálculo da amostra aleatória simples com popu-

lação infinita (THRUSFIELD, 2004; THRUSFIELD 2007).

Após exame clínico, o sangue foi colhido por venopunção jugular ou cefálica, 5 mL e

transferido para tubo estéril, com EDTA, posteriormente identificado. O plasma foi obtido por centrifugação, sendo armazenado a -20 °C até o processamento.

Quadro 20.1 Bairros e ecótopos selecionados para o estudo e quantidade de cães amostrados, no município de Sinop, MT, ano de 2014

Bairro	Ecótopos	Número de amostras	Total
Jardim Celeste	Entorno da RPP	29	157
Jardim Imperial	Entorno da RPP	74	
Jardim Primaveras	Entorno da RPP	54	
Setor Res. Norte	Completamente urbanizado	44	94
Habitar Brasil	Completamente urbanizado	7	
Jardim das Nações	Completamente urbanizado	43	
Jardim M. Carolina	Resquícios de floresta	7	37
Santa Rita	Resquícios de floresta	15	
Jardim América	Resquícios de floresta	15	
Total		288	288

Com o mapa de área dos bairros, fornecido pela Coordenação de Vigilância Ambiental do município de Sinop (croqui para Dengue), as amostras de cães foram obtidas da seguinte forma: chegando ao bairro escolhia-se, aleatoriamente, uma residência que contivesse animal cujo proprietário, maior de idade, autorizasse a coleta.

A partir da primeira casa os domicílios foram sorteados até completar o número de amostras por bairro, assim como o número total de amostras em todos os bairros: 288 cães. Caso a residência a ser visitada não possuísse animal elegível ao estudo, partíamos para a casa imediatamente ao lado direito desta. Caso na residência houvesse mais de um animal, o proprietário escolhia apenas um animal para participação do estudo.

Como critério de inclusão, foi estabelecido que os cães deveriam ter idade igual ou superior a 6 meses. Não foram elegíveis para o estudo animais: fêmeas gestantes, cães agressivos sem condições de manejo, cães sem

proprietário identificado disponível, cães submetidos a qualquer tratamento quimioterápico anti-*Leishmania* e cães vacinados para leishmaniose.

A presença de anticorpos anti-*Leishmania* no soro dos cães foi determinada através dos testes TR DPP (Teste imunocromatográfico *Dual Path Plataform*) e reação imunoenzimática - ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*), ambos produzidos pelos Laboratórios da Biomanguinhos e cedidos ao estudo pela Secretaria de Estado de Saúde de Mato Grosso. Todos os testes foram realizados seguindo as instruções dos fabricantes e em duplicatas.

Aspectos éticos

Os cães que participaram do estudo foram avaliados pelo médico veterinário responsável quando os seus proprietários assinavam o termo de consentimento livre e esclarecido. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da UFMT sob parecer nº 23108.028628/13-6.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

No **Quadro 20.2**, apresentamos os resultados obtidos e as prevalências calculadas conforme o bairro e o tipo de teste realizado. Foram obtidas 20 amostras positivas para o

teste TR DPP, com uma prevalência de 6,94%. Para o teste ELISA, foram nove amostras positivas, com uma prevalência de 3,13%. Todos os animais foram testados em duplicata.

Quadro 20.2 Cães amostrados, positivos e prevalência calculada conforme o teste diagnóstico no município de Sinop, MT, ano de 2014

Bairro	Nº Amostras	+ DPP	Prev %	+Elisa	Prev %	DPP+Elisa	Prev %
Jardim Celeste	29	3	10,34	1	3,45	1	3,45
Jardim Imperial	74	7	9,46	2	2,70		
Jardim Primavera	54	5	9,26	-	-		
Setor Residencial Norte	44	3	6,82	-	-		
Habitar Brasil	7	-	-	1	14,29		
Jardim das Nações	43	2	4,65	2	4,65		
Jardim Maria Carolina	7	-	-	2	28,57		
Santa Rita	15	-	-	-	-		
Jardim América	15	-	-	-	-		
Prevalência	288	20	6,94	9	3,13	1	0,35

Quando seguimos o protocolo do Ministério da Saúde, o animal precisa estar com os dois testes positivos (DPP+Elisa) para ser considerado positivo. Apenas um animal apresentou positividade simultânea nos dois testes, fato que reduziu a prevalência para 0,35% no município de estudo.

No **Quadro 20.3**, são apresentados os resultados da prevalência canina calculada conforme o bairro e ecótopo estudado. Para avaliação da prevalência conforme o bairro ecótopo estudado, consideramos, para o cálculo de amostra positiva, aquela que obtivesse positividade em pelo menos um teste diagnóstico.

Verificou-se maior prevalência no bairro Jardim Maria Carolina com dois cães positivos em sete avaliados (28,57%), seguido pelo Habitar Brasil com um cão positivo em sete avaliados (14,29%). Apenas um bairro, Santa Rita, não apresentou nenhum animal positivo neste estudo. Os demais bairros apresentaram prevalência maior que 6%, chegando a quase 30%.

Na prevalência conforme o ecótopo de estudo (**Quadro 20.3**), obtivemos maior prevalência nos bairros com resquícios de floresta com oito animais positivos em 37 estudados (21,62%), seguida pelos bairros do entorno da RPP com 17 cães positivos em 157 estudados (10,83%).

Quadro 20.3 Bairros e ecótopos selecionados para o estudo, quantidade de cães amostrados e positivos conforme os testes diagnósticos, no município de Sinop, MT, ano de 2014

Bairro	Ecótopos	Nº Amostras	Animais +	Prev %	Amostras	Animais +	Prev ecótopo
Jardim Celeste	Entorno RPP	29	3	10,34	157	17	10,83
Jardim Imperial	Entorno RPP	74	9	12,16			
Jardim Primavera	Entorno RPP	54	5	9,26			

Setor Residencial Norte	Completamente urbanizado	44	3	6,82	94	3	3,19
Habitar Brasil	Completamente urbanizado	7	1	14,29			
Jardim das Nações	Completamente urbanizado	43	4	9,30			
Jardim Maria Carolina	Resquícios floresta	7	2	28,57	37	8	21,62
Santa Rita	Resquícios floresta	15	-	-			
Jardim América	Resquícios floresta	15	1	6,67			
Total		288	28	9,72	288	28	9,72

Quando avaliamos a prevalência geral (DPP ou ELISA), ou seja, aquele animal que apresenta positividade em pelo menos um teste, verificamos 28 animais positivos em 288 testados, ou seja, prevalência de 9,72%.

Para fins deste estudo consideramos a prevalência geral encontrada em Sinop como de 9,72%. Na capital do estado, Cuiabá-MT, município endêmico para LVC (ALMEIDA *et al.*, 2010), observou-se 38% de prevalência em uma população de 150 cães examinados por sorologia ou parasitologia. Ainda em Mato Grosso, no município de Barra do Garças, também endêmico para LVC, em estudo realizado entre 2014 e 2018, a prevalência geral foi de 7,25%, com 52,3% das amostras com concordância entre DPP e Elisa (SILVA *et al.*, 2021), prevalência não muito diferente da encontrada nesse estudo, porém, estamos em município não endêmico.

No município de Juatuba-MG, dos 957 cães estudados, 10,6% estavam soropositivos para LVC (BORGES *et al.*, 2014). Em Petrolina-PE, dos 600 cães analisados, 19% apresentaram sorologia positiva (PIMENTEL *et al.*, 2015). Em Cuité-PB, Alves *et al.* (2018) encontraram, em estudo realizado no mesmo período e com dados semelhantes ao encontrados neste estudo, soroprevalência média para LVC de 9,8% no TR DPP e 4,3% no EIE LVC nos três anos analisados (2013 a 2015).

Em estudo realizado em áreas não en-dêmicas para leishmaniose no estado do Rio Grande do Sul (RIBOLDI *et al.*, 2018), constatou-se prevalência de LVC, confirmada por PCR em tempo real, de 4,0%.

Segundo Dantas-Torres (2009), os resultados das pesquisas variam de acordo com as características da população estudada, assim como o tipo de metodologia empregada, além de fatores de riscos que estão associados à infecção por *Leishmania* como sexo, faixa etária, raça, tamanho e tipo do pelame, estado geral, sintomatologia clínica e condições do peridomicílio. Os estudos têm indicado que a maior incidência parece estar associada às moradias próximas de matas e a convivência com outros animais.

No Brasil, a eliminação de cães infectados é recomendada pelo Ministério da Saúde como medida de controle da LV, por isso, um diagnóstico de baixo custo e alta confiabilidade é necessário para a triagem desses reservatórios.

Os testes sorológicos são adotados na intenção de evitar o uso de métodos invasivos e, considerando que a resposta humoral na LVC é geralmente muito intensa, com altos níveis de imunoglobulinas (ALVAR *et al.*, 2004).

Como desvantagem, os testes sorológicos têm baixo desempenho para a detecção de infecção em cães assintomáticos, o que implica numa retirada parcial da população canina infectada pelos órgãos de vigilância, promovendo a manutenção da doença nas localidades (LOPES *et al.*, 2017;

TEIXEIRA *et al.*, 2019). De fato, existe evidência de que cães soronegativos nos testes TR-DPP e EIE-LVC têm potencial de transmissão do parasito ao vetor (MENDONÇA *et al.*, 2017a).

Identificar doenças que representam maior ameaça à saúde e ao bem-estar ajuda os formuladores de políticas a planejar intervenções, monitorar processos e avaliar o impacto e a eficácia das medidas de controle (BEZERRA *et al.*, 2018).

Dentre as opções de testes diagnósticos para a infecção por *Leishmania*, optou-se por utilizar testes realizados em sangue periférico devido à facilidade de obtenção de amostras a campo, assim como reduzir o número de recusas que testes mais invasivos poderiam ocasionar. Os testes TR-DPP e o EIE-LVC foram escolhidos por terem boa sensibilidade e especificidade dentre os testes sorológicos (PEIXOTO *et al.*, 2015) e por constituírem o diagnóstico de LVC recomendado pelo programa nacional de controle de LV (BRASIL, 2014).

Conhecer a epidemiologia da LVC é imprescindível para melhor entendimento do agravo e, assim, poder implementar futuras medidas de controle e monitoramento no município de Sinop. Considerando a falta de estudos publicados acessíveis sobre a LVC no município, torna-se importante a avaliação dos fatores de risco associados à presença da doença e a investigação da soroprevalência canina. Estas informações poderão somar às já pesquisadas dentro do estado, contribuindo para o desenvolvimento de medidas de controle mais eficazes tanto em termos de saúde pública, na predição do risco e expansão, tendo em vista sua grande importância para o conhecimento do reservatório canino, auxiliando estudos futuros na busca de outras ações de controle que evitem o sacrifício do cão.

Devido às limitações da implementação da vacinação e da eutanásia, novas alternativas precisam ser incentivadas na pesquisa para uso na população canina. Dentre elas, uma estratégia promissora gira em torno do uso de coleiras impregnadas com deltametrina.

Este é o primeiro estudo de prevalência canina para LVC no município de Sinop. A LVC é considerada mais importante que a doença humana, por ser mais prevalente, com grande contingente de animais infectados, servindo de fonte de infecção para flebotomíneos vetores, sendo o cão o principal reservatório urbano. Métodos sorológicos são fundamentais para auxiliar no diagnóstico clínico e em estudos epidemiológicos.

Nossos resultados reforçam a preocupação com a utilização de testes sorológicos para identificação de cães assintomáticos, visto que o diagnóstico sorológico é a principal ferramenta de levantamento para o controle da LVC. Assim, é possível que cães que foram rastreados e considerados soronegativos por protocolos sorológicos possam estar infectados, podendo ter permanecido como reservatório por mais tempo sem qualquer intervenção.

CONCLUSÃO

Este estudo apresentou, pela primeira vez, dados referentes à prevalência canina de LV em Sinop, município não endêmico para o agravo. Nossos achados revelam a importância do monitoramento da LVC, mesmo em município (silencioso) sem notificação de casos humanos.

Apesar da baixa prevalência encontrada em comparação aos municípios endêmicos, sugere-se a realização de novos estudos na área, visando ampliar a amostragem e deveras incluir novos métodos de diagnóstico como o de biologia molecular, visando qualificar o diagnóstico. Estudos

que avaliem a fauna dos vetores (flebotomíneos) também são necessários.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, A.B.P.F. *et al.* Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*, v. 40, p. 1610, 2010.
- ALVAR, J. *et al.* Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*, v. 57, 2004. doi: 10.1016/S0065-308X(04)57001-X..
- ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, v. 5, 2012. doi: 10.1371/journal.pone.0035671.
- ALVES, T.W.B. *et al.* Soroprevalência da Leishmaniose Visceral Canina em Cuité-PB. *American Journal of Medicine and Health*, v. 1, p. 7, 2018.
- BANETH, G. *et al.* Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology*, v. 24, p. 7, 2008. doi: 10.1016/j.pt.2008.04.001.
- BEZERRA, J.M.T. *et al.* Burden of leishmaniasis in Brazil and federated units, 1990-2016: findings from Global Burden of Disease Study 2016. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2018. doi: 10.1371/journal.pntd.0006697.
- BORGES, L.F.N.M. *et al.* Prevalência e distribuição espacial da leishmaniose visceral em cães do município de Juatuba, Minas Gerais, Brasil. *Ciência Rural*, v. 44, p. 352, 2014. doi: 10.1590/S0103-84782014000200025.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de vigilância em saúde. 5. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2022.
- CARVALHO NETA, A.V. *et al.* Panoftalmite em cão com leishmaniose visceral: relato de caso. *Clinical Veterinary*, v. 66, p. 52, 2007.
- DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniasis in South America. *Parasites & Vectors*. v. 2, 2009. doi: 10.1186/1756-3305-2-S1-S1.
- DANTAS-TORRES, F. & BRANDÃO-FILHO, S.P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. *Revista do Instituto de Medicina Tropical*, v. 48, p. 151, 2006. doi: 10.1590/S0036-46652006000300007.
- FARIA, A.R. & ANDRADE, H.M. Diagnóstico de la leishmaniasis visceral canina: grandes avances tecnológicos y baja aplicación práctica. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, v. 3, p. 47, 2012. doi: 10.5123/S2176-62232012000200007.
- FEITOSA, M.M. *et al.* Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). *Clínica Veterinária*, v. 5, p. 36, 2000.
- FONSECA, A.M. *et al.* Avaliação de três antígenos recombinantes de *Leishmania infantum* no diagnóstico de leishmaniose visceral humana e canina. *Acta Tropica*, v. 137, p. 25, 2014.
- LOPES, E.G. *et al.* Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in brazilian endemic area: One out of five seronegative dogs are infected. *Epidemiologic Infected*, v. 145, p. 436, 2017. doi: 10.1017/S0950268817001443.
- MALTA, D.C. *et al.* A implantação do Sistema de Vigilância de Doenças Crônicas Não Transmissíveis no Brasil, 2003 a 2015: alcances e desafios. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 20, p. 661, 2017. doi: 10.1590/1980-5497201700040009.
- MENDONÇA, I.L. *et al.* Serological tests fail to discriminate dogs with visceral leishmaniasis that transmit *Leishmania infantum* to the vector *Lutzomyia longipalpis*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 50, p. 483, 2017a. doi: 10.1590/0037-8682-0014-2017.
- MENDONÇA, I.L. *et al.* The performance of serological tests for *Leishmania infantum* infection screening in dogs depends on the prevalence of the disease. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, v. 59, e39, 2017b. doi: 10.1590/S1678-9946201759039.
- MOREIRA, M. *et al.* Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Veterinary Parasitology*, v. 145, p. 245, 2007. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.12.012.
- MOURA, A.A.G. *et al.* Repercussão das doenças crônicas não-transmissíveis na concessão de benefícios pela previdência social. *Ciência e Saúde Coletiva*, v. 12, p. 1661, 2007. doi: 10.1590/S1413-81232007000600027.
- PEIXOTO, H.M. *et al.* Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Tropical Medicine and International Health*, v. 20, p. 334, 2015. doi: 10.1111/tmi.12429.

- PIMENTEL, D.S. *et al.* Prevalence of zoonotic visceral leishmaniasis in dogs in an endemic area of Brazil. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, v. 48, p. 491, 2015. doi: 10.1590/0037-8682-0224-2014.
- QUINNELL, R.J. & COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, v. 136, p. 1915, 2009. doi: 10.1017/S0031182009991156.
- RIBOLDI, E. *et al.* Molecular method confirms canine leishmania infection detected by serological methods in non-endemic area of Brazil. *Korean Journal of Parasitology*, v. 56, p. 11, 2018. doi: 10.3347/kjp.2018.56.1.11.
- RODRIGUES, R.D. *et al.* Leishmaniose visceral canina—diagnóstico parasitológico: relato de caso. *Veterinária Notícias*, v. 19, 2013.
- SILVA, E.B. *et al.* Análise de fatores de risco para Leishmaniose Visceral Canina em área urbana. *Revista Saúde e Meio Ambiente*, v. 12, p. 144, 2021.
- SOCCOL, T.V. *et al.* More than the eyes can see: the worrying scenario of canine leishmaniasis in the Brazilian side of the triple border. *PLoS ONE*, v. 12, 2017. doi: 10.1371/journal.pone.0189182.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, v. 165, 2009. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, v. 4, p. 116, 2011. doi: 10.1186/1756-3305-4-86.
- TEIXEIRA, A.I.P. *et al.* Improving the reference standard for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis: a challenge for current and future tests. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 114, 2019. doi: 10.1590/0074-02760180452.
- THRUSFIELD, M. *Epidemiologia veterinária*. 2. ed. São Paulo: Roca, 2004.
- THRUSFIELD, M. *Veterinary epidemiology*. 3. ed. Oxford: Blackwell Science, 2007.