



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Leishmania infantum* EM CÃES NA
CIDADE DE PRIMAVERA DO LESTE, MATO GROSSO, BRASIL**

PHELIPE MAGALHÃES DUARTE

**Recife
2022**



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Leishmania infantum* EM CÃES NA
CIDADE DE PRIMAVERA DO LESTE, MATO GROSSO, BRASIL**

PHELIPE MAGALHÃES DUARTE

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Coorientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- D812s Duarte, Phelipe Magalhães
 Soroprevalência da infecção por Leishmania infantum em cães na cidade de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil / Phelipe Magalhães Duarte. - 2022.
 79 f. : il.
- Orientador: Jose Wilton Pinheiro Junior.
 Coorientador: Leucio Camara Alves.
 Inclui referências e anexo(s).
- Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, 2023.
1. Flebotomíneos. 2. Leishmaniose Visceral Canina. 3. Saúde Única. 4. Sorologia. 5. Zoonose. I. Junior, Jose Wilton Pinheiro, orient. II. Alves, Leucio Camara, coorient. III. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**SOROPREVALÊNCIA DA INFECÇÃO POR *Leishmania infantum* EM CÃES NA
CIDADE DE PRIMAVERA DO LESTE, MATO GROSSO, BRASIL**

Dissertação de Mestrado elaborada por

Phelipe Magalhães Duarte
Aprovada em 07/12/2022

Banca Examinadora

Prof. Dr. José Wilton Pinheiro Junior
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE (ORIENTADOR)

Prof. Dr. Francisco Esmale de Sales Lima
Universidade de Fortaleza – UNIFOR (TITULAR EXTERNO)

Prof^a. Dr^a. Jaqueline Bianque de Oliveira
Departamento de Biologia – UFRPE (TITULAR)

Prof^a. Dr^a. Renata Pimentel Bandeira de Melo
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE (TITULAR EXTERNO)

Dedico

Aos meus pais, Carlos Alberto Agustini Duarte e Iara Terezinha Antunes Magalhães, meus espelhos de moral, integridade e amor. Aos meus irmãos, Carlos Eduardo Magalhães Duarte e João Inácio Magalhães Duarte, meus amigos, parceiros e exemplos de caráter. À minha esposa, Andressa Silveira de Freitas, minha companheira de todas as horas, fundamental na concretização dos meus sonhos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por todas as graças concedidas, pela minha saúde e da minha família, pela proteção divina contra todos os males, pela força e coragem para encarar os inúmeros desafios que se apresentaram, e por estar comigo em todas as situações.

Aos meus pais, Carlos Alberto Agustini Duarte e Iara Terezinha Antunes Magalhães, meu mais sincero agradecimento, por todo empenho e dedicação no processo da minha formação como homem, pelo apoio direto e indireto na construção de todos os meus sonhos, sem dúvida alguma, vocês foram o esteio que me sustentou nos momentos mais difíceis. Agradeço também por sua integridade, caráter, honestidade e humanidade, foram meus espelhos para a construção dos valores que carrego comigo. Amo e amarei vocês para sempre.

Aos meus irmãos, Carlos Eduardo Magalhães Duarte e João Inácio Magalhães Duarte, saibam que os amo muito. Obrigado por toda ajuda e suporte que prestaram ao longo de toda minha vida, vocês são exemplos que carrego comigo de hombridade e integridade. Levo vocês comigo sempre.

A minha esposa, Andressa Silveira de Freitas, parceira de todas as horas. Obrigado por todo o incentivo, apoio, compreensão e fé. Levo você no meu coração aonde quer que eu vá. Te amo, para sempre.

A minha sogra, Roseli Belquis Martins da Silveira (*in memoriam*), e meu sogro, Romário dos Santos de Freitas (*in memoriam*), saudades.

A minha prima querida, que muitas vezes foi minha segunda mãe, irmã, amiga e parceira, Renata Chiappa Duarte. Serei grato eternamente por todo o seu amor e carinho me acolhendo, te amo muito. De mesma forma, não posso deixar de agradecer ao meu primo, Cleverson Piccoli Beiersdorf (*in memoriam*), meu muito obrigado querido primo, por todos os exemplos, conselhos e aprendizados, foi um privilégio ter compartilhado essa vida com você, te amarei para sempre, até breve. João Antônio, meu gurizinho, meu beijo e abraço fraterno. Ao meu primo Lucas, de mesma forma, agradeço pela acolhida, mora no meu coração.

Aos queridos amigos Ana e Luiz Ipolito, gratidão por todo suporte, companheirismo e amizade verdadeira, amo vocês.

Aos colegas de profissão, Médicos Veterinários, Dr. William, Dra. Izabella, Dr. Cleiton, Dr. Kenny e Dra. Fabi, parceiros fundamentais para concretização

dessa pesquisa. De mesma forma, estendo meus agradecimentos a todos os funcionários das clínicas que contribuíram com o trabalho, em especial à Alicia, da Senior Pet. Muito obrigado a todos.

Ao amigo de mestrado, Victor Felipe, por toda ajuda, parceria, receptividade, conselhos, acolhida e amizade verdadeira, foram fundamentais na construção e conclusão desse sonho.

A todos os colegas de mestrado, que de alguma forma fizeram parte de minha turma e da minha história durante o percurso do mestrado.

A todos os Professores do Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, pela dedicação e empenho na arte de ensinar. Meu muito obrigado por contribuírem com a minha formação, não apenas no sentido técnico-científico, mas também como ser humano.

Aos Coordenadores do Programa de Pós-graduação em Biociência Animal, Professora Dra. Tatiana Souza Porto, e Professor Dr. Pabyton Gonçalves Cadena, por toda dedicação ao programa, pela ajuda e serviços prestados.

Ao meu orientador, Professor Dr. José Wilton Pinheiro Junior, pela impagável ajuda, confiança, honestidade, parceria, ensinamentos, disponibilidade e humanidade. Meu muitíssimo obrigado por todo o suporte e valiosos ensinamentos, o senhor foi fundamental em todos os processos, fica minha imensa admiração e gratidão.

Ao meu coorientador Professor Dr. Leucio Câmara Alves, que buscou a todo momento contribuir e auxiliar com o melhor desenvolvimento científico do projeto. Muito obrigado por sua flexibilidade, humanidade e acolhida, o senhor foi fundamental para a concretização do meu sonho.

A toda equipe do Laboratório de Doenças Parasitárias, em especial à Sophia e Winny, meu muito obrigado pela sua ajuda, receptividade, parceria e acolhida.

A todos os funcionários da Universidade Federal Rural de Pernambuco com quem tive o prazer de conhecer.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela ajuda financeira via Programa de Apoio à Pós-Graduação (PROAP), a qual contribuiu com o desenvolvimento dessa pesquisa.

Aos componentes da banca examinadora, pela disponibilidade, contribuindo para a construção da melhor versão dessa pesquisa.

A todos os meus professores, da alfabetização à Pós-graduação, meu muitíssimo obrigado por compartilharem comigo seus conhecimentos, os quais serviram e servirão para germinar todos os meus sonhos.

Aos meus colegas de trabalho, Professores, Coordenadores de Curso, Técnicos e Diretora, que de alguma forma me auxiliaram durante essa fase da minha vida, muitíssimo obrigado.

MUITO OBRIGADO!

“O objetivo fundamental dos sonhos não é o sucesso, mas nos livrar do fantasma do conformismo”
Augusto Cury

RESUMO

Objetivou-se com esta pesquisa determinar a soroprevalência da infecção por *Leishmania infantum* em cães na cidade de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil. Foram analisadas 109 amostras sorológicas de cães, coletadas entre agosto de 2021 a março de 2022, utilizando como testes de triagem e confirmatório, de acordo com o Ministério da Saúde, o teste imunocromatográfico Dual Path Platform, TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina (BioManguinhos, Fiocruz), e o Ensaio Imunoenzimático (ELISA), EIE-Leishmaniose Visceral Canina (BioManguinhos®, Fiocruz), respectivamente. No diagnóstico de triagem, 5/109 (4,6%) cães foram positivos para a pesquisa de anticorpos anti- *L. infantum* pelo DPP. Todas as amostras foram submetidas ao teste confirmatório de ELISA, no qual 1 (0,9%) amostra foi positiva, procedente de um cão adulto, assintomático, domiciliado na área urbana, macho, da raça Husky Siberiano. Os resultados obtidos são fundamentais para preencher a lacuna epidemiológica da leishmaniose visceral canina (LVC) na região. A LVC é uma doença totalmente inserida no contexto da saúde única, e a partir desse cão soropositivo na cidade, a Vigilância Epidemiológica deve ficar alerta, procedendo com a vigilância e monitoramento sorológico de cães, bem como na investigação da existência de flebotomíneos e de seus criadouros, visto que os casos de LVC precedem casos em humanos. Para tanto, é preciso que um programa de educação em saúde seja implementado de forma ampla, abrangendo desde a elucidação sobre a LVC até aspectos inerentes à guarda responsável, a fim de se estimular a prevenção da doença, diminuindo a pressão sobre o sistema de saúde público.

Palavras-chave: Flebotomíneos, Leishmaniose Visceral Canina, Saúde Única, Sorologia, Zoonose.

ABSTRACT

The objective of this research was to determine the seroprevalence of *Leishmania infantum* in dogs in the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil. A total of 109 serological samples from dogs were analyzed, collected between august 2021 to march 2022, using as screening and confirmatory tests, according to the Ministry of Health, the Dual Path Platform immunochromatographic test, TR DPP® (LVC BioManguinhos), and Immunoenzymatic Assay (ELISA), EIE-Canine Visceral Leishmaniasis (Bio-Manguinhos®, Fiocruz), respectively. In the screening diagnosis, 5/109 (4.6%) dogs were positive for anti-*L. infantum* antibodies by DPP. All samples were submitted to the confirmatory ELISA test, which 1 (0.9%) was confirmed as positive, coming from an adult dog, asymptomatic, domiciled in the urban area, autochthonous, male, of the Siberian Husky breed. This is the first report of CVL in the municipality. The results obtained are essential to fill the epidemiological gap of canine visceral leishmaniasis (CVL) in the region. CVL is a disease totally inserted in the context of One health, and in view of this first seropositive dog in the city, the Epidemiological Surveillance must be alert, proceeding with the surveillance and serological monitoring of dogs, as well as in the investigation of the existence of sandflies, as cases of CVL precede cases in humans. Therefore, it is necessary that a health education program be implemented, ranging from the elucidation of CVL to aspects inherent to responsible custody, in order to stimulate the prevention of the disease, reducing the pressure on the public health system.

Key words: Sandflies, Canine Visceral Leishmaniasis, One Health, Serology, Zoonosis

SUMÁRIO

1 Introdução.....	18
2 Revisão de literatura	20
2.1 Agente Etiológico	20
2.2 Vetor	21
2.3 Epidemiologia.....	25
2.3.1 Distribuição Geográfica e Prevalência	25
2.3.2 Reservatório.....	28
2.3.3 Transmissão	29
2.3.4 Fatores de Risco	32
2.4 Imunopatogenia	34
2.5 Sinais Clínicos.....	36
2.6 Diagnóstico	38
2.6.1 Parasitológico	38
2.6.2 Sorológico	39
2.6.3 Molecular	41
2.7 Prevenção e Controle	42
2.7.1 Prevenção e Controle da Leishmaniose Visceral Canina no Contexto da Saúde Única.....	44
3 Objetivos	46
3.1 Geral	46
3.2 Específicos.....	46
4 Referências bibliográficas.....	47
5 Capítulo 1.....	66
5.1 Artigo 1.....	66
6 Considerações finais	78
7 Anexo	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Porcento
>	Maior que
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cm	Centímetro
CVL	Canine Visceral Leishmaniasis
DF	Distrito Federal
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
DPP	Dual Path Platform
EIE	Ensaio Imunoenzimático
EIE-LVC	EIE-Leishmaniose-Visceral-Canina-Bio-Manguinhos
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
Fiocruz	Fundação Oswaldo Cruz
GO	Goiás
IBGE	Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IFAT	Indirect Fluorescent Antibody Test
IFI	Imunofluorescência Indireta
IFN- γ	Interferon-gama
IgG	Imunoglobulina G
IgM	Imunoglobulina M
IL-17	Interleucina-17
IL-10	Interleucina-10
IL-2	Interleucina-2
IL-4	Interleucina-4
IL-5	Interleucina-5
INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
kDNA	DNA do cinetoplasto
km	Quilômetro
LF	Leishmaniose Felina
LTA	Leishmaniose tegumentar americana
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
mL	Mililitro
MS	Mato Grosso do Sul
MT	Mato Grosso
nº	Número
°C	Graus Celsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PE	Pernambuco
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
rpm	Rotações por minuto
t	Tonelada
TGF- β	Fator de Crescimento Transformador Beta
Th1	Linfócito T auxiliar tipo 1
Th2	Linfócito T auxiliar tipo 2
Th17	Linfócito T auxiliar tipo 17
TNF- α	Fator de Necrose Tumoral Alfa
TR	Teste Rápido

Treg	Linfócitos T reguladores
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
WHO	World Health Organization

LISTA DE FIGURAS

Revisão de literatura

Figura 1- Espécies de <i>Leishmania</i> relacionadas aos casos de leishmaniose visceral canina na América do Sul.....	21
Figura 2- Ciclo biológico dos flebotomíneos: A- Inseto adulto. B- Ovo com característica forma elíptica. C- Estágio larval, compreendendo 4 estádios larvais (L1, L2, L3 e L4). D- Pupa.....	24
Figura 3- <i>Status</i> de endemidade da Leishmaniose Visceral no mundo em 2020.....	26
Figura 4- Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> spp.....	32
Figura 5- Resposta imune humoral na Leishmaniose Visceral Canina (LVC).....	36

LISTA DE FIGURAS

Artigo

Figure 1- Geographic position of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil.....	69
Figure 2- Serological tests used for detection of <i>Leishmania infantum</i> infection in dogs from the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil.....	70

LISTA DE TABELAS

Revisão de literatura

Tabela 1- Casos notificados de Leishmaniose no Estado de Mato Grosso, no período de 1973 a 2022.....	28
---	----

LISTA DE TABELAS

Artigo

Table 1- Results of the DPP® and ELISA serological methods, performed on 109 dogs from the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil, in 2022.....	71
---	----

1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença antroponótica parasitária causada por protozoários pertencentes à ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (BRASIL, 2014), sendo *Leishmania infantum* a principal espécie causadora da doença (DANTAS-TORRES, 2009), pela picada de dípteros fêmeas da família *Psychodidae*, também conhecidos como flebotomíneos (BRASIL, 2014).

A leishmaniose visceral (LV) é amplamente disseminada pelo mundo. Todavia, aproximadamente 95% dos casos em humanos dos 50.000 a 90.000 casos anuais ocorrem em apenas 10 países: Bangladesh, Brasil, China, Etiópia, Índia, Quênia, Nepal, Somália, Sudão do Sul e Sudão (WHO, 2022).

No Brasil, a transmissão da LVC ocorre principalmente pelo repasto sanguíneo de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, com destaque para *Lutzomyia longipalpis* (QUINNELL; COURTENAY, 2009), que já foi detectada no estado de Mato Grosso (MISSAWA; LIMA, 2006), além de *Lutzomyia cruzi* (MISSAWA *et al.*, 2011).

Os cães apresentam um papel importante na manutenção do agente, sendo considerado o principal reservatório e fonte de infecção do meio urbano (MELLO *et al.*, 2014; QUEIROZ *et al.*, 2010). Esses animais preenchem as condições necessárias para isso, pois são altamente susceptíveis a se infectar em virtude do alto parasitismo cutâneo e, principalmente, devido à sua íntima e próxima relação com o homem, seja em áreas urbanas ou rurais (DANTAS-TORRES; BRANDÃO-FILHO, 2006). Inquéritos soropidemiológicos da LVC têm revelado um grande número de animais soropositivos assintomáticos, contribuindo com o estabelecimento e manutenção da doença (GARCÍA-CASTRO *et al.*, 2022; LEOTE *et al.*, 2021; MOSHFE *et al.*, 2009).

O processo de urbanização da LVC é comumente atrelado ao desequilíbrio ambiental, uma vez que pode se tornar um catalisador da doença em populações de indivíduos susceptíveis, tornando o controle da doença extremamente difícil (DINIZ *et al.*, 2008). Dessa forma, pode-se afirmar que a LVC está inteiramente inserida no contexto da saúde única, uma vez que o conceito vem a abranger a saúde humana, animal e ambiental (PALATNIK-DE-SOUSA; DAY, 2011).

O Estado de Mato Grosso apresenta importantes características geográficas e epidemiológicas, localizando-se na região Centro-Oeste do Brasil, com a maior parte de seu território sendo ocupada pela Amazônia Legal. No município de Poxoréu, limítrofe com Primavera do Leste, foi realizada avaliação epidemiológica da LVC em 1.112 cães domiciliados pelo método da Imunofluorescência Indireta (IFI), na qual se observou prevalência de 7,8% (AZEVEDO *et al.*, 2008).

A proximidade com áreas densamente florestadas, bem como a existência de casos de leishmaniose no Estado, na região circunvizinha e na cidade, demonstram a importância do presente estudo.

Diante dessas problemáticas, a detecção precoce de cães infectados é fundamental para impedir a disseminação do agente (MAIA; CAMPINO, 2008). Essa importância baseia-se no fato da LVC ter os cães como um dos principais reservatórios e fontes de infecção, além disso, a infecção em animais precede a ocorrência de casos em seres humanos (GÓES; MELO; JERALDO, 2012; MELLO *et al.*, 2014; QUEIROZ *et al.*, 2010)

Desta forma, objetiva-se com esta pesquisa determinar a soroprevalência da infecção por *L. infantum* em cães na cidade de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Agente Etiológico

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é causada por protozoários pertencentes ao gênero *Leishmania*, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae (AKHOUNDI *et al.*, 2016; FRAGA *et al.*, 2010; MARTINS *et al.*, 2015). Esses protozoários são organismos unicelulares que apresentam um flagelo e uma estrutura rica em DNA (kDNA), o cinetoplasto (LUKEŠ *et al.*, 2002). Realizam divisão por fissão binária, tanto nos hospedeiros vertebrados quanto invertebrados (BATES, 2007; HARHAY *et al.*, 2011; PRATA; SILVA, 2005; READY, 2014).

Leishmania é um organismo pleomórfico, ou seja, é encontrado sob duas formas, de acordo com o hospedeiro. A forma flagelada, denominada promastigota, forma infectante para o hospedeiro vertebrado, é encontrada nos hospedeiros invertebrados; a forma imóvel com flagelo internalizado, denominada amastigota, se multiplica no interior das células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro vertebrado e é infectante para o hospedeiro invertebrado (KILLICK-KENDRICK, 1999; MARTINS, 2015; MICHALICK; GENARO, 2005; SILVA, 2007).

Inicialmente descrita na Índia em 1885, a LV teve seu agente etiológico identificado e descrito apenas em 1903, por William Boog Leishman e Charles Donovan, porém, confundindo-a com outro protozoário, *Trypanosoma* (LEISHMAN, 1903). Coube a Ronald Ross criar o gênero *Leishmania*, batizando o agente causador da LV de *Leishmania donovani*, em homenagem a William Boog Leishman e Charles Donovan (REY, 2001).

Na América do Sul, as espécies *L. (Leishmania) amazonensis*, *L. (L.) infantum* e *L. (Viannia) colombiensis* estão envolvidas em casos de LVC. No Brasil, as espécies ficam limitadas a *L. (L.) infantum* e *L. (L.) amazonensis* (DANTAS-TORRES, 2009; SALGADO-ALMARIO; HERNANDEZ; OVALLE-BRACHO, 2019; VALDIVIA *et al.*, 2017), com maior frequência de *L. (L.) infantum* (DANTAS-TORRES, 2009; ESTEVAM *et al.*, 2022). As espécies de *Leishmania* relacionadas aos casos de LVC estão descritas na Figura 1.

A variedade de espécies hospedeiras e vetores envolvidos na transmissão do parasito exercem diferentes pressões seletivas, e sua circulação em vários contextos

ecoepidemiológicos podem induzir à geração de populações de parasitos estruturalmente diferentes (GARIN *et al.*, 2001).



Figura 1 Espécies de *Leishmania* relacionadas aos casos de leishmaniose visceral canina na América do Sul. Adaptado de Dantas-Torres (2009).

2.2. Vetor

Os vetores transmissores de *L. infantum* são as fêmeas de insetos dípteros, pertencentes à família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, pertencentes à ordem Diptera e subordem Nematocera (KILLICK-KENDRICK, 1990), do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo (RONDANI, 1840) e *Lutzomyia* no Novo Mundo (TONINI, 2010). No entanto, *Leishmania* já foi identificado em vetores do gênero *Pintomyia*, espécie *Pintomyia fischeri*, em área endêmica do Brasil, reforçando a

ideia de que outras espécies podem estar envolvidas na transmissão de *L. infantum* na ausência de *L. longipalpis* (GALVIS-OVALLOS *et al.*, 2021).

Existem mais de 540 espécies de flebotomíneos nas Américas (GALATI, 2018; SHIMABUKURO; ANDRADE; GALATI, 2017), disseminadas em diferentes ecossistemas, nos quais, algumas espécies são capazes de transmitir o parasito. Porém, apenas 56 espécies foram comprovadas ou suspeitas de transmitir parasitos *Leishmania* no Novo Mundo (MAROLI *et al.*, 2013).

No Brasil, o vetor principal envolvido na transmissão da LVC é *Lutzomyia longipalpis* (GALATI, 2018). Em estudo realizado por Almeida (2015), *Lutzomyia longipalpis* foi a espécie com maior número de registros, sendo observada em todos os biomas da região Centro-Oeste do Brasil. Nesse sentido, vários estudos indicam uma grande riqueza de espécies de flebotomíneos, principalmente no Mato Grosso (106 spp.) (MISSAWA *et al.*, 2011; MISSAWA; MACIEL 2007), seguido do Mato Grosso do Sul (59 spp.) (ALMEIDA *et al.*, 2010; ALMEIDA *et al.*, 2013; GALATI *et al.*, 2006; OLIVEIRA *et al.*, 2006; YOUNG; DUNCAN 1994), Distrito Federal (27 spp.) (CARVALHO *et al.*, 2010) e Goiás (19 spp.) (MARTINS *et al.*, 2002). Em Mato Grosso, *Lutzomyia cruzi* foi identificado como um importante transmissor de *Leishmania* (ÁVILA *et al.*, 2023; MISSAWA *et al.*, 2011), tendo sua competência vetorial comprovada tanto para *L. infantum* (OLIVEIRA *et al.*, 2017a), quanto para *L. amazonensis* (OLIVEIRA *et al.*, 2017b).

Os flebotomíneos são popularmente conhecidos como mosquito-palha, cangalhinha, birigui, tatuquira, asa-branca, dentre outros (COURA, 2013). São de pequeno porte, geralmente não ultrapassando 0,5 cm de comprimento, longas pernas, corpo coberto de pelos e de coloração clara, lembrando a dor de palha ou castanho (ARRUDA, 2010). São identificados comumente na região peridomiciliar, procurando uma fonte de alimento, região a qual possuem grande facilidade de adaptar-se em virtude de serem áreas de abrigo de animais domésticos, lixo, entulhos e matéria orgânica em decomposição (FELICIANGELI, 2004; MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2003; WERNECK *et al.*, 2007). Além disso, o vetor pode ser encontrado na região intradomiciliar (LAINSON; RANGEL, 2005).

Os flebotomíneos, encontrados originalmente em áreas de matas, adaptaram-se ao meio rural e, por fim, às zonas urbanas, em consequência da ação antropogênica (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2003), como migração populacional, moradias precárias, desmatamento, construção de barragens e irrigação (WHO, 2022).

Todavia, a presença do vetor já foi detectada em áreas litorâneas, estas consideradas incomuns para a sua presença (JULIÃO *et al.*, 2007; SHERLOCK; DIAS-LIMA; MONTE-ALEGRE, 2000; XIMENES *et al.*, 2007).

Os flebotomíneos possuem hábito alimentar noturno, permanecendo durante o dia escondidos em locais com pouca luz, temperaturas amenas e úmidos (TORRES-GUERRERO, 2017; WHO, 2010). Ambos os sexos do vetor utilizam carboidratos como alimento, todavia, apenas as fêmeas são hematófagas obrigatórias, utilizando o sangue para maturação de seus ovos (DIAS; LOROSA; REBÊLO, 2003; MARTY *et al.*, 2009).

O ciclo biológico dos flebotomíneos começa com a oviposição em áreas úmidas, protegidas do sol e de abundante matéria orgânica (FELICIANGELI, 2004; KILLICK-KENDRICK, 1990), onde se protegem das rigorosas mudanças climáticas (AGUIAR; MEDEIROS, 2003). O ciclo compreende quatro etapas: ovo (período de incubação que dura cerca de seis a sete dias), larva (com quatro estágios, durando cerca de 20 a 25 dias), pupa (duração de oito a doze dias) e adulto (que vive cerca de um mês) (PAULA, 2010). Todavia, o desenvolvimento das formas imaturas também pode ser observado em ambientes considerados inapropriados, como áreas desmatadas e regiões semiáridas (DIAS-LIMA; GUEDES; SHERLOCK, 2003). Isso se justifica pelo fato de os ovos do vetor apresentar características que impedem sua desidratação, conferindo maior resistências a ambientes de baixa umidade e temperatura elevada (FELICIANGELI; CASTEJON; LIMONGI, 1993). O ciclo biológico completo do vetor pode ser visualizado na Figura 2.

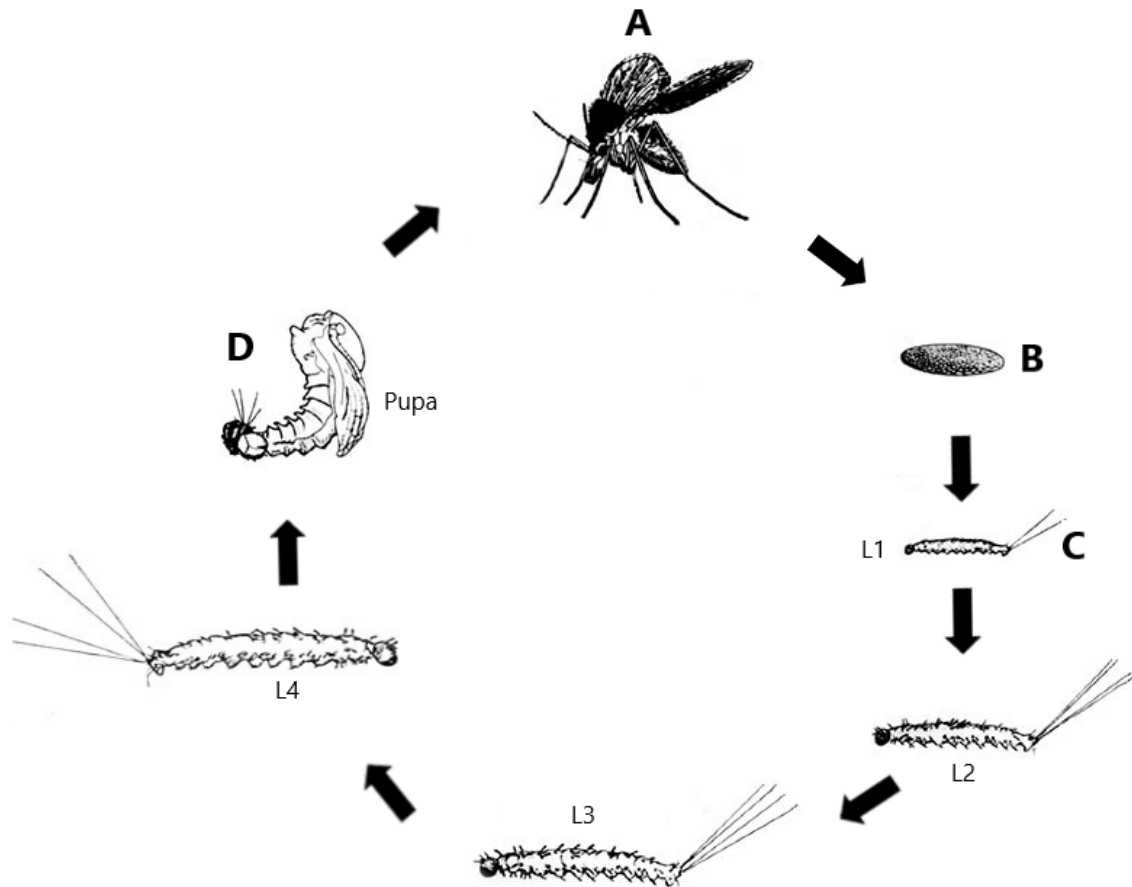


Figura 2 Ciclo biológico dos flebotomíneos: **A**- Inseto adulto. **B**- Ovo com característica forma elíptica. **C**- Estágio larval, compreendendo 4 estádios larvais (L1, L2, L3 e L4). **D**- Pupa. Fonte: Adaptado de WHO (2010).

Apesar do cão ser importante na manutenção do agente, sendo considerado o principal reservatório do meio urbano (BRASIL, 2014), em algumas áreas o mesmo não é a fonte preferencial de alimentação para o vetor, como no estado de Mato Grosso, onde foi investigada a preferência alimentar de *L. longipalpis* em uma área de transmissão de LV, verificando-se que 30,8% dos flebotomíneos se alimentaram de sangue de aves, 21,2% de roedores, 13,5% de sangue humano e, em menor proporção, em amostras sanguíneas de gambás, bois, cavalos e cães (MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008). Também foi comprovada a ocorrência de repasto sanguíneo em equinos, gambás, ovelhas e cabras (AFONSO *et al.*, 2012).

As fêmeas são atraídas pelos hospedeiros por diversos fatores (BRAZIL; BRAZIL, 2003). A orientação desses insetos hematófagos em busca de hospedeiros desse refere a sinais visuais, térmicos, táteis e químicos (odor) do hospedeiro (LEHANE, 2005). Esse conjunto de fatores, somado à resposta individual de insetos fêmeas, determinará se o vetor utilizará o hospedeiro para alimentar-se (HAMILTON; HURD, 2002; HURD, 2003; LEHANE, 2005).

Em estudo realizado por Staniek e Hamilton (2021), o odor de cães infectados com *L. infantum* foi significativamente atraente para *L. longipalpis*. Em outro experimento, *hamsters* infectados com *L. infantum* foram mais atraentes para fêmeas de flebotomíneos do que os não infectados (O'SHEA *et al.*, 2002).

2.3. Epidemiologia

2.3.1. Distribuição Geográfica e Prevalência

Por ser considerada uma doença negligenciada, o número real de casos de leishmaniose é difícil de ser determinado, mas estima-se que há 12 milhões de pessoas infectadas no mundo (PAHO, 2022). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2020 ocorreram quase 13.000 casos de LV no mundo (RUIZ-POSTIGO *et al.*, 2021).

No que diz respeito a doenças transmitidas por vetores, as leishmanioses são a terceira doença mais importante do mundo, com pessoas em risco de infecção em mais de 98 países (ALVAR *et al.*, 2012) (Figura 3). Segundo dados disponibilizados pela Organização Mundial de Saúde, em 2020, o Brasil teve 1.954 casos de leishmaniose visceral notificados, Etiópia 1.077, Índia 2.033, Quênia 1.178, Sudão 2.563 e Eritreia 1.034 (WHO, 2021a).

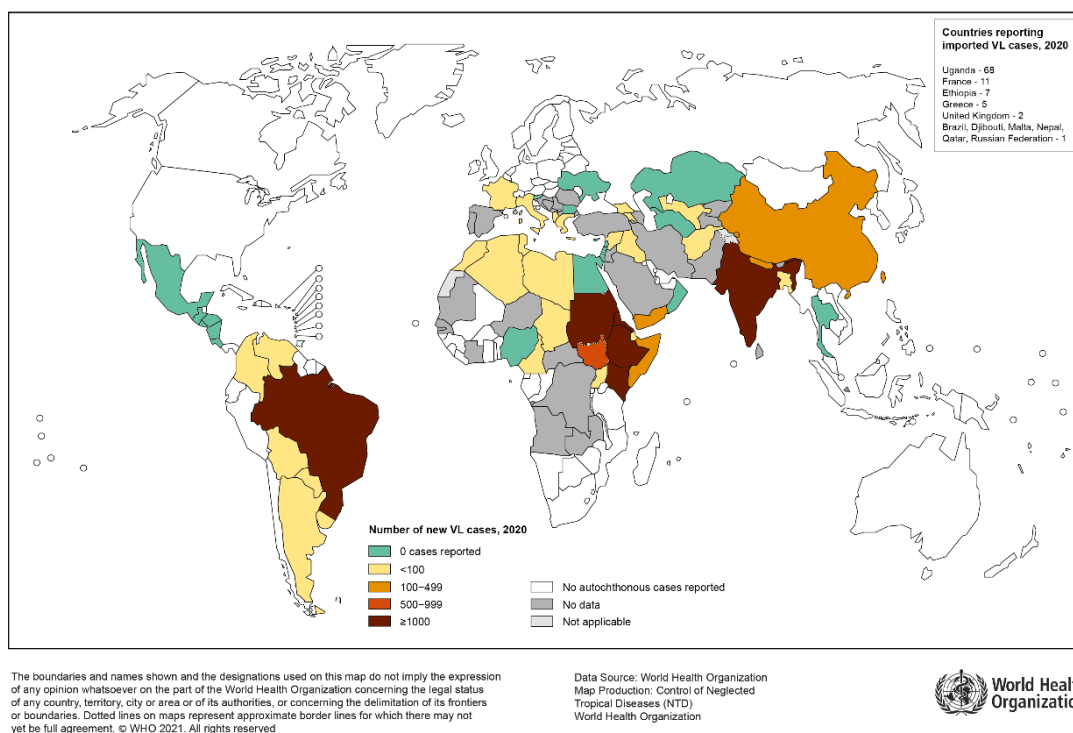


Figura 3 Status de endemidade da Leishmaniose Visceral no mundo em 2020. Fonte: WHO (2021b).

Nas Américas, o Brasil representou 97% dos novos casos de LV notificados à Organização Mundial de Saúde nas Américas (PAHO, 2020).

No que se refere ao Brasil, o primeiro registro de caso da doença ocorreu em 1913, em material de necrópsia de paciente oriundo de Boa Esperança, Mato Grosso (ALENCAR; DIETZE, 1991). Logo após, em 1934, foram encontradas formas amastigotas de *Leishmania* em cortes histológicos de fígado de pessoas que vieram à óbito com suspeita de febre amarela (GONTIJO; MELO, 2004).

Em virtude das características regionais em que os primeiros casos eram notificados, até meados de 1980, a leishmaniose ficou conhecida como uma doença restrita a zonas rurais. Todavia, por diversas circunstâncias, a doença passou a ocorrer nas zonas urbanas (HARHAY *et al.*, 2011).

A disseminação de casos pode ser explicada pelos crescentes fluxos migratórios devido às intensas secas entre os anos de 1960 e 1985, levando a uma ocupação desordenada nas periferias das cidades, originária, na maioria, por populações humanas e caninas de áreas rurais, na qual a doença era endêmica (COSTA *et al.*, 1990; WERNECK, 2008). Dessa forma, é possível perceber que a ocorrência da doença está inteiramente relacionada com a saúde única (BARBOSA *et al.*, 2022).

A LV é amplamente distribuída pelo país, abrangendo todas as regiões do país, dentre elas, a principal área endêmica no Brasil concentra-se no Nordeste (BRASIL, 2022).

Até meados de 1990, cerca de 90% dos casos notificados de LV ocorreram na Região Nordeste. Após esse período, de 2000 a 2002, notou-se uma diminuição no número de casos nessa região (redução para 77%), mas houve uma expansão da doença para outras áreas e modificações por ação antrópica (BRASIL, 2014). A partir disso, diversos casos de LVC foram relatados em outros estados do país, como Pará (LIMA *et al.*, 2010), Roraima (EVANGELISTA *et al.*, 2009), Acre (BENTO, 2019), Rondônia (SILVA *et al.*, 2018; ZIEMNICZAK *et al.*, 2021), Tocantins (MORAIS *et al.*, 2013), Goiás (AZEVEDO *et al.*, 2011), Mato Grosso do Sul (NUNES *et al.*, 2001), Rio de Janeiro (PAULA *et al.*, 2009) São Paulo (COSTA *et al.*, 2018), Minas Gerais (FARIA *et al.*, 2017), Espírito Santo (TONINI *et al.*, 2012), Santa Catarina (PINTO *et al.*, 2022), Paraná (DIAS *et al.*, 2020) e Rio Grande do Sul (SILVA *et al.*, 2011). Além disso, deve-se ter em mente que a infecção em animais precede a ocorrência de casos em humanos (GÓES; MELO; JERALDO, 2012).

Na região Centro-Oeste, os primeiros registros de casos autóctones humanos de LV ocorreram em 1973, em Mato Grosso, no município de Guiratinga, sugerindo que a infecção se restringia ao ambiente silvestre de transmissão (BARUFFA; CURY, 1973). Hueb *et al.* (1996) registraram a relevância epidemiológica e a expansão da endemia a partir da década de 90, relatando entre 1992 a 1994 quatro casos de LV em Cuiabá, o que levou à confirmação da autoctonia no Mato Grosso. Em 1998, uma epidemia da doença ocorreu em Várzea Grande, município limítrofe da capital Cuiabá e, posteriormente, com notificações em diversos outros municípios (CAMIÁ *et al.*, 1999). Porém, apenas em 2005, foi registrado em Cuiabá o primeiro caso autóctone (MESTRE; FONTES, 2007). A região Centro-Oeste tem apresentado aumento no número de casos de LV humana e canina (CARVALHO *et al.*, 2020). Em 2010, foram notificados 54 casos de LV em humanos no Estado de Mato Grosso (BRASIL, 2011a).

Os casos notificados de Leishmaniose no Estado de Mato Grosso estão compilados na Tabela 1.

Tabela 1 Casos notificados de Leishmaniose no Estado de Mato Grosso, no período de 1973 a 2022. LV: Leishmaniose Visceral. LTA: Leishmaniose Tegumentar Americana.

Autor	Região/Cidade de Notificação	Ano	Forma	Casos
Humanos				
Ministério da Saúde (2022)	Mato Grosso	2001-2020	LV	573
Ministério da Saúde (2022)	Mato Grosso	2001-2020	LTA	58.857
Ministério da Saúde (2022)	Primavera do Leste	2001-2020	LV	9
Ministério da Saúde (2022)	Primavera do Leste	2001-2020	LTA	866
Baruffa; Cury (1973)	Guiratinga	1971-1972	LV	8
Hueb et al. (1996)	Cuiabá	1992-1994	LV	4
Camíá et al. (1999)	Cuiabá	1998	LV	13
Mestre; Fontes (2007)	Mato Grosso	1998-2005	LV	138
Brasil (2011a)	Mato Grosso	2010	LV	54
Caninos				Prevalência
Moura et al. (1999)	Cuiabá	1997-1998	-	64,5%
Mestre; Fontes (2007)	Mato Grosso	1998-2005	-	9%
Azevedo et al. (2008)	Poxoréu	2002	LV	7,8%
Almeida et al. (2009)	Cuiabá	2007-2008	-	3,4%
Almeida; Mendonça; Sousa (2010)	Cuiabá	2006-2008	-	38,0%
Duarte (2010)	Rondonópolis	2007-2008	-	23,7% em 2007; 48,4% em 2008
Almeida et al. (2012)	Cuiabá	2009-2010	-	22,1%
Lopes et al. (2014)	Jaciara	2010-2011	-	54,7%
Dias et al. (2017)	Barão de Melgaço	2015	LV	4,2%
Menegatti et al. (2020)	Região Pedra 90, Cuiabá	2016	LV	1,14%
Carvalho et al. (2020)	Nossa Senhora do Livramento	2018	-	14,0%

A região de Primavera do Leste carece de dados, tendo sido realizado apenas um estudo no município limítrofe de Poxoréu, por meio de uma avaliação soropidemiológica da LVC em 1.112 cães domiciliados, sendo observada uma prevalência de 7,8% (AZEVEDO *et al.*, 2008).

2.3.2. Reservatório

Transmitida pela picada de flebotomíneos, vetores da doença, a LVC pode estar hospedada em reservatórios selvagens, como canídeos, roedores, marsupiais e tamanduás e morcegos, destacando-se a raposa (*Cerdocyon thous*) e o gambá (*Didelphis albiventris*) (AKHOUNDI *et al.*, 2017; ROQUE; JANSEN, 2014).

No ciclo urbano no Brasil, os cães (*Canis lupus familiaris*) são a principal fonte de infecção de *L. infantum* (BRASIL, 2014). Em mamíferos silvestres, o parasito normalmente causa pouco ou nenhum efeito patológico, definindo uma relação de equilíbrio entre o parasito e hospedeiro (FALQUETO; SESSA, 2005), contribuindo com a manutenção do ciclo de transmissão nesse ambiente, independente de cães domésticos infectados (SOBRINO *et al.*, 2008). Todavia, já foi demonstrada a ocorrência de sinais clínicos graves e óbitos causados por LV em cachorros-do mato de vida livre no Brasil (SILVA *et al.*, 2021).

Todavia, ainda que a leishmaniose esteja relacionada comumente aos cães, os gatos também podem ser acometidos, com maior ocorrência da forma tegumentar da doença (MAIA; CAMPINO, 2011). Sinais clínicos semelhantes à forma visceral canina podem ocorrer (PENNISI; PERSICHETTI, 2018), como lesões oculares (PENNISI *et al.*, 2013). O primeiro registro da doença ocorreu em 1912, na Argélia, em um gato doméstico de quatro meses de idade que coabitava com um cachorro e uma criança, ambos também infectados com a forma visceral da doença, com o diagnóstico confirmatório baseado na presença da forma amastigota do parasito na medula óssea, porém a espécie não foi identificada (SERGENT; LOMBARD; QUILICHINI, 1912). Atualmente, a ocorrência de leishmaniose felina (LF) no mundo já é uma realidade (ASFARAM; FAKHAR; TESHNIZI, 2019), inclusive no Brasil (SANTOS *et al.*, 2021), com o primeiro registro da forma visceral em gatos ocorrendo em 2001, no Estado de São Paulo (SAVANI *et al.*, 2004). No estado de Pernambuco foi realizada a primeira caracterização molecular de *L. infantum* infectando gatos domésticos (BERENGUER *et al.*, 2021). Na região Centro-Oeste, a presença do parasito em gatos também já foi relatada em Mato Grosso (METZDORF *et al.*, 2017).

Sem dúvida, a adaptação do vetor ao meio urbano modificou a ecologia da doença, bem como as características epidemiológicas, como o aumento da população de insetos transmissores, bem como do número de reservatório, como os cães (GÓES; MELO; JERALDO, 2012; MONTEIRO *et al.*, 2005).

2.3.3. Transmissão

A transmissão pode ocorrer dentro de três perfis epidemiológicos: 1) Silvestre – em que ocorre a transmissão em áreas de vegetação primária (enzootia de animais silvestres); 2) Ocupacional ou Lazer – em que a transmissão está associada à exploração desordenada da floresta e derrubada de matas para construção de estradas, extração de madeira, desenvolvimento de atividades agropecuárias, ecoturismo (antropozoonose); e 3) Rural ou Periurbana – em áreas de colonização (zoonose de matas residuais) ou periurbana, em que houve adaptação do vetor ao peridomicílio (zoonose de matas residuais e/ou antropozoonose (BRASIL, 2017).

A principal via de transmissão da LVC é vetorial, todavia, ainda que estes estejam presentes por quase todo o país, a ausência do vetor em áreas de relato de caso da doença sugere que outras formas de transmissão ocorram (DANTAS-TORRES, 2009). Uma dessas formas é a vertical, podendo ocorrer pela via transplacentária (BOGGIATTO *et al.*, 2011) e pela ingestão do colostro contaminado (BOECHAT *et al.*, 2016). A transmissão venérea também é possível (NAUCKE; LORENTZ, 2012), o que pode representar um problema em áreas endêmicas (BOECHAT *et al.*, 2016).

A transmissão por transfusão de sangue contaminado já foi relatada (OWENS *et al.*, 2001), o que confirma a necessidade de melhoria contínua dos critérios de seleção de doadores e implementação de protocolos de triagem com a utilização de testes sensíveis (MORGANTI *et al.*, 2022).

A presença de *Leishmania* spp. em pulgas já foi detectada (COLOMBO *et al.*, 2011), bem como em carrapatos coletados de cães infectados (VIOL *et al.*, 2016). Dessa forma, a competência desses vetores na transmissão do parasito precisa ser melhor elucidada, uma vez que a simples presença de DNA do parasito nesses artrópodes não significa possuir competência de transmissão (COUTINHO; LINARDI, 2007; DANTAS-TORRES, 2011; FERREIRA *et al.*, 2009; OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2010; PAZ *et al.*, 2010). Em estudo realizado por Magri *et al.* (2022), foi detectada a presença de kDNA de *Leishmania* em larvas não alimentadas, ninfas e carrapatos machos adultos de *Ixodes ricinus*, reforçando a necessidade de maiores investigações acerca da competência desses vetores na transmissão da LVC.

A transmissão direta, de cão para cão, através de mordidas ou feridas, além da reutilização de agulhas para injeções já foi sugerida (DUPREY *et al.*, 2006), porém ainda sem comprovação (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2011).

Por se tratar de um parasito difásico, o ciclo biológico é complexo (Figura 4). Seu início ocorre quando as fêmeas de flebotomíneos realizam o repasto sanguíneo em um mamífero infectado, ingerindo macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania*, ocorrendo o rompimento desses macrófagos no trato digestivo dos vetores, resultando na liberação dessas formas (BRASIL, 2014).

As formas amastigotas passam rapidamente por um processo de reprodução por divisão binária e diferenciam-se em formas flageladas, denominadas promastigota, as quais permanecem no intestino do vetor (BARBOSA, 2012). Estas promastigotas também se reproduzem por divisão binária, transformam-se em paramastigostas, as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor, onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo (BRASIL, 2014). Esta forma do parasito se diferencia pelo processo denominado metaciclogênese, transformando-se na sua forma infectante, denominada promastigota metacíclica (SILVA *et al.*, 2017).

O ciclo do parasito no inseto se completa em torno de 72 horas. Após este período, as fêmeas infectantes, ao realizarem um novo repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado, liberam as formas promastigotas metacíclicas juntamente com a saliva do inseto (BRASIL, 2014). Rapidamente, as formas promastigotas metacíclicas inoculadas no hospedeiro são fagocitadas por macrófagos, diretamente ou após a infecção de neutrófilos, que são rapidamente recrutados para o sítio da picada e capturam o parasito (ROGERS *et al.*, 2009; van ZANDBERGEN *et al.*, 2004), porém este ainda permanece viável dentro dos neutrófilos (PETERS *et al.*, 2008). Dessa forma, o protozoário pode usar essas células como um "cavalo de Tróia" para entrar em suas células hospedeiras finais silenciosamente, sem ser reconhecido (van ZANDBERGEN *et al.*, 2004). No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos, resultando na liberação destas formas, as quais serão fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo (BRASIL, 2014).

Desse modo, o protozoário não fica confinado na pele, sendo transportado através do sangue e linfa, o que permite a sua disseminação por todo o organismo do cão (BANETH, 2010; BRASIL, 2006; ZAVITSANOU; KOUTIS; BABATSIKOU, 2008).

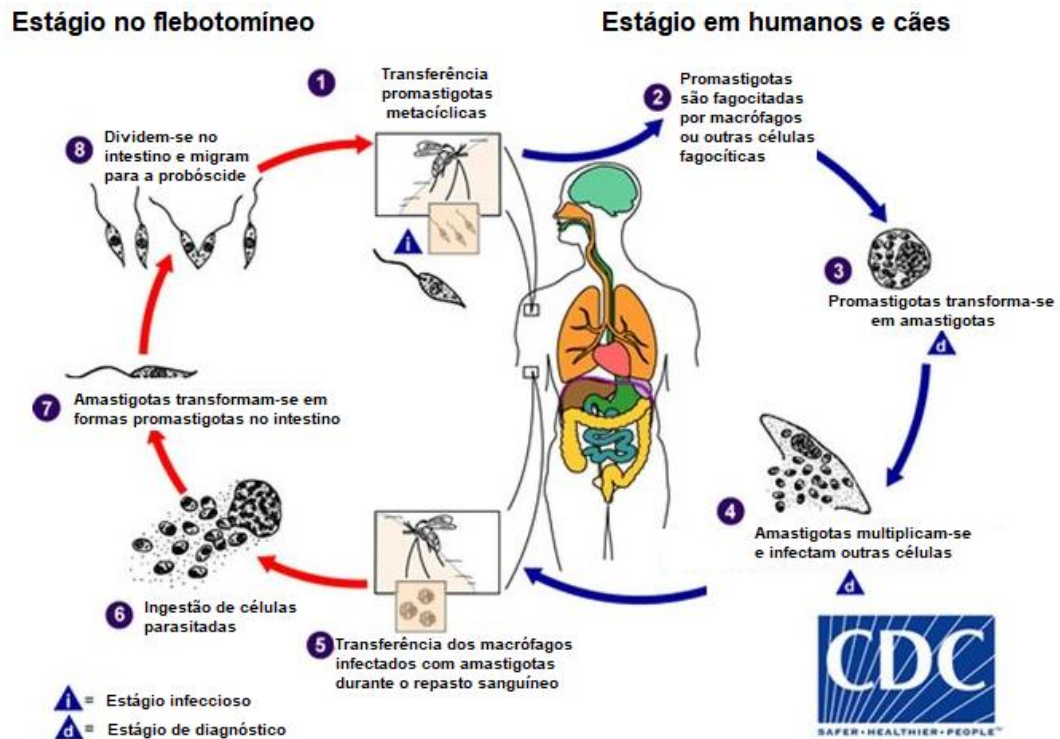


Figura 4 Ciclo biológico de *Leishmania* spp. Parasito é transmitido pela picada de flebotomíneos fêmeas infectadas. Os flebotomíneos inoculam o estágio infectante (ou seja, promastigotas) de sua probóscide durante as refeições de sangue. **1** As promastigotas inoculadas pela picada são fagocitadas por macrófagos **2** e outros tipos de células fagocitárias mononucleares. As promastigotas transformam-se no estágio tecidual do parasito (ou seja, amastigotas) **3** que se multiplicam por simples divisão e passam a infectar outras células fagocíticas mononucleares **4**. Parasito, hospedeiro e outros fatores determinarão se a infecção se tornará sintomática e se resultará em leishmaniose cutânea ou visceral. Os flebotomíneos se infectam ingerindo células infectadas durante seu repasto sanguíneo (**5**, **6**). Nos flebotomíneos, as amastigotas se transformam em promastigotas, desenvolvem-se no intestino **7** e migram para a probóscide **8**. Adaptado de CDC (2017).

2.3.4. Fatores de Risco

A leishmaniose é uma das principais doenças negligenciadas do mundo, sendo prevalente, principalmente, em populações em situação de vulnerabilidade, com pouco ou restrito acesso a serviços básicos de saúde, tendo em vista que a desnutrição e a insegurança alimentar são identificadas, muitas vezes, como as principais causas de agravo da leishmaniose (WHO, 2007), o que vem a ser bastante frequente em países em desenvolvimento (BOELAERT *et al.*, 2010).

Sem dúvida alguma, ações antropogênicas têm um papel fundamental na dinâmica da doença. A ocupação de áreas florestais e o desmatamento são importantes catalisadores do número de casos de leishmaniose, uma vez que a intervenção humana proporciona a adaptação e expansão do vetor a essas áreas

modificadas (MARZOCHI; MARZOCHI, 1994; VALE; FURTADO, 2005). Dessa forma, os surtos epidêmicos notificados no Brasil ocorrem, normalmente, em áreas de recente ocupação e intervenção humana, devido à destruição do habitat natural dos animais selvagens e dos vetores (BRASIL, 2014; WHO, 2010).

A urbanização teve um papel fundamental nessa expansão, criando condições epidemiológicas favoráveis para a manutenção do vetor em diferentes áreas, com disponibilidade de diferentes reservatórios (DINIZ *et al.*, 2008). Com isso, os principais focos de LVC são, de forma geral, localizados em bairros próximos a áreas de mata, o que viabilizaria a presença do vetor junto às residências (MARZOCHI, 1994).

Dada a importância de alguns fatores na proliferação dos vetores em áreas urbanas, como precipitação, temperatura, riqueza vegetal, presença de animais no peridomicílio e falta de saneamento básico (ALMEIDA *et al.*, 2013; BERROZPE *et al.*, 2017; BERROZPE *et al.*, 2019; SALOMÓN *et al.*, 2015), as mudanças climáticas podem modificar a distribuição da leishmaniose de três maneiras: diretamente, pelo efeito da temperatura no parasito e no desenvolvimento e competência vetorial; indiretamente, pelo efeito da temperatura e outros variáveis ambientais sobre o alcance e abundância de espécies de flebotomíneos que atuam como vetores; indiretamente, por meio de mudanças socioeconômicas que afetam a quantitativamente o contato humano com os ciclos de transmissão (READY, 2008).

Os cães, principais reservatórios urbanos da *Leishmania*, são uma preocupação ao serviço público de saúde, uma vez que, animais errantes tendem a vagar por diversas áreas, contribuindo assim para a expansão geográfica de *Leishmania*, além de dificultar o mapeamento epidemiológico da doença (AMUSATEGUI *et al.*, 2004). Dessa forma, qualquer programa de controle deve levar em consideração a importância desses animais na continuidade do ciclo de transmissão do parasito em diferentes áreas (MIRÓ *et al.*, 2017). Além disso, para que esse controle seja bem-sucedido, o programa deve envolver uma abordagem no contexto da saúde única (MARCONDES; DAY, 2019).

No que se refere à raça, cães da raça Boxer, Pastor Alemão, Dobermann e Cocker são mais acometidos pela LVC (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2003; RANQUE; QUILICI; DUNAN, 1997; ABRANCHES *et al.*, 1991), e cães da raça Ibizan Hound parecem ser mais resistentes (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2000). Cães de pelagem curta são mais acometidos que os de pelagem longa (FRANÇA-SILVA *et al.*, 2003).

No que se refere ao sexo, não há relato de predisposição (ALMEIDA *et al.*, 2009). Quanto à faixa etária, a maioria dos casos ocorre até os três anos de idade e entre oito a dez anos (ALMEIDA *et al.*, 2009; MORENO; ALVAR, 2002). Os cães de porte médio a grande são os mais susceptíveis, pois possuem uma maior área corporal, facilitando o repasto sanguíneo por parte dos flebotomíneos, além de passar maior parte do tempo fora de casa (PENAFORTE *et al.*, 2013).

2.4. *Imunopatogenia*

O período de incubação pode variar de 2 a 12 meses (OLIVEIRA; SANTORO; SADIGUSKY, 1993). Todavia, para que ocorra o desenvolvimento da doença diversas variáveis devem convergir, como a virulência do parasito, imun incompetência do hospedeiro, predisposição genética e carga parasitária (BANETH *et al.*, 2008; SANTOS-GOMES *et al.*, 2002; SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2000).

Ainda que possa infectar diversos órgãos e células diferentes, *L. infantum* apresenta tropismo pela pele e órgãos hemolinfáticos, como o baço, linfonodos, medula óssea e fígado (GREENE, 2015).

A partir da presença dos parasitos em tecidos diversos ou em regiões de tropismo, ocorrem reações inflamatórias proliferativas, comprometendo o funcionamento dos órgãos afetados e, por consequência, produzindo lesões características da LVC (ALVAR *et al.*, 2004), ocorrendo desde uma dermatite papular leve (ORDEIX *et al.*, 2005), até o comprometimento do sistema renal (COSTA *et al.*, 2003).

Em órgãos linfoides ocorre a proliferação linfoplasmohistiocitária, resultando em linfadenomegalia generalizada (KRAUSPENHAR *et al.*, 2007). No baço ocorre uma reação inflamatória crônica e difusa, com presença de macrófagos dispostos em granulomas e repletos de formas amastigotas do parasito (XAVIER *et al.*, 2006). Na medula óssea, ocorre uma hipertrofia e a hiperplasia das células (TAFURI *et al.*, 2001).

A infecção dos cães é estabelecida a partir da evasão da resposta imune natural por parte do protozoário (SACKS; SHER, 2002). Dessa forma, os promastigotas precisam evadir os dois primeiros dispositivos de defesa do sistema

imunológico: o sistema complemento e a ação fagocítica, para conseguir posterior replicação (WEIGAND *et al.*, 2004).

Para evadir o sistema complemento, na metaciclogênese algumas espécies de *Leishmania* modificam sua membrana significativamente a fim de evitar a inserção do complexo de ataque à membrana (MAC) C5b-C9 (PUENTES *et al.*, 1990). Isso ocorre através da expressão de um lipofosfoglicano (LPG) que atua como barreira contra a inserção do MAC e consequente lise (TURCO; DESCOTEAUX, 1992). Após isso, a medida em que as formas metacíclicas são diferenciadas, ocorre a síntese da proteinase de superfície gp63, a qual tem capacidade de clivar o C3b em sua forma inativada, iC3b, evitando a lise por C5b-C9 (BRITTINGHAM *et al.*, 1995). Todavia, iC3b realiza opsonização dos parasitos, facilitando a fagocitose dos mesmos, tendo em vista que os macrófagos possuem receptores para essas moléculas, como CR3 e CR1 (MOSSER; EDELSON, 1985), células nas quais ocorre que a replicação da forma infectante do parasito (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

A resposta imune celular desempenha um papel fundamental na suscetibilidade e na resistência à infecção por parte dos cães (AWASTHI; MATHUR; SAHA, 2004), através dos linfócitos T (BARBIERI, 2006; RODRÍGUEZ-CORTÉS *et al.*, 2007), divididos em quatro subgrupos de células T auxiliares (T helper-Th): Th1, Th2, Th17 e Tregs (GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE *et al.*, 2017).

Cães resistentes à infecção apresentam resposta imune celular específica e baixos níveis de anticorpos anti-*Leishmania* (PINELLI *et al.*, 1994), sendo comumente assintomáticos (TOEPP; PETERSEN, 2020). Nesses animais a ação de células Th1 é predominante, resultando na produção de citocinas como interferon gama (IFN- γ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 2 (IL-2), promovendo a ativação de macrófagos que irão levar a forma intracelular de *Leishmania* à morte através da produção de metabólitos tóxicos, como óxido nítrico (AWASTHI; MATHUR; SAHA, 2004).

Cães susceptíveis à infecção apresentem uma elevada resposta imune humoral, mediada por uma resposta mista Th1 e Th2 (ALVAR *et al.*, 2004; BANETH *et al.*, 2008), resultando em hipergamaglobulinemia e, consequentemente, no desenvolvimento de sinais clínicos (FEITOSA *et al.*, 2000). Nesses animais há uma significativa resposta Th2, com expressão de citocinas como interleucina 4 (IL-4), interleucina 5 (IL-5), interleucina 10 (IL-10) e fator de transformação do crescimento

beta (TGF- β) (RODRÍGUEZ-CORTÉS *et al.*, 2016). Dessa forma, ocorre a inativação de macrófagos, resultando na proliferação de *Leishmania* e na progressão da doença (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). Uma ilustração da resposta imune humoral na leishmaniose está representada na Figura 5.

O papel do Th17 durante a infecção por *L. infantum* é recente (N *et al.*, 2015). A principal citocina produzida por esse tipo celular é a interleucina 17 (IL-17), responsável pelo recrutamento de neutrófilos (GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE *et al.*, 2017).

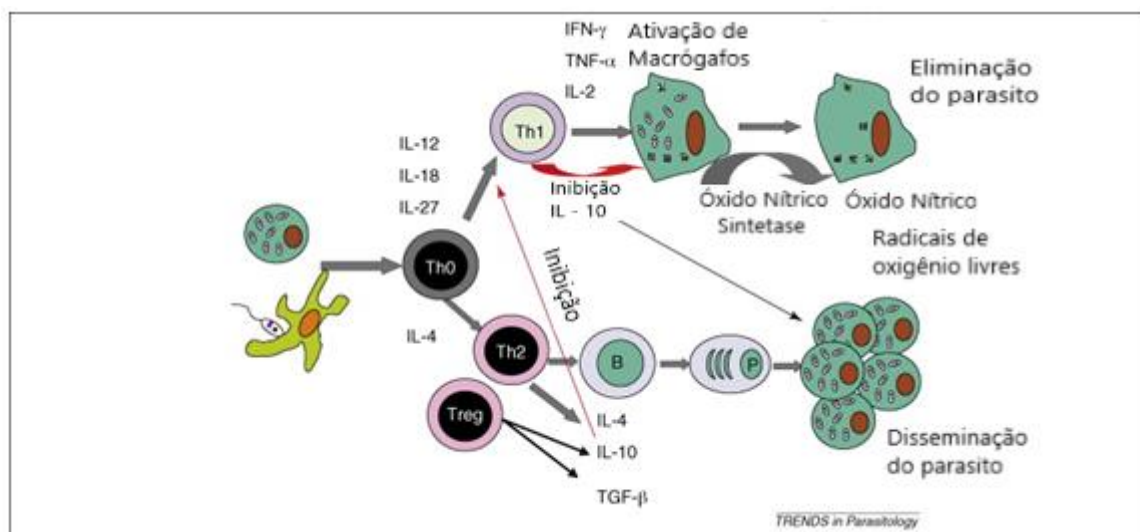


Figura 5 Resposta imune humoral na Leishmaniose Visceral Canina (LVC). Visão geral da interação complexa entre as respostas Th1 e Th2 na LVC. As respostas mistas Th1 e Th2 ocorrem em cães infectados, e assume-se que o equilíbrio entre essas respostas se inclina na direção Th2 em cães que evoluem para a doença clínica, enquanto uma atividade Th1 de proteção mais forte direciona a resistência. As citocinas IFN- γ , IL-2 e TNF- α estão relacionadas com ativação de macrófagos e a morte de parasitos por óxido nítrico (resposta Th1). Por outro lado, IL-10, TGF- β e IL-4 estão envolvidos na disseminação do parasito associada à atividade aumentada de células B (B) e plasmócitos (P) e hiperglobulinemia (resposta Th2). As respostas Th1 são reguladas negativamente pela IL-10 produzida pelas células T reguladoras (Treg). A IL-10 também é produzida por células da linhagem Th1, como moduladora da imunopatologia secundária desencadeada pela infecção, mas também previne a imunidade estéril e permite a persistência de infecção de baixo nível. Fonte: Adaptado de Baneth *et al.* (2008).

2.5. Sinais Clínicos

A LVC é uma doença em que os sinais clínicos se apresentam de diversas formas nos cães soropositivos (BRASIL, 2006). Cães susceptíveis desenvolvem resposta imune do tipo humoral e apresentam doença progressiva, manifestando apenas alguns sinais clínicos ou até a maioria deles. Cães imunocompetentes não

apresentam sinais clínicos sugestivos por desenvolverem uma resposta imune predominantemente celular (FERRER, 1999; QUINNELL *et al.*, 2001).

De acordo com os sinais clínicos, os cães são classificados em: assintomáticos, nenhuma manifestação aparente; e sintomáticos, com vários sinais clínicos (BRASIL, 2014).

Dentre os sinais clínicos mais comuns, os cães podem apresentar linfadenomegalia, onicogrifose, emagrecimento progressivo, alterações hepáticas, lesões cutâneas (nodulares, ulcerativas e pustulosas) e dermatite esfoliativa, alopecia e anemia (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). Podem ocorrer atrofia da musculatura, lesões de ponta de orelha e uveíte (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014).

Também são sinais clínicos comuns: apatia, anorexia/hiporexia, secreção ocular bilateral mucosa, ceratoconjuntivite e insuficiência renal crônica associada aos seus respectivos sinais clínicos sistêmicos (halitose, estomatite, glossite, hematoemese e melena (MATOS *et al.*, 2006).

Em estudos realizados em Recife, Pernambuco, os sinais clínicos mais frequentes foram úlceras cutâneas, seguidas de linfadenopatia, emagrecimento, onicogrifose e oftalmopatias (ALBUQUERQUE *et al.*, 2007). Outras alterações clínicas inespecíficas, neurológicas e cardíacas, podem ocorrer, como opistótono e tetania espástica (SILVA *et al.*, 2020), e miocardite, podendo esta estar relacionada com uma resposta mista Th1/Th2 do sistema imunológico do cão (COSTAGLIOLA *et al.*, 2016). Pode-se verificar também epistaxe, hematúria e diarreia hemorrágica (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014).

A principal causa da morte de cães é em decorrência da insuficiência renal (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2009). Alterações locomotoras, como poliartrite, polimiosite e até osteomielite podem ocorrer (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014).

A depender do estado imunológico do animal e a fase da doença, o hospedeiro pode apresentar condição assintomática, porém apresentando formas do parasito na pele, baço, fígado e linfonodos superficiais (SILVA, 2007). Animais com altos títulos sorológicos (>1:160) e sintomáticos possuem maior significância como fonte de infecção para os flebotomíneos, devido à maior carga de parasitos na pele, todavia, animais assintomáticos também possuem relevância como fonte de infecção (SILVA *et al.*, 2005).

2.6. Diagnóstico

A disponibilidade de testes diagnósticos rápidos e confiáveis é fundamental, considerando a alta prevalência de LVC no Brasil (MARCONDES; DAY, 2019). O método de diagnóstico ideal deve ser simples, acessível e altamente sensível (>95%). Além disso, diante do grande número de espécies de *Leishmania*, bem como de outros tripanossomatídeos, como *Trypanosoma cruzi*, é importante apresentar alta especificidade (ROSÁRIO *et al.*, 2005; TRONCARELLI *et al.*, 2009; VIOL *et al.*, 2012).

Frente aos sinais clínicos inespecíficos e, por vezes, a ocorrência de infecção assintomática, o diagnóstico da LVC é difícil e demanda investigação detalhada (LAURENTI *et al.*, 2013). Ensaio sorológicos, molecular e parasitológicos são os mais comuns para realização do diagnóstico da doença (DANTAS-TORRES *et al.*, 2010; DANTAS-TORRES *et al.*, 2018; LOMBARDI *et al.*, 2014; OTRANTO *et al.*, 2017).

Até 2011, o sacrifício de cães era baseado nos resultados de um ensaio imunoenzimático (ELISA; EIE LVC, Bio-Manguinhos) seguido de um teste de imunofluorescência (IFI; IFI LVC, Bio-Manguinhos) (BRASIL, 2011b). Por ser uma abordagem imprecisa (FRAGA *et al.*, 2016), diante da preocupação com a sensibilidade, especificidade e praticidade desses testes, o Ministério da Saúde do Brasil passou a recomendar o uso do Dual Teste Path Platform (DPP) para triagem, e do ensaio imunoenzimático (ELISA) para confirmação de LVC (BRASIL, 2014). No entanto, alguns estudos apontaram que o DPP tem menor sensibilidade em animais assintomáticos (GRIMALDI JR *et al.*, 2012).

Um diagnóstico rápido e assertivo descarta sacrifícios desnecessários, muitos deles por diagnóstico de cães falso-positivos, assim como a manutenção de animais falso-negativos, os quais acabam por permanecer como reservatórios viáveis do parasito, contribuindo com a disseminação do mesmo (LEANDRO-JÚNIOR, 2014).

2.6.1. Parasitológico

Dentre os métodos de diagnóstico, o parasitológico é o método padrão ouro, baseado na visualização de formas amastigotas por microscopia, por meio de cortes

histológicos ou esfregaços de aspirado de baço, fígado, pele, linfonodos e medula óssea, tendo como locais de preferência para a coleta o úmero proximal, crista ilíaca, fossa trocantérica do fêmur e esterno (COWELL; TYLER, 2009; GRIMALDI JR.; TESH, 1993). Os materiais biológicos podem ser corados com Giemsa ou Leishman, resultando em um citoplasma azul pálido, com um núcleo relativamente grande que se cora de vermelho (SUNDAR; RAI, 2002).

Apesar de apresentar uma alta especificidade, a sensibilidade varia entre 60% a 75% nos aspirados de medula óssea e de 40% a 50% em linfonodos (ALVAR *et al.*, 2004). Dessa forma, resultados falso-negativos podem ocorrer, seja pelo número muito baixo de parasitos em amostras clínicas (medula óssea e linfonodos) ou porque a identificação morfológica é difícil (GOMES *et al.*, 2008), especialmente em animais assintomáticos, nos quais apenas poucas formas amastigotas estão presentes nos tecidos (LAURENTI, 2009). A cultura do parasito *in vitro* pode melhorar a sensibilidade de detecção do parasito, porém, por consistir em uma técnica mais laboriosa e de diagnóstico mais tardio, raramente é utilizada em clínicas (SUNDAR; RAI, 2002). Também podem ser realizada uma avaliação histopatológica e imunohistoquímica através de amostras de medula óssea do fêmur e manúbrio esternal (MAGALHÃES *et al.*, 2022), todavia a realização dessas técnicas requer experiência e treinamento (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022).

2.6.2. Sorológico

A detecção no soro de anticorpos específicos contra antígenos do parasito pode ser efetuada, por testes como ELISA e Imunocromatografia (LIRA, 2005), sendo este o protocolo preconizado pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 2011b).

Os testes sorológicos visam detectar a presença de anticorpos IgG anti-*Leishmania* no soro de cães infectados (GOMES *et al.*, 2008). A eleição de métodos sorológicos baseia-se na resposta humoral exacerbada na LVC, com altos níveis de imunoglobulinas (MAIA; CAMPINO, 2008).

Dentre os testes possíveis, a técnica ELISA é uma opção, caracterizando-se por resultar em uma ligação específica entre anticorpos presentes em material biológico com antígenos de *Leishmania* solúveis e purificados obtidos de culturas *in*

vitro (BRASIL, 2014). Todavia, a técnica de ELISA tem como limitação a possibilidade de apresentar reação cruzada, devido a infecções concomitantes (FERREIRA *et al.*, 2007).

O DPP® trata-se de um teste imunocromatográfico, o qual tem como metodologia a combinação de proteína A conjugada com partículas de ouro coloidal e antígenos específicos de *L. infantum* recombinantes ligados a uma membrana de nitrocelulose (SUNDAR; RAI 2002). Havendo anticorpos anti-*L. infantum* na amostra analisada, eles sofrerão reação com antígenos recombinantes (K28) e então se ligam a partículas de ouro coloidal acopladas à proteína A, que será medido por uma reação de cor (CASTRO-JÚNIOR *et al.*, 2014; LEAL *et al.*, 2018), o que acaba lhe conferindo bastante praticidade, sendo bastante adequado para a realização do diagnóstico a campo (PATTABHI *et al.*, 2010).

Dentre as vantagens do teste DPP® destacam-se a velocidade em produzir resultados em condições de campo, utilizando amostras de sangue periférico, podendo ser processado em laboratório com amostras de soro ou plasma (BRASIL, 2011b). Testes rápidos possibilitam realizar análises de um grande número de animais em tempo reduzido, aplicação em inquéritos epidemiológicos a custo relativamente baixo (GRIMALDI JR *et al.*, 2012; PINTO; RIBEIRO; TAFURI, 2016).

Comparativamente, a diferença entre esses dois métodos de diagnóstico parte da composição. O DPP® utiliza dois antígenos recombinantes proteicos (rK39 e rK26), apresentando alta sensibilidade para o diagnóstico de cães sintomáticos (98%), porém a sensibilidade para detecção de cães assintomáticos é baixa (47%), fazendo-se necessário o emprego de métodos de diagnóstico complementares (GRIMALDI *et al.*, 2012). No que se refere ao ELISA, diferentemente do imunocromatográfico, o teste utilizado com antígenos brutos do tipo *L. major*, o que lhe confere uma maior abrangência devido às semelhanças antigênicas entre espécies de *Leishmania* (OLIVEIRA *et al.*, 2016; PEIXOTO; OLIVEIRA; ROMERO, 2015), podendo ser observadas sensibilidade e especificidade, tanto em cães sintomáticos quanto em assintomáticos, de 91,84% e 83,57% para o antígeno *L. major*, respectivamente (ARRUDA *et al.*, 2013). Todavia, a ocorrência de falsos positivos em ambos os testes é possível, em decorrência, principalmente, a reações cruzadas com outros tripanossomatídeos (ALVES, *et al.*, 2012; OLIVEIRA *et al.*, 2016; ZANETTE *et al.*, 2014).

Dessa forma, ao relacionar os efeitos imunológicos causados pelo parasito, como a elevação dos níveis plasmáticos de IgG e IgM contra várias proteínas inespecíficas, e a especificidade dessas imunoglobulinas, pode-se concluir que a sensibilidade do método de diagnóstico pode depender do teste e sua metodologia, mas a especificidade dependerá do antígeno ou epítipo usado no teste, e não tanto do procedimento sorológico utilizado (SUNDAR; RAI 2002).

2.6.3. Molecular

Um método de diagnóstico alternativo aos usualmente utilizados, como os parasitológicos e sorológicos, é a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), principalmente no que se refere a cães assintomáticos (BERRAHAL *et al.*, 1996). A técnica utiliza como alvo principal o DNA de cinetoplasto (kDNA) (AZMI *et al.*, 2011) permitindo, inclusive, distinguir diferentes espécies de *Leishmania*, o que vem a contribuir com o controle e vigilância do parasito (GOMES *et al.*, 2007).

Além disso, o método pode atingir sensibilidade de 98% (QUINELL *et al.*, 2001), e especificidade de 100% (FISA *et al.*, 2008). Todavia, a sensibilidade e especificidade da PCR podem ser afetadas por diversos fatores, como a escolha dos *primers*, tipo de amostra biológica, quantidade de parasitos circulantes e presença de inibidores (LACHAUD *et al.*, 2001). A fim de se evitar isso, medidas como a recuperação do DNA presente nas amostras e o processamento rápido das amostras, preferencialmente dentro de 48h após a coleta, a fim de se evitar qualquer inibição da *Taq* polimerase, podem ser adotadas (GOMES *et al.*, 2007).

Diversos materiais biológicos podem ser utilizados para a realização do diagnóstico, como pele, conjuntiva (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2001) Todavia, a biópsia de medula óssea é o material de eleição, bem como aspirados de linfonodos e pele (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). A utilização de sangue periférico da orelha também é possível (NEITZKE-ABREU *et al.*, 2020), embora a carga parasitária em amostras de medula óssea e linfonodos seja maior (CORPAS-LÓPEZ *et al.*, 2016).

Ainda que seja uma técnica de elevada acurácia, os custos com equipamento e mão-obra limitam o acesso à ferramenta (TRAVI *et al.*, 2018).

2.7. Prevenção e Controle

Ainda que o cão doméstico seja incriminado como o principal reservatório da leishmaniose no ciclo urbano, medidas de controle baseadas no sacrifício de cães soropositivos não se mostraram eficazes no Brasil (VELOSO *et al.*, 2021). Pensando no contexto da saúde única, Dantas-Torres *et al.* (2019) destacam que essa medida, é ineficaz, devendo ser substituída por ações conjuntas, de forma a abordar todas as esferas relacionadas a LVC, e não somente o cão.

Outra medida com pouca eficácia é o controle de vetores com inseticidas residuais, medida essa que também é adotada como prática no país (ROMERO; BOELAERT, 2010). Uma alternativa ao controle de vetores por meio de inseticidas residuais e do próprio sacrifício, é o uso de inseticidas tópicos para cães (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013), medida essa de comprovada eficácia (BRIANTI *et al.*, 2016; COURTENAY *et al.*, 2019; KAZIMOTO *et al.*, 2018). Em estudo realizado por Alves *et al.* (2020), no qual foi avaliada a eficácia do uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4%, demonstrou eficácia na redução do risco de LVC em 48% entre os cães domiciliados na área de intervenção em comparação com as áreas de controle. Porém, os mesmos autores recomendam que mais estudos sobre custo-efetividade sejam realizados antes de incorporá-los ao Programa Brasileiro de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.

Para se empregar medidas de controle eficazes, a identificação de animais positivos também deve ser eficiente (ROMERO; BOELAERT, 2010). Soma-se a essa problemática o alto número de cães errantes, os quais podem desempenhar um papel de manutenção do parasito em áreas endêmicas (OTRANTO; DANTAS-TORRES, 2013). Para isso, intervenções que promovam a guarda responsável de animais de estimação podem ser práticas mais eficazes do que o sacrifício, além de contribuir no controle da população de cães e na disseminação do parasito (MELO *et al.*, 2018).

Levando em consideração a dinâmica da doença, o controle da leishmaniose deve, portanto, levar em considerações dois pontos importantes para que se obtenham resultados eficazes, sendo eles: a sazonalidade da variação da população de flebotomíneos e o número de cães infectados (DYE; VIDOR; DEANE, 1993).

Outro problema é a incumbência desse controle aos municípios, os quais, muitas vezes, não possuem capacidade estrutural, orçamentária ou quadro de servidores suficientes para atender às necessidades que uma doença tão complexa como a leishmaniose exige (NASCIMENTO *et al.*, 2008; ZUBEN; DONALÍSIO, 2016).

No Brasil, o uso de Milteforan™ (Virbac, Jurubatuba, SP, Brasil) para o tratamento de cães infectados é autorizado, dando uma alternativa além do sacrifício (MAPA, 2016). O tratamento clínico proporciona uma redução dos sinais clínicos e da carga parasitária (NOGUEIRA *et al.*, 2019), mas não resulta em cura parasitológica do animal (MIRÓ *et al.*, 2009).

O desenvolvimento, distribuição e uso de vacinas contra a LVC pode fornecer uma barreira profilática (MARCONDES *et al.*, 2011). Porém, ainda que a vacinação possa resultar na melhora dos sinais clínicos e na redução da carga parasitária, a eliminação do parasita não ocorre (GONÇALVES *et al.*, 2019), além de não prevenir a infecção (SANTOS, 2021).

Porém, a resposta imunológica produzida em cães vacinados não os distingue da resposta imune ocasionada pela infecção natural, inviabilizando a realização de testes sorológicos, muitos deles empregados por órgãos oficiais brasileiros para o diagnóstico da leishmaniose, podendo resultar no diagnóstico errôneo dos animais e remoção (MARCONDES *et al.*, 2013).

A LVC é uma doença inserida no contexto da saúde única, sendo assim, é necessário um maior entendimento da dinâmica da doença, bem como implementar estratégias juntamente da comunidade em áreas endêmicas, identificando os fatores de risco associados à infecção (DESJEUX, 2004).

Do ponto de vista legal, tramita no Congresso Nacional Brasileiro o Projeto de Lei 1738/11, o qual dispõe sobre a Política Nacional de Vacinação contra a Leishmaniose Animal. Conforme o texto aprovado, será instituída a Política Nacional de Vacinação contra a Leishmaniose Animal com a finalidade de prevenir a doença. De acordo com o texto, a vacinação gratuita de animais será obrigatória em todo o País. Além disso, haverá campanha de divulgação sobre a doença, distribuição de coleiras impregnadas com inseticida, capacitação de profissionais para diagnóstico precoce, incentivo à pesquisa de novas vacinas, investimento em laboratórios para imunologia e anatomia patológica, monitoramento contínuo dos hospedeiros, realização de inquéritos sorológicos anuais e monitoramento de eventuais cepas

resistentes. O projeto tramita em caráter conclusivo e está sendo analisado pela comissão de Finanças e Tributação (CÂMARA DOS DEPUTADOS DO BRASIL, 2018).

2.7.1. Prevenção e Controle da Leishmaniose Visceral Canina no Contexto da Saúde Única

O controle da LVC deve utilizar uma abordagem dentro da Saúde Única, que tem como uma de suas bases à integração e aproximação entre partes as interessadas a fim de se discutir e buscar soluções para a problemática, que no caso da LVC incluem tutores de cães, médicos veterinários e a comunidade como um todo (VILAS *et al.*, 2014). Na perspectiva da Saúde Única, o controle microbiológico realizado em bolsas de sangue de doadores humanos praticamente eliminou o risco de infecção por esta via, exemplificando a necessidade de uma maior unificação entre a saúde humana e animal (MIRÓ; LÓPEZ-VÉLEZ, 2018).

O emprego de métodos de diagnóstico precisos e acessíveis, bem como a implementação de vigilância em animais sentinelas também compõem medidas inseridas na esfera da Saúde Única (HONG *et al.*, 2020). Outra medida fundamental é a capacitação e treinamento dos profissionais em Saúde Única, o que permite a esses profissionais o preparo necessário para enfrentamento de doenças endêmicas, emergentes e reemergentes (LEANDRO *et al.*, 2021).

O controle de vetores é fundamental no que se refere à LVC e Saúde Única, principalmente por sua grande adaptabilidade a diferentes ambientes (FELICIANGELI, 2004; MISSAWA; LOROSA; DIAS, 2008; OLIVEIRA *et al.*, 2003; WERNECK *et al.*, 2007), ocasionado por ações antrópicas (OLIVEIRA; ARAÚJO, 2003), como ondas migratórias e desmatamento (WHO, 2022). A existência de outras espécies de flebotomíneos competentes na transmissão de *Leishmania*, como *Lutzomyia cruzi*, deve incitar mais pesquisas entomológicas (MISSAWA *et al.*, 2011). De mesma forma, a realização de repasto sanguíneo em diferentes espécies animais por parte dos flebotomíneos deve fomentar uma maior investigação por reservatórios de *Leishmania* menos usuais (BOURDEAU; ROWTON; PETERSEN, 2020).

O grande número de cães assintomáticos (GARCÍA-CASTRO *et al.*, 20220), além da elevada quantidade de animais errantes dificulta o controle da LVC, aumentando a pressão sobre o sistema de saúde (AMUSATEGUI *et al.*, 2004). Dessa forma, o emprego de métodos de diagnóstico rápidos e confiáveis é fundamental, pois possibilita a identificação de cães positivos (LEANDRO-JÚNIOR, 2014).

OBJETIVOS

3.1. Geral

- Determinar a soroprevalência da infecção por *Leishmania infantum* na região sudeste de Mato Grosso, Brasil.

3.2. Específicos

- Detectar anticorpos anti- *Leishmania infantum* em cães na cidade de Primavera do Leste, Mato Grosso, Brasil.

4. REFERÊNCIAS

- ABRANCHES, P. *et al.* Canine Leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. **Journal of Parasitology**, v. 77, n. 4, p. 557-561, 1991.
- AFONSO, M. M. S. *et al.* Studies on the feeding habits of *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) Populations from Endemic Areas of American Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. **Journal of Tropical Medicine**, v. 2012, n. 2012, p. 1-5, 2012.
- AGUIAR, G. M.; MEDEIROS, W. M. Distribuição e habitats. In: RANGEL, E. F.; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, cap. 3, p. 207-255. 2003.
- AKHOUNDI, A. *et al.* Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 57, p. 1-29, 2017.
- AKHOUNDI, M. *et al.* A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, e0004349, 2016.
- ALBUQUERQUE, A. R. *et al.* Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* na região metropolitana do Recife. **Clínica Veterinária**, Ano XII, n. 71, 2007.
- ALENCAR, J. E.; DIETZE, R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: VERONESI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 706-717, 1991.
- ALMEIDA, A. B. P. F. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 21, n. 4, p. 359-365, 2012.
- ALMEIDA, A. B. P. F. *et al.* 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.
- 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**, v. 40, n. 7, P. 1610-1615, 2010.
- ALMEIDA, P. S. **Distribuição geográfica das espécies de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) na região Centro-Oeste, Brasil**. 2015. 164f. Tese (Doutorado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade do Programa de Pós-Graduação em Entomologia e Conservação da Biodiversidade da Faculdade de Ciências Biológicas e Ambientais) – Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados, 2015.
- ALMEIDA, P. S. *et al.* Fauna of phlebotomine sand flies (Diptera, Psychodidae) in areas with endemic American cutaneous leishmaniasis in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 57, n. 1, p.105-112, 2013.
- ALMEIDA, P. S. *et al.* Espécies de flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) coletadas em ambiente urbano em municípios com transmissão de Leishmaniose Visceral do

Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 54, n. 2, p. 304-310, 2010.

ALVAR, J. *et al.* Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 57, p. 1–88, 2004.

ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, v. 7, n. 5, e35671, 2012.

ALVES, A. S. *et al.* Evaluation of serological crossreactivity between canine visceral leishmaniasis and natural infection by *Trypanosoma caninum*. **Research in Veterinary Science**, v. 93, p. 1329-1333, 2012.

ALVES, E. B. *et al.* Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 182, 105104, 2020.

AMUSATEGUI, I. *et al.* Seroprevalence of *Leishmania infantum* in northwestern Spain, an area traditionally considered free of leishmaniasis. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1026, p. 154-157, 2004.

ARRUDA, M. M. *et al.* Validity and Reliability of Enzyme Immunoassays Using *Leishmania major* or *L. infantum* Antigens for the Diagnosis of Canine Visceral Leishmaniasis in Brazil. **PLoS ONE**, v. 8, n. 7, e69988, 2013.

ARRUDA, M. M. Leishmanioses. In: **Manual de Zoonoses**. 4 ed. CRMV-PR, p. 68-90. 2010.

ASFARAM, S.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v. 25, e20190012, 2019.

ÁVILA, I. R. *et al.* Occurrence of human visceral leishmaniasis in the Central-West region of Brazil: A systematic review. **Acta Tropica**, v. 237, 106707, 2023.

AWASTHI, A.; MATHUR, R. K.; SAHA, B. Immune response to *Leishmania* infection. **The Indian Journal of Medical Research**, v. 119, n. 6, p. 238-258, 2004.

AZEVEDO, E. M. R. *et al.* Estudo da leishmaniose visceral canina no município de Goiânia, Goiás, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 40, n. 2, p. 159-168, 2011.

AZEVEDO, M. A. A. *et al.* Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 17, n. 3, p. 123-127, 2008.

AZMI, K. *et al.* Methods incorporating a polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism and their use as a 'gold standard' in diagnosing Old World cutaneous leishmaniasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, v. 71, n. 2, p. 151-155, 2011.

BANETH, G. Canine leishmaniasis. In: WORLD SMALL ANIMAL VETERINARY CONGRESS, 35., 2010, Geneva. **Proceedings...** Ed. Geneva: Switzerland, 2010.

BANETH, G. *et al.* Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

- BANETH, G.; SOLANO-GALLEGOS, L. Leishmanioses. In: GREENE, C. **Infectious diseases of the dog and cat**. New York: Elsevier, p. 734-749, 2012.
- BARBIÉRI, C. L. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 7, p. 329-337, 2006.
- BARBOSA, D. S. Factors associated with *Leishmania infantum* infection in dogs from urban areas endemic for visceral leishmaniasis in Brazil. **Research in Veterinary Science**, v. 152, p. 651-656, 2022.
- BARBOSA, J. M. **Aglutinação de *Leishmania amazonensis* induzida por lectinas como método para purificação de promastigotas metacíclicas**. 2012. 82 f. Dissertação (Mestrado em Patologia) - Faculdade de Medicina. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.
- BARUFFA, G.; CURY, P. Contribuição ao estudo do calazar em Mato Grosso. **Revista de Patologia Tropical**, v. 2, p. 345-361, 1973.
- BATES, P. A. Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 10, p. 1097-1106, 2007.
- BENTO, G. K. C. **Pesquisa de infecção natural por *Leishmania* spp. em cães do município de Rio Branco, Acre, Brasil**. 2019. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Animal) - Programa de Pós-Graduação em Sanidade e Produção Animal Sustentável na Amazônia Ocidental. Universidade Federal do Acre, Rio Branco, 2019.
- BERENGUER, L. K. A. R. *et al.* *Leishmania infantum* Infection in a Domestic Cat: A Real Threat or an Occasional Finding?. **Acta Parasitologica**, v. 66, p. 673-676, 2021.
- BERRAHAL, F. *et al.* Canine leishmaniasis: identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 55, n. 3, p. 273-277, 1996.
- BERROZPE, P. E. *et al.* Environmental suitability for *Lutzomyia longipalpis* in a subtropical city with a recently established visceral leishmaniasis transmission cycle, Argentina. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, n. 10, p. 674-680, 2017.
- BERROZPE, P. E. *et al.* Spatiotemporal dynamics of *Lutzomyia longipalpis* and macro-habitat characterization using satellite images in a leishmaniasis-endemic city in Argentina. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 1, p. 89-98, 2019.
- BOECHAT, V. C. *et al.* Occurrence of *Leishmania infantum* and associated histological alterations in the genital tract and mammary glands of naturally infected dogs. **Parasitology Research**, v. 115, n. 6, p. 2371-2379, 2016.
- BOELAERT, M. *et al.* Socio-economic aspects of neglected diseases: sleeping sickness and visceral leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 104, n. 7, p. 535-542, 2010.
- BOGGIATTO, P. M. *et al.* Transplacental Transmission of *Leishmania infantum* as a Means for Continued Disease Incidence in North America. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 5, n. 4, e1019, 2011.
- BOURDEAU, P.; ROWTON, E.; PETERSEN, C. Impact of different *Leishmania* reservoirs on sand fly transmission: Perspectives from

Xenodiagnosis and other one health observations. **Veterinary Parasitology**, v. 287, 109237, 2020.

BRASIL, Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**, Ministério da Saúde, Brasília, 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral, Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas: 1990 a 2010**, Ministério da Saúde, Brasília, 2011a.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da Leishmaniose Visceral**, Ministério da Saúde, Brasília, 2022.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Esclarecimento Sobre Substituição Do Protocolo Diagnóstico Da Leishmaniose Visceral Canina; Nota Técnica Conjunta nº 01/2011**, Ministério da Saúde, Brasília, 2011b.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância Da Leishmaniose Tegumentar**, Ministério da Saúde, Brasília, 2017.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**, Ministério da Saúde, Brasília, 2014.

BRAZIL, R. P.; BRAZIL, B. G. Biologia de flebotomíneos neotropicais. In: RANGEL, E. F; LAINSON, R. **Flebotomíneos do Brasil**. Rio de Janeiro: Fiocruz, p. 257-274, 2003.

BRIANTI, E. *et al.* Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniosis in a Highly Endemic Area. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 9, e0004987, 2016.

BRITTINGHAM, A. *et al.* Role of the *Leishmania* surface protease gp63 in complement fixation, cell adhesion, and resistance to complement-mediated lysis. **Journal of Immunology**, v. 155, n. 6, p. 3102–3111, 1995.

CÂMARA DOS DEPUTADOS DO BRASIL. **Agricultura aprova vacinação obrigatória e de graça contra leishmaniose animal**. Agência Câmara de Notícias, 2018. Disponível em: <https://www.camara.leg.br/noticias/549884-agricultura-aprova-vacinacao-obrigatoria-e-de-graca-contraleishmaniose-animal/>. Acesso em: 28 jul. 2022.

CAMIÁ, R. P. *et al.* Foco de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, supl. II, p. 127-128, 1999.

CARVALHO, M. R. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: perception, prevalence, and spatial distribution in municipality of Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 29, n. 2, e021019, 2020.

CARVALHO, M. S. L. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) em áreas de ocorrência de leishmaniose tegumentar americana no Distrito Federal, Brasil, 2006 a 2008. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 19, n. 3, p. 227-237, 2010.

CASTRO-JÚNIOR, J. G. *et al.* Evidence of *Leishmania (Leishmania) infantum* infection in dogs from Juiz de Fora, Minas Gerais State, Brazil, based on immunochromatographic dual-path platform (DPP®) and PCR assays. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 56, n. 3, p. 225-229, 2014.

CDC – Centers for Disease Control and Prevention. DPDx - Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern: **Leishmaniasis**. 2017. Disponível em: <https://www.cdc.gov/dpdx/leishmaniasis/index.html>. Acesso em: 31 jul. 2022.

COLOMBO, F. A. *et al.* Detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* RNA in fleas and ticks collected from naturally infected dogs. **Parasitology Research**, v. 109, n. 2, p. 267–274, 2011.

CORPAS-LÓPEZ, V. *et al.* Hair parasite load as a new biomarker for monitoring treatment response in canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 223, p. 20–25, 2016.

COSTA, C. H. N.; PEREIRA, H. F.; ARAUJO, M. V. Epidemia de leishmaniose visceral no Estado do Piauí, Brasil, 1980-1986. **Revista de Saúde Pública**, v. 24, n. 5, p. 361–372, 1990.

COSTA, D. N. C. C. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Araçatuba, state of São Paulo, Brazil, and its relationship with characteristics of dogs and their owners: a cross-sectional and spatial analysis using a geostatistical approach. **BMC Veterinary Research**, v. 14, 229, 2018.

COSTA, F. A. *et al.* Histopathologic Patterns of Nephropathy in Naturally Acquired Canine Visceral Leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v. 40, n. 6, p. 677–684, 2003.

COSTAGLIOLA, A. *et al.* Immunopathological Features of Canine Myocarditis Associated with *Leishmania infantum* Infection. **BioMed Research International**, v. 2016, 8016186, 2016.

COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

COURTENAY, O. *et al.* Insecticide-impregnated dog collars reduce infantile clinical visceral leishmaniasis under operational conditions in NW Iran: A community-wide cluster randomised trial. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 13, n. 3, e0007193, 2019.

COUTINHO, M. T. Z.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, v. 147, n. 3-4, p. 320–325, 2007.

COWELL, R. L.; TYLER, R. D. **Diagnostic cytology and hematology of the horse**. E-Book. Amsterdam: Elsevier Health Sciences, 2009.

DANTAS-TORRES, F. Canine leishmaniosis in South America. **Parasites & Vectors**, v. 2, n. 1, p. 1–8, 2009.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Canine Leishmaniasis Control in the Context of One Health. **Emerging Infectious Diseases**, v. 25, n. 12, p. 1–4, 2019.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Cutaneous and visceral leishmaniosis in dogs from a rural community in northeastern Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 170, n. 3-4, p. 313–317, 2010.

DANTAS-TORRES, F. *et al.* Level of agreement between two commercially available rapid serological tests and the official screening test used to detect *Leishmania* seropositive dogs in Brazil. **The Veterinary Journal**, v. 234, p. 102–104, 2018.

DANTAS-TORRES, F. Ticks as vectors of *Leishmania* parasites. **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 155–159, 2011.

DANTAS-TORRES, F; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 27, n. 5, p. 305–318, 2004.

DIAS, A. F. L. R. *et al.* Seroprevalence and spatial analysis of canine visceral Leishmaniasis in the Pantanal Region, Mato Grosso State, Brazil. **Journal of Zoonotic Diseases and Public Health**. v. 1, n. 1:3, 2017.

DIAS, F. O. P.; LOROSA, E. S.; REBÊLO, J. M. M. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 5, p. 1373-1380, 2003.

DIAS, R. C. F. *et al.* Autochthonous canine visceral leishmaniasis cases occur in Paraná state since 2012: isolation and identification of *Leishmania infantum*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 29, n. 1, e009819, 2020.

DIAS-LIMA, A. G.; GUEDES, M. L. S.; SHERLOCK, I. A. Horizontal stratification of the sand fly fauna (Diptera: Psychodidae) in a transitional vegetation between caatinga and tropical rain forest, state of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 98, n. 6, p. 733-737, 2003.

DINIZ, S. A. *et al.* Animal reservoirs for visceral leishmaniasis in densely populated urban areas. **Journal of Infection in Developing Countries**, v. 2, n. 1, p. 24-33, 2008.

DUARTE, J. L. S. **Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose visceral no Município de Rondonópolis, Mato Grosso, 2003- 2008**. 2010. 116f. Dissertação (Mestrado em Saúde Coletiva do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo) - Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo, São Paulo, 2010.

DUPREY, Z. H. *et al.* Canine Visceral Leishmaniasis, United States and Canada, 2000–2003. **Emerging Infectious Diseases**, v. 12, n. 3, p. 440-446, 2006.

DYE, C.; VIDOR, E.; DEANE, M. P. Serological diagnosis of leishmaniasis: on detecting infection as well as disease. **Epidemiology and Infection**, v. 110, n. 3, p. 647-657, 1993.

ESTEVAM, L. G. T. M. *et al.* *Leishmania infantum* infection rate in dogs housed in open-admission shelters is higher than of domiciled dogs in an endemic area of canine visceral leishmaniasis. Epidemiological implications. **Acta Tropica**, v. 232, 106492, 2022.

EVANGELISTA, L. S. M. *et al.* Leishmaniose visceral canina no Estado de Roraima. **PUBVET**, v. 3, n. 2, Art#484, 2009.

FALQUETO, A.; SESSA, P. A. Leishmaniose Tegumentar Americana. In: VERONESI, R.; FOCACCIA, R. **Tratado de infectologia**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, v. 1, p. 1543-1557, 2005.

FARIA, M. T. *et al.* Autochthonous case of Canine Visceral Leishmaniasis in a non-endemic area in Minas Gerais, Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 12, p. 1505-1508, 2017.

- FEITOSA, M. M. *et al.* Clinical aspects of dogs with visceral leishmaniasis from Araçatuba-São Paulo State (Brazil). **Clínica Veterinária**, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.
- FELICIANGELI, M. D. Natural breeding places of phlebotomine sandflies. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 18, n. 1, p. 71-80, 2004.
- FELICIANGELI, M. D.; CASTEJON, O. C.; LIMONGI, J. Egg surface ultrastructure of eight New World phlebotomine sand fly species (Diptera: Psychodidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 30, n. 4, p. 65-656, 1993.
- FERREIRA, E. C. *et al.* Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. **Veterinary Parasitology**, v. 146, n. 3-4, p. 235-241, 2007.
- FERREIRA, M. G. P. A. *et al.* Potential role for dog fleas in the cycle of *Leishmania* spp. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 150-154, 2009.
- FERRER, L. M. Clinical aspects of canine leishmaniasis: an update. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, Barcelona, Spain. **Proceedings...**Ed. Wiesbaden: Hoechst Roussel Vet, 1999. p. 6-10.
- FISA, R. *et al.* *Leishmania infantum* DNA detection in urine from patients with visceral leishmaniasis and after treatment control. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 78, n. 5, p. 741-744, 2008.
- FRAGA, D. B. *et al.* The rapid test based on *Leishmania infantum* chimeric rK28 protein improves the diagnosis of canine visceral leishmaniasis by reducing the detection of false-Positive dogs. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, e0004333, 2016.
- FRAGA, J. *et al.* Phylogeny of *Leishmania* species based on the heat-shock protein 70 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, v. 10, n. 2, p. 238-245, 2010.
- FRANÇA-SILVA, J. C. *et al.* Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 111, n. 2-3, p. 161-173, 2003.
- GALATI, E. A. B. *et al.* Phlebotomines (Diptera: Psychodidae) in forested areas of the Serra da Bodoquena, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 2, p. 175-193, 2006.
- GALATI, E. A. B. Phlebotominae (Diptera, Psychodidae): Classification, Morphology and Terminology of Adults and Identification of American Taxa. In: RANGEL, E.; SHAW, J. **Brazilian Sand Flies**. Fiocruz: Rio de Janeiro, p. 9-212, 2018.
- GALVIS-OVALLOS, F. *et al.* Detection of *Pintomyia fischeri* (Diptera: Psychodidae) With *Leishmania infantum* (Trypanosomatida: Trypanosomatidae) Promastigotes in a Focus of Visceral Leishmaniasis in Brazil. **Journal of Medical Entomology**, v. 58, n. 2, p. 830-836, 2021.
- GARCÍA-CASTRO, A. *et al.* Humoral and Cellular Immune Response in Asymptomatic Dogs with Visceral Leishmaniasis: A Review. **Vaccines**, v. 10, n. 6, p. 947, 2022.
- GARIN, Y. J. *et al.* Virulence of *Leishmania infantum* is expressed as a clonal and dominant phenotype in experimental infections. **Infection and Immunity**, v. 69, n. 12, p. 7365-7373, 2001.

- GÓES, M. A. O.; MELO, C. M.; JERALDO, V. L. S. Série temporal da leishmaniose visceral em Aracaju, estado de Sergipe, Brasil (1999 a 2008). **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 15, n. 2, p. 298-230, 2012.
- GOMES, A. H. S. *et al.* PCR identification of *Leishmania* in diagnosis and control of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 144, n. 3-4, p. 234-241, 2007.
- GOMES, Y. M. *et al.* Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. **The Veterinary Journal**, v. 175, n. 1, p. 45–52, 2008.
- GONÇALVES, A. A. M. *et al.* An Overview of Immunotherapeutic Approaches Against Canine Visceral Leishmaniasis: What Has Been Tested on Dogs and a New Perspective on Improving Treatment Efficacy. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, 427, 2019.
- GONÇALVES-DE-ALBUQUERQUE, S. D. C. *et al.* The Equivocal Role of Th17 Cells and Neutrophils on Immunopathogenesis of Leishmaniasis. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 1437, 2017.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- GREENE, C. E.; **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4ª edição. ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2015.
- GRIMALDI JR, G. *et al.* Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on dual-path platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 106, n. 1, p. 54-59, 2012.
- GRIMALDI JR, G.; TESH, R. B. Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. **Clinical microbiology reviews**, v. 6, n. 3, p. 230–250, 1993.
- HAMILTON, J. G. C.; HURD, H. Parasite manipulation of vector behaviour. In: LEWIS, E. E.; CAMPBELL, J. F.; SUKHDEO, M. V. K. **The Behavioural Ecology of Parasites**. London: CABI International, p. 259-281, 2002.
- HARHAY, M. O. *et al.* Urban parasitology: visceral Leishmaniasis in Brazil. **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 9, p. 403-409, 2011.
- HONG, A. *et al.* One Health Approach to Leishmaniasis: Understanding the Disease Dynamics through Diagnostic Tools. **Pathogens**, v. 9, n. 10, 809, 2020.
- HOSEIN, S. *et al.* Transcription of Toll-Like Receptors 2, 3, 4 and 9, FoxP3 and Th17 Cytokines in a Susceptible Experimental Model of Canine *Leishmania infantum*. **PLoS One**, v. 10, n. 10, e0140325, 2015.
- HUEB, M. *et al.* Ocorrência de Transmissão Autóctone de Leishmaniose Visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 29, n. 3, p. 281-282, 1996.
- HURD, H. Manipulation of medically important insect vectors by their parasites. **Annual Review of Entomology**, v. 48, n. 1, p. 141-161, 2003.
- JULIÃO, F. S. *et al.* Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 27, n. 8, p. 319-324, 2007.

- KAZIMOTO, T. A. *et al.* Impact of 4% Deltamethrin-Impregnated Dog Collars on the Prevalence and Incidence of Canine Visceral Leishmaniasis. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 18, n. 7, p. 356–363, 2018.
- KILLICK-KENDRICK, R. Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 4, n. 1, p. 1-24, 1990.
- KILLICK-KENDRICK, R. The biology and control of phlebotomine sand flies. **Clinics in dermatology**, v. 17, n. 3, p. 279-289, 1999.
- KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 2, p. 527-538, 2014.
- KRAUSPENHAR, C. *et al.* Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, v. 37, n. 3, p. 907-910, 2007.
- LACHAUD, L. *et al.* Comparison of various sample preparation methods for PCR diagnosis of visceral leishmaniasis using peripheral blood. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 613-617, 2001.
- LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil - A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 8, p. 811-827, 2005.
- LAURENTI, M. D. Correlation between parasitological and serological diagnosis in canine american visceral leishmaniasis. **Bepa**, v. 6, n. 67, p. 13-23, 2009.
- LAURENTI, M. D. *et al.* Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* to the natural vector. **Veterinary Parasitology**, v. 196, n. 3-4, p. 296–300, 2013.
- LEAL, G. G. A. *et al.* Risk profile for *Leishmania* infection in dogs coming from an area of visceral leishmaniasis reemergence. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 150, n. 1, p. 1-7, 2018.
- LEANDRO, A. D. S. *et al.* The adoption of the One Health approach to improve surveillance of venomous animal injury, vector-borne and zoonotic diseases in Foz do Iguaçu, Brazil. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 2, e0009109, 2021.
- LEANDRO-JÚNIOR, M. V. S. **Análise Comparativa Do Teste Imunocromatográfico DPP-Biomanguinhos Com ELISA E RIFI No Diagnóstico Da Leishmaniose Visceral Canina**. 2014. 96f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Programa de Fisiopatologia Experimental da Faculdade de Medicina) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2014.
- LEHANE, M. J. **The Biology of Blood-Sucking in Insects**. 2. ed. Cambridge: Cambridge University Press; 2005.
- LEISHMAN, W. B. On the possibility of the occurrence of trypanosomiasis in India. **British Medical Journal**, v. 1, n. 2213, p. 1252-1254, 1903.
- LEOTE, D. S. *et al.* The first case of canine visceral leishmaniasis in the southern region of Santa Catarina, an emerging focus of visceral leishmaniasis in Brazil: regional report or reflection of the reality of a country?. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 17, e167101724326, 2021.
- LIMA, L. V. R. *et al.* Canine visceral leishmaniasis due to *Leishmania (L.) infantum chagasi* in Amazonian Brazil: comparison of the parasite density from the skin, lymph

node and visceral tissues between symptomatic and asymptomatic, seropositive dogs. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 52, n. 5, p. 259-266, 2010.

LIRA, R. A. **Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: Avaliação do Desempenho dos Kits EIE-Leishmaniose-Visceral-Canina-Bio-Manguinhos e IFI Leishmaniose-Visceral-Canina-Bio**. 2005. 43f. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) - Departamento de Saúde Coletiva, Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2005.

LOMBARDI, M. C. *et al.* Diagnosis of *Leishmania infantum* infection by polymerase chain reaction in wild mammals. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 12, p. 1243–1246, 2014.

LOPES, P. M. *et al.* Seroprevalence and risk factors associated with visceral leishmaniasis in dogs in Jaciara, State of Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 791-795, 2014.

LUKEŠ, J. *et al.* Kinetoplast DNA Network: Evolution of an Improbable Structure. **Eukaryotic Cell**, v. 1, n. 4, p. 495-502, 2002.

MAGALHÃES, A. O. *et al.* Histological and immunohistochemical evaluations of the bone marrow from femur and sternal manubrium of dogs reactive for leishmaniasis by DPP® and ELISA tests. **Ciência Animal Brasileira**, v. 23, e-73104, 2022.

MAGRI, A. *et al.* Detection of *Leishmania* sp. kDNA in questing *Ixodes ricinus* (Acari, Ixodidae) from the Emilia-Romagna Region in northeastern Italy. **Parasitology Research**, v. 121, n. 11, p. 3331-3336, 2022.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic Leishmaniasis? **Trends in Parasitology**, v. 27, n. 1, p. 341-344, 2011.

MAIA, C; CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 4, p. 274-287, 2008.

MAPA - Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Nota Técnica Nº 11/2016/ S.N/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**. MAPA, Brasília 2016.

MARCONDES, M. *et al.* Longitudinal analysis of serological tests officially adopted by the Brazilian Ministry of Health for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in dogs vaccinated with Leishmune®. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 3-4, p. 649-652, 2013.

MARCONDES, M. *et al.* Temporal IgG subclasses response in dogs following vaccination against *Leishmania* with Leishmune®. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 2-4, p. 153–159, 2011.

MARCONDES, M.; DAY, M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Research in Veterinary Science**, v. 123, p 261-272, 2019.

MAROLI, M. *et al.* Phlebotomine sand flies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 27, n. 2, p. 123-147, 2013.

MARTINS, F. *et al.* Diversidade e frequência da fauna flebotomínea (Diptera: Psychodidae) em áreas com transmissão de leishmaniose, no estado de Goiás. **Revista de Patologia Tropical**, v. 31, n. 2, p. 211-224, 2002.

- MARTINS, N. S. *et al.* Alterações da matriz extracelular esplênica em cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*. **Ciência Animal Brasileira**, v. 16, n. 1, p. 103-115, 2015.
- MARTY, P. *et al.* Actualités sur les leishmanioses en France. **Archives de Pédiatrie**, v. 16, supl. 2, p. S96-S100, 2009.
- MARZOCHI, M. C. A. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 23, n. 2, p. 82-84, 1994.
- MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil—emerging anthroponosis and possibilities for their control. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 10, supl. 2, p. S359-375, 1994.
- MATOS, M. M. *et al.* Ocorrência da leishmaniose visceral em cães em Mossoró, Rio Grande do Norte. **Ciência Animal**, v. 16, n. 1, p. 51-54, 2006.
- MELLO, C. X. *et al.* Outbreak of visceral leishmaniasis in Barra Mansa, state of Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 788-790, 2014.
- MELO, S. N. *et al.* Prevalence of visceral leishmaniasis in A population of free-roaming dogs as determined by multiple sampling efforts: A longitudinal study analyzing the effectiveness of euthanasia. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 161, p. 19-24, 2018.
- MENEGATTI, J. A. *et al.* Fauna flebotomínica e soroprevalência para leishmaniose visceral canina em área urbana na região Centro-Oeste do Brasil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 72, n. 4, p. 1197-1205, 2020.
- MESTRE, G. L. C; FONTES, C. J. F. A expansão da epidemia de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, p. 42-48, 2007.
- METZDORF, I. P. *et al.* Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121-125, 2017.
- MICHALICK, M. S. M.; GENATO, O. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D. P.; MELO, A. L.; LINARDI, P. M.; VITOR, R. W. A. **Parasitologia humana**. 11. ed. São Paulo: Atheneu, p. 56-72, 2005.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan. **Dados epidemiológicos**, 2022. Disponível em: <https://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>. Acesso em: 29 ago. 2022.
- MIRÓ, G. *et al.* Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. **Veterinary Dermatology**, v. 20, n 5-6, p. 397-404, 2009.
- MIRÓ, G. *et al.* Novel areas for prevention and control of canine leishmaniosis. **Trends in Parasitology**, v. 33, n. 9, p. 718-730, 2017.
- MIRÓ, G.; LÓPEZ-VÉLEZ, R. Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into Practice. **Veterinary Parasitology**, v. 254, p. 151-159, 2018.

- MISSAWA, N. A. *et al.* Evidence of transmission of visceral leishmaniasis by *Lutzomyia cruzi* in the municipality of Jaciara, State of Mato Grosso, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 1, p. 76-78, 2011.
- MISSAWA, N. A.; LOROSA, E. S.; DIAS, E. S. Preferência alimentar de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) em área de transmissão de leishmaniose visceral em Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 41, n. 4, p. 365- 368, 2008.
- MISSAWA, N. A.; MACIEL, G. B. List of species in the genus *Lutzomyia*, França, 1924 (Psychodidae, Phlebotominae) from the State of Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 40, n. 1, p. 11-14, 2007.
- MISSAWA, N. A.; LIMA, G. B. Spatial distribution of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) and *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) in the State of Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 337-340, 2006.
- MONTEIRO, E. M. *et al.* Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 2, p. 147-152, 2005.
- MORAIS, A. N. *et al.* Canine visceral leishmaniasis and Chagas disease among dogs in Araguaína, Tocantins. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 2, p. 225-229, 2013.
- MORALES-YUSTE, M.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; CORPAS-LOPEZ, V. Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. **Veterinary Science**, v. 9, n. 8, p. 387, 2022.
- MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends in Parasitology**, v. 18, n. 9, p. 399-405, 2002.
- MORGANTI G. *et al.* Retrospective Longitudinal Survey on Canine Vector-Borne Pathogens: Trends and Challenges of 10 Years of Activities of a Veterinary Blood Bank. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 6, p. 274, 2022.
- MOSHFE, A. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: Asymptomatic infected dogs as a source of *L. infantum* infection. **Acta Tropica**, v. 112, n. 2, p. 101-105, 2009.
- MOSSER, D. M.; EDELSON, P. J. The mouse macrophage receptor for C3bi (CR3) is a major mechanism in the phagocytosis of *Leishmania*. **Journal of Immunology**, v. 135, n. 4, p. 2785-2789, 1985.
- MOURA, S. T. *et al.* Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 36, n. 2, p. 101-102, 1999.
- NASCIMENTO, E. L. T. *et al.* Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Postscript: new challenges in the epidemiology of *Leishmania chagasi* infection. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2964–2967, 2008.
- NAUCKE, T. J.; LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 1, p. 67, 2012.

- NEITZKE-ABREU, H. C. *et al.* Diagnosis of canine leishmaniasis using ear blood PCR in region of Brazil. **Advances in Animal and Veterinary Sciences**, v. 8, n. 2, p. 157-160, 2020.
- NOGUEIRA, F. S. *et al.* Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasites Vectors**, v. 12, 79, 2019.
- NUNES, V. L. B. *et al.* Ocorrência de leishmaniose visceral canina em assentamento agrícola no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, p. 301-302, 2001.
- O'SHEA B, *et al.* Enhanced sandfly attraction to *Leishmania*-infected hosts. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 96, n. 2, p. 117-118, 2002.
- OLIVEIRA A. G. *et al.* Abundance of *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) and urban transmission of visceral leishmaniasis in Campo Grande, state of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 8, p. 869-874, 2006.
- OLIVEIRA, A. G. *et al.* Estudo de flebotomíneos (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) na zona urbana da Cidade de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil, 1999-2000. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 4, p. 933-944, 2003.
- OLIVEIRA, E. *et al.* A prototype of the direct agglutination test kit (DAT-Canis) for the serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 221, p. 9-13, 2016.
- OLIVEIRA, E. F. *et al.* Experimental infection and transmission of *Leishmania* by *Lutzomyia cruzi* (Diptera: Psychodidae): Aspects of the ecology of parasite-vector interactions. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 11, n. 2, e0005401, 2017a.
- OLIVEIRA, E. F. *et al.* Vector Competence of *Lutzomyia cruzi* Naturally Demonstrated for *Leishmania infantum* and Suspected for *Leishmania amazonensis*. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 96, n. 1, p. 178–181, 2017b.
- OLIVEIRA, G. G. S.; SANTORO, F.; SADIGUSKY, M. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 88, n. 2, p. 243-248, 1993.
- OLIVEIRA, S. S.; ARAÚJO, T. M. Evaluation of control measures for visceral leishmaniasis (kala azar) in an endemic area in Bahia, Brazil (1995-2000). **Cadernos de Saúde Pública**, v. 19, n. 6, p.1681-1690, 2003.
- ORDEIX, L. *et al.* Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses. **Veterinary Dermatology**, v. 16, n. 3, p. 187-197, 2005.
- OTRANTO, D. *et al.* Feline and canine leishmaniosis and other vector-borne diseases in the Aeolian Islands: pathogen and vector circulation in a confined environment. **Veterinary Parasitology**, v. 236, p. 144–151, 2017.
- OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. Fleas and ticks as vectors of *Leishmania* spp. to dogs: caution is needed. **Veterinary Parasitology**, v. 168, n. 102, p. 173-174, 2010.

- OTRANTO, D.; DANTAS-TORRES, F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. **Trends in Parasitology**, v. 29, n. 7, p. 339–345, 2013.
- OWENS, S. D. *et al.* Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English Foxhounds to anemic dogs. **Journal of the American Veterinary Medicine Association**, v. 219, n. 8, p. 1076-1083, 2001.
- PAHO - PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**, PAHO, 2022. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/53090>. Acesso em: 30 jul. 2022.
- PAHO - PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas**, 3 dez 2020, PAHO, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/en/topics/leishmaniasis>. Acesso em: 30 dez. 2022.
- PALATNIK-DE-SOUSA, C. B.; DAY, M. J. One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 4, 197, 2011.
- PATTABHI, S. *et al.* Design, development and evaluation of rK28-based point-of-care tests for improving rapid diagnosis of visceral leishmaniasis. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 9, e822, 2010.
- PAULA, C. C. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Maricá, State of Rio de Janeiro: first report of an autochthonous case. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 1, p. 77-78, 2009.
- PAULA, M. B. C. **Fauna flebotomínica, condições sócio- ambientais e a transmissão da leishmaniose visceral em Uberlândia-MG, Brasil**. 2010. 189 f. Tese (Doutorado em Geografia do Programa de Pós-Graduação em Geografia do Instituto de Geografia) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2010.
- PAZ, G. F. *et al.* Evaluation of the vectorial capacity of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the transmission of canine visceral leishmaniasis. **Parasitology Research**, v. 106, n. 2, p. 523-528, 2010.
- PEIXOTO, H. M.; OLIVEIRA, M. R.; ROMERO, G. A. Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine and International Health**, v. 20, n. 3, p. 334–352, 2015.
- PENAFORTE, K. M. *et al.* *Leishmania* infection in a population of dogs: an epidemiological investigation relating to visceral leishmaniasis control. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 22, n. 4, p. 592-598, 2013.
- PENNISI, M. G. *et al.* Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 638–642, 2013.
- PENNISI, M. G.; PERSICHETTI, M. F. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? **Veterinary parasitology**, v. 251, p. 131-137, 2018.
- PETERS, N. S. *et al.* In vivo imaging reveals an essential role for neutrophils in Leishmaniasis transmitted by sand flies. **Science**, v. 321, n. 5891, p. 970-974, 2008.
- PINELLI, E. *et al.* Cellular and Humoral Immune Responses in Dogs Experimentally and Naturally Infected with *Leishmania infantum*. **Infection and Immunity**, v. 62, n. 1, p. 229-235, 1994.
- PINTO, A. J. W.; RIBEIRO, V. M.; TAFURI, W. L. The immunochromatography use in canine visceral leishmaniasis in Brazil: a “quick solution” of a complex diagnostic?

Rapid test in dogs with leishmaniasis. **Annals of Clinical Cytology and Pathology**, v. 2, n. 4, p. 1033, 2016.

PINTO, A. O. *et al.* First case of canine visceral leishmaniasis in the midwestern of Santa Catarina State, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 82, e241162, 2022.

PRATA, A.; SILVA, L. A. Calazar. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 713-732, 2005.

PUENTES, S. M. *et al.* Serum resistance of metacyclic stage *Leishmania major* promastigotes is due to release of C5b-9. **Journal of Immunology**, v. 145, n. 12, 4311–4316, 1990.

QUEIROZ, N. M. G. P. *et al.* Diagnóstico da leishmaniose visceral canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 32-38, 2010.

QUINNELL, R. J. *et al.* Detection of *Leishmania infantum* by PCR, serology and cellular immune response in a cohort study of Brazilian dogs. **Parasitology**, v. 122, pt. 3, p. 253-261, 2001.

QUINNELL, R. J; COURTENAY, O. Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. **Parasitology**, v. 136, p. 1915-1934, 2009.

RANQUE, J. M.; QUILICI, M.; DUNAN, S. Les leishmanioses de la région provençale. Considerations épidémiologiques et écologiques. **Colloque International CNRS Leishmanioses**, v. 239, p. 285-293, 1997.

READY, P. D. Epidemiology of visceral Leishmaniasis. **Clinical Epidemiology**, v. 6, p. 147-154, 2014.

READY, P. D. Leishmaniasis emergence and climate change. **Review of Science and Technology of International Epizooties**, v. 27, n. 2, p. 399-412, 2008.

REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 349, 2001.

RODRÍGUEZ-CORTÉS, A. *et al.* Compartmentalized Immune Response in Leishmaniasis: Changing Patterns throughout the Disease. **PLoS One**, v. 11, n. 5, e0155224, 2016.

RODRÍGUEZ-CORTÉS, A. *et al.* Leishmania-specific isotype levels and their relationship with specific cell-mediated immunity parameters in canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and immunopathology**, v. 116, n. 3-4, p. 190-198, 2007.

ROGERS, M. E. *et al.* Proteophosphoglycan regurgited by *Leishmania*-infected sand flies target the L-arginine metabolism of host macrophage to promote parasite survival. **PLoS Pathogens**, v. 5, n. 8, p. 1-14, 2009.

ROMERO, G. A. S.; BOELAERT, M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America-a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 4, n. 1, e584, 2010.

RONDANI, C. Sopra una Specie di Insetto Dittero. **Memoria Prima per Servire alla Ditterologia Italiana**, Donati, Parma, n. 1, pp. 161, 1840.

- ROQUE, A. L.; JANSEN, A. M. Wild and synanthropic reservoirs of *Leishmania* species in the Americas. **International Journal for Parasitology. Parasites and Wildlife**, v. 3, n. 3, p. 251–262, 2014.
- ROSÁRIO, E. Y. *et al.* Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p. 197–203, 2005.
- RUIZ-POSTIGO, J. A. *et al.* Global Leishmaniasis Surveillance: 2019–2020, a Baseline for the 2030 Roadmap. **Weekly epidemiological record**, v. 96, n. 35, p. 401–419, 2021.
- SACKS, D.; SHER, A. Evasion of innate immunity by parasitic protozoa. **Nature Immunology**, v. 3, n. 11, p. 1041–1047, 2002.
- SALGADO-ALMARIO, J.; HERNANDEZ, C. A.; OVALLE-BRACHO, C. Geographical distribution of *Leishmania* species in Colombia, 1985–2017. **Biomédica**, v. 39, n. 2, p. 278–290, 2019.
- SALOMÓN, O. D. *et al.* *Lutzomyia longipalpis* urbanisation and control. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 110, n. 7, p. 831–834, 2015.
- SANTOS, J. **Utilização de técnicas sorológicas e moleculares na distinção de cães vacinados e naturalmente infectados por *Leishmania (L.) infantum chagasi***. 2021. 71f. Dissertação (Mestrado em Ciências do Programa de Doenças Infecciosas e Parasitárias da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2021.
- SANTOS, N. S. *et al.* Feline Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, v. 8, 734916, 2021.
- SANTOS-GOMES, G. M. *et al.* Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 88, n. 1–2, p. 21–30, 2002.
- SAVANI, E. S. M. M. *et al.* The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 3, p. 229–233, 2004.
- SERGEANT, E.; LOMBARD J.; QUILICHINI, M. La leishmaniose à Alger: infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même habitation. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 5, p. 93–98, 1912.
- SHERLOCK, I. A.; DIAS-LIMA, A. G.; MONTE-ALEGRE, A. F. Distribuição geográfica e dispersão da *Lutzomyia longipalpis* (LUTZ & NEIVA, 1912), a principal vetora da leishmaniose visceral no Estado da Bahia. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 33, supl. I, p. 246, 2000.
- SHIMABUKURO, P. H. F.; ANDRADE, A. J.; GALATI, E. A. B. Checklist of American sand flies (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae): genera, species, and their distribution. **ZooKeys**, v. 660, p. 67–106, 2017.
- SILVA, A. C. *et al.* Aryl thiosemicarbazones: In vitro and immunomodulatory activities against *L. amazonensis*. **Experimental Parasitology**, v. 177, p. 57–65, 2017.

- SILVA, A. S. *et al.* First Autochthonous Case of Canine Visceral Leishmaniasis in the Center of Rio Grande do Sul State, Brazil. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 39, n. 2, p. 1-3, 2011.
- SILVA, A. V. M. *et al.* Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p. 324-328, 2005.
- SILVA, B. G. *et al.* Sinais clínicos neurológicos, associados à leishmaniose visceral canina, em área endêmica: Relato de caso. **Pubvet**, v. 14, n. 10, p. 148, 2020.
- SILVA, C. J. *et al.* First autochthonous case of canine visceral leishmaniasis in Rondônia, Brazil, a region with no history of visceral leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 51, n. 5, p. 712-715, 2018.
- SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 20, 2007.
- SILVA, M. A. D. *et al.* New insights on severe clinical manifestations and deaths from visceral leishmaniasis in free-living crab-eating foxes (*Cerdocyon thous*) in Brazil. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 16, e108101622869, 2021.
- SOBRINO, R. *et al.* Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 155, n. 3-4, p. 198–203, 2008.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Journal Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 1-18, 2009.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v.4, n. 1, p.86, 2011.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* Prevalence of *Leishmania infantum* Infection in Dogs Living in an Area of Canine Leishmaniasis Endemicity Using PCR on Several Tissues and Serology. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 39, n. 2, p. 560-563, 2001.
- SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**, v. 90, n. 1-2, p. 37-45, 2000.
- STANIEK, M. E.; HAMILTON, J. G. C. Odour of domestic dogs infected with *Leishmania infantum* is attractive to female but not male sand flies: Evidence for parasite manipulation. **PLoS Pathogens**, v. 17, n. 3, e1009354, 2021.
- SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory, Diagnosis of visceral leishmaniasis. **American Society for Microbiology**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.
- TAFURI, W. L. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. **Veterinary Parasitology**, 96: 203-212, 2001.
- TOEPP, A. J.; PETERSEN, C. A. The balancing act: Immunology of leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v. 130, p. 19-25, 2020.
- TONINI, M. A. L. **Descrição de um novo foco de calazar canino autóctone no município da Serra, Região Metropolitana de Vitória, ES.** 2010. 96f. Dissertação (Mestrado em Doenças Infecciosas do Programa de Pós-Graduação em Doenças Infecciosas) - Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2010.

- TONINI, M. A. L. *et al.* First description of autochthonous canine visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Vitória, State of Espírito Santo, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, n. 6, p. 754-756, 2012.
- TORRES-GUERRERO, E. *et al.* Leishmaniasis: a review [version 1; peer review: 2 approved]. **F1000Research**, v. 6, 750, 2017.
- TRAVI, B. L. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 12, n. 1, p. 1-13, 2018.
- TRONCARELLI, M. Z. *et al.* *Leishmania* spp. and/or *Trypanosoma cruzi* diagnosis in dogs from endemic and nonendemic areas for canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 164, n. 2-4, p.118-123, 2009.
- TURCO, S. J.; DESCOTEAUX, A. The Lipophosphoglycan of *Leishmania* Parasites. **Annual Review of Microbiology**, v. 46, n. 1, p. 65-92, 1992.
- VALDIVIA, H. *et al.* Comparative genomics of canine-isolated *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* from an endemic focus of visceral leishmaniasis in Governador Valadares, southeastern Brazil. **Scientific Reports**, v. 7, 40804, 2017.
- VALE, E. C. S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4. p. 421-428, 2005.
- van ZANDBERGEN, G. *et al.* Cutting edge: neutrophil granulocyte serves as a vector for *Leishmania* entry into macrophages. **Journal of Immunology**, v. 173, n. 11, p. 6521-6525, 2004.
- VELOSO, E. C. M. *et al.* Socio-economic and environmental factors associated with the occurrence of canine infection by *Leishmania infantum* in Teresina, Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 24, 100561, 2021.
- VILAS, V. J. *et al.* Visceral leishmaniasis: a One Health approach. **The Veterinary Record**, v. 175, n. 2, p. 42-44, 2014.
- VIOL, M. A. *et al.* Detection of cross infections by *Leishmania* spp. and *Trypanosoma* spp. in dogs using indirect immunoenzyme 175 assay, indirect fluorescent antibody test and polymerase chain reaction. **Parasitology Research**, v. 111, p. 1607-1613, 2012.
- VIOL, M. A. *et al.* Identification of *Leishmania* spp. promastigotes in the intestines, ovaries, and salivary glands of *Rhipicephalus sanguineus* actively infesting dogs. **Parasitology Research**, v. 115, n. 9, p. 3479-3484, 2016.
- WEIGAND, M. A. *et al.* The systemic inflammatory response syndrome. **Best Practice & Research. Clinical Anaesthesiology**, v. 18, n. 3, p. 455-475, 2004.
- WERNECK, G. L. *et al.* Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Epidemiology and infection**, v. 135, n. 2, p. 195-201, 2007.
- WERNECK, G. L. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2937–2940, 2008.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniasis. **Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis**, 22–26 March 2010, WHO Technical Report Series. WHO, Geneva. 2010.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Health Topics: **Leishmaniasis**. 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 30 jun. 2022.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: **Number of cases of visceral leishmaniasis reported: 2020**. 2021a. Disponível em: https://apps.who.int/neglected_diseases/ntddata/leishmaniasis/leishmaniasis.html. Acesso em: 30 jul. 2022.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: **Status of endemicity of visceral leishmaniasis, worldwide, 2020**. 2021b. Disponível em: https://cdn.who.int/media/docs/default-source/2021-dha-docs/leishmaniasis_vl_2020.pdf?sfvrsn=17eea7b2_7. Acesso em: 31 jul. 2022.

WHO - WORLD HEALTH ORGANIZATION. Sixtieth World Health Assembly WHA60.13: **Control of leishmaniasis**, 21 May 2007, WHO, 2007. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/wha60.13>. Acesso em: 30 jul. 2022.

XAVIER, S. C. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one asymptomatic animal reported from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 6, p. 994-1000, 2006.

XIMENES, M. F. F. M. *et al.* Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) e Leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil – Reflexos do ambiente antrópico. **Neotropical Entomology**, v. 36, n. 1, p.128-137, 2007.

YOUNG, D. G.; DUNCAN, M. A. Guide to the Identification and Geographic Distribution of Lutzomyia Sand Flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memoirs of the American Entomological Institute**, n. 54, p. 881, 1994.

ZANETTE, M. F. *et al.* Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum chagasi* tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 105–107, 2014.

ZAVITSANOU, A.; KOUTIS, C.; BABATSIKOU, F. Leishmaniasis: an overlooked public health concern. **Health Science Journal**, v. 2, n. 4, p. 196-205, 2008.

ZIEMNICZAK, H. M. *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Rondônia, Brazil: a report of an autochthonous case. **Acta Veterinaria Brasilica**, v. 15, n. 1, p. 15-18, 2021.

ZUBEN, A. P.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 32, n. 6, e00087415, 2016.

5. CAPÍTULO 1

5.1. Artigo 1

Submetido na Veterinary Research Communications

***Leishmania infantum* in dogs on the agricultural frontier of the state of Mato Grosso,
Brazil.**

Abstract

The objective of this research was to determine the seroprevalence of *Leishmania infantum* in dogs in the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil. A total of 109 serological samples from dogs were analyzed, collected between August 2021 to March 2022, using rapid immunochromatographic test, TR DPP® (LVC BioManguinhos), and Immunoenzymatic Assay (ELISA), EIE-Canine Visceral Leishmaniasis (Bio-Manguinhos®, Fiocruz) as screening and confirmatory test, respectively. IgG anti-*Leishmania infantum* antibodies were detected 4.6% (5/109) by DPP test. Regardless of results, all samples were submitted to ELISA test, of those 0.9% (1/109) was positive, from asymptomatic, adult dog domiciled in the urban area. This was the first autochthonous report of CVL in the municipality. Since Visceral leishmaniasis caused by *L. infantum* is a disease of One Health concern the results obtained are essential to fill the epidemiological gap of in the region. Furthermore, the health authorities should implement surveillance actions in order to monitoring of dogs, as well as survey of sand flies, and health education programs to stimulate the prevention of the disease.

Key words: Sandflies, Canine Visceral Leishmaniasis, One Health, Serology, Zoonosis

Introduction

The canine visceral leishmaniasis (CVL) is an anthroponotic disease caused by protozoa, mandatory intracellular parasites, belonging to the Kinetoplastid, Trypanosomatidae Family, from the *Leishmania* Genus (Brasil 2014), by having the *Leishmania infantum* as the main etymological agent of the CVL (Dantas-Torres 2009).

In South America, the parasite is transmitted through the blood meal made by vectors called sandflies, belonging to the *Lutzomyia* genus, having as the main involved species *Lutzomyia longipalpis* (Dantas-Torres 2009), popularly known in Brazil as straw mosquito, *birigui* or *tatuquira* (Brasil 2014).

At Brazil, the CVL possess bigger prevalence in the Northeast Brazilian region (Bavia et al. 2005), although the occurrence of the disease has been reported in other regions of the country (Almeida et al. 2012; Bianchi et al. 2016).

The sand fly *L. longipalpis* was originally found in forest areas, participating in the primary cycle of parasite transmission. However, through environmental changes and human actions, this sand fly has progressively adapted to rural and urban environments, the latter with remarkable adaptation by the vector, and can be found in different areas, such as the outskirts of large centers, in the peridomicile, in chicken coops, pigsty, kennel, barn, among other environments and also in the home (Brasil 2014).

The state of Mato Grosso stands out for its high agricultural production. However, the degradation of ecosystems for greater implementation of arable areas should be a point of alert. According to INPE (2022), Mato Grosso is one of the frontiers of the Amazon with the greatest deforestation activity in recent years.

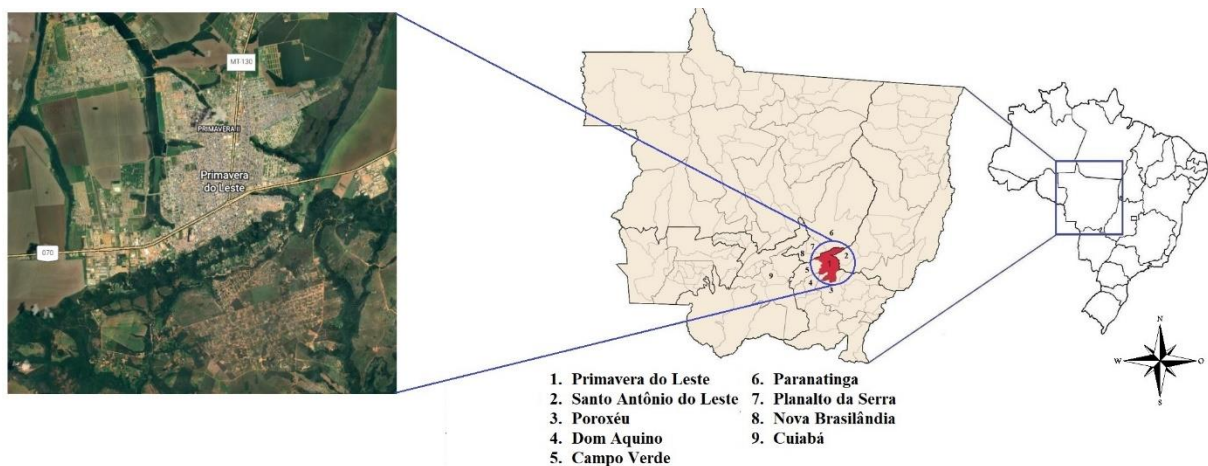
In the same sense, Primavera do Leste, a municipality that is only 36 years old, is one of the largest agricultural producers in Brazil. In 2020, corn and soybean production reached 660,000 t and 894,360 t, respectively (IBGE, 2020). In this way, stimulated by a strong economy and high job offer, the movement of people and their animals is constant, which, many times, end up occupying peri-urban areas of the city, places that are closer to forest areas.

Given the characteristics of the municipality, the dynamics of the disease and the risk factors, the present study aimed to determine the seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs in the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil.

Materials and methods

The study was carried out in the state of Mato Grosso, municipality of Primavera do Leste, located 235 km from the capital Cuiabá, at latitude 15°33'32" south and longitude 54°17'46" west, at an altitude of 636 meters, composed of the Cerrado biome in 100% of its territory. Primavera do Leste has Paranatinga, Santo Antônio do Leste, Poxoréu, Dom Aquino, Campo Verde, Planalto da Serra and Nova Brasilândia as bordering municipalities (Figure 1).

Fig 1. Geographic position of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil



Sampling was based on rabies vaccination campaigns carried out in the municipality, considering an approximate population of 8,000 animals (Primavera do Leste, 2018). The sample size calculation was performed considering a prevalence of 7.8% for CVL (Azevedo et al. 2008), 5% statistical error and a confidence level of 95%, resulting in a minimum sampling of 109 samples.

From August 2021 to March 2022, blood samples were collected from animals, domiciled, sent by their tutors or guardians for consultations or vaccination at veterinary clinics in the city (n=46). In addition, blood samples were also collected from animals coming from shelters in the city (n=63), with the cutoff for the election of those shelters, those that had at least 10 animals. Animals with a history of vaccination for leishmaniasis and under 3 months of age, as well as animals residing outside the municipality or accompanied by a person under 18 years of age, were excluded. those with at least 10 animals

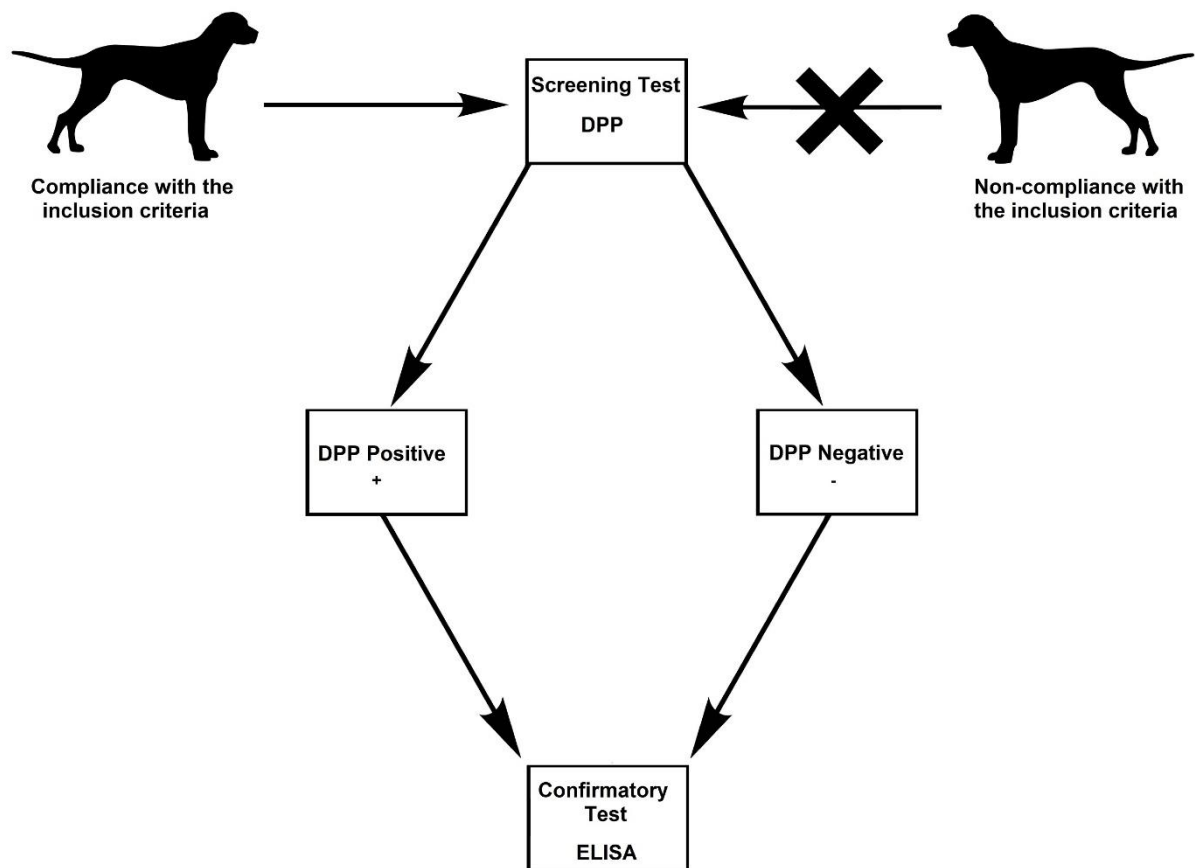
A volume of 5mL was collected by venipuncture, using appropriate sterile and disposable materials. The tubes with biological material were centrifuged at 1784 RFC for 10 minutes.

The methodology used in the present work can be seen in the flowchart (Figure 2).

The Dual Path Platform - TR DPP-LVC, BioManguinhos® (Fiocruz) was used as a screening method in the present study. The methodology used was based on the manufacturer's recommendations.

The ELISA used as a confirmatory method was the EIE-LVC kit, BioManguinhos® (Fiocruz) and the methodology according to the manufacturer's recommendations.

Fig 2. Serological tests used for detection of *Leishmania infantum* infection in dogs from the city of Primavera do Leste, Mato Grosso



Data were tabulated in Microsoft Excel® spreadsheets for verification and organization and analyzed using IBM SPSS Statistics 28.0.1® and NCSS® (NCSS statistical software, Kaysville, UT, USA) software.

Results and discussion

In the screening diagnosis, DPP, 5/109 (4.6%) samples were positive for anti-*L. infantum* antibodies. All samples were submitted to the confirmatory ELISA test, in which 1/109 (0.9%) positive sample was

obtained, resulting in a prevalence of 0.92% (Table 1). The positive sample came from an adult, asymptomatic dog, domiciled in the urban area, autochthonous, male, of the Siberian Husky breed.

Table 1. Results of the DPP® and ELISA serological methods, performed on 109 dogs from the city of Primavera do Leste, Mato Grosso, Brazil, in 2022. A.F. – Absolute Frequency; R.F. – Relative Frequency.

DPP	ELISA					
	Negative		Positive		Total	
	A.F.	R.F.	A.F.	R.F.	A.F.	R.F.
Negative	104	95,41%	0	0%	104	95,41%
Positive	4	3,67%	1	0,92%	5	4,59%
Total	108	99,08%	1	0,92%	109	100%

The results obtained in the present study are the first record of *Leishmania infantum* infection in dogs in the municipality of Primavera do Leste, MT, Brazil, one of the main agricultural regions of the country. The prevalence obtained can be explained by the absence of symptomatic animals. The compartmentalization of territory between the municipalities of Primavera do Leste and Poxoréu may contribute to the spread of the parasite in the region, since the neighboring municipality is endemic for leishmaniasis with a prevalence of 7.8% (Azevedo et al. 2008), which poses a risk to the local population. One of these shared areas is the Vale Verde region, which is characterized by having a vast area of forest and belonging to the municipality of Poxoréu, making it difficult to detect the disease and its proper mapping, mainly due to stray dogs, commonly abandoned in this region. Tracking, monitoring and diagnosing infected dogs belonging to neighboring municipalities is essential to avoid free movement of animals that could contribute to the spread of the parasite (Julião et al. 2007).

The results obtained in this study are inferior from other serological surveys carried out in municipalities in the state of Mato Grosso, such as Rondonópolis, with a prevalence of 48.4% (Duarte 2010), Cuiabá 22.1% (Almeida et al. 2012) and Nossa Senhora do Livramento 14 % (Carvalho et al. 2020), since in these regions the presence of vectors (Duarte 2010) and symptomatic animals (Almeida et al. 2012; Carvalho et al. 2020) has already been reported.

The characteristics of the region and the population must also be considered. The municipality of Primavera do Leste has only 36 years of foundation, an economy based on agriculture, poultry, livestock and commerce. As one of the largest soybean producers in Brazil, the city is one of the most important agribusiness routes in the country and, throughout the year, several agricultural events are held. Due to the short time, it was founded and driven by agribusiness, the city is an attraction for many people looking for employment

opportunities, coming from different regions of the country, encouraging the real estate sector to expand housing, many of them in more distant points from the center of the country. City. These characteristics make the city a great gateway for people and animals, with significant proximity to the native environment, which can contribute to the emergence of cases of CVL, exemplifying the importance of One Health.

In this sense, in a study that evaluated the expansion of the visceral leishmaniasis epidemic in the State of Mato Grosso, 1998-2005, it was possible to verify the progression of the disease from the municipality of Várzea Grande to other municipalities in the Center-South of the state, a region characterized for presenting great population mobility, facilitated by the large network of side roads present in the Center-South and Southeast regions of the state. During this period, human infection in the municipality of Poxoréu had high numbers of cases (11.6%; n=16 cases) (Mestre and Fontes 2007). According to data obtained from the Notifiable Diseases Information System (SINAN), between 2001 and 2020, 875 cases of human leishmaniasis were reported in Primavera do Leste. In addition, it should be borne in mind that canine infection precedes the occurrence of cases in humans (Góes et al. 2012). However, the underreporting of cases of leishmaniasis, human and animal, is still an epidemiological problem, which prevents a better allocation of resources, collaborators and strategies in areas with active transmission of the disease or at risk. In this sphere, a problem observed in the municipality is the non-accounting of CVL cases diagnosed in clinics to the public health service, which contributes to the underreporting of cases and, in addition, culminates in the computation only of cases diagnosed by the public power, which is responsible and burdened by several other demands, such as dengue and COVID-19.

According to the Ministry of Health, in areas of moderate and intense transmission of VL, the control of the stray canine population must be carried out and, in case of canine prevalence greater than or equal to 2%, an annual canine census survey must be used; in cases where the prevalence is less than 2%, surveillance and monitoring should be maintained. In areas with sporadic transmission, with regard to actions related to the canine reservoir, an annual canine census survey should be used at the place of transmission (Brasil 2006), which justifies the importance and need for the use of more effective policies and actions. in the monitoring and control of diseases of interest to public health.

One of the difficulties observed in carrying out this study was obtaining data from animals allocated to shelters. Many animals had no clinical history or origin, which made it impossible to analyze the data more accurately with the laboratory results. Even so, none of the animals allocated to the shelters chosen to participate in this study tested positive. Although the shelters chosen for the collection of biological samples are located

close to forested areas, both submit the dogs collected to a veterinary evaluation upon admission. According to Massis et al., (Massis et al. 2020), a dog hosted in a kennel does not appear to be a factor that increases the likelihood that dogs will show positivity, even when domiciled for long periods.

Regarding the collection of dogs from veterinary clinics, this information was obtained by filling in a form by the tutors. Thus, it was possible to describe the positive sample as an asymptomatic male Siberian Husky dog, domiciled in the urban region. However, due to the low prevalence, it was not possible to associate the variables with sex and race.

Asymptomatic animals constitute a problem in the early detection of the disease, since the fact that they do not show clinical signs does not encourage the tutor to seek veterinary assistance. A fundamental point is that most dogs infected by *L. infantum* are apparently healthy, showing no visible clinical signs of visceral leishmaniasis (Dantas-Torres 2009). However, asymptomatic dogs present cutaneous parasitism, being able to live with the parasite for a long time and, consequently, present a greater possibility of transmission to the vector (Magalhães-Junior et al. 2006), demonstrating the importance of carrying out epidemiological studies in regions close to endemic areas, such as Primavera do Leste. Thus, the diagnosis and identification of asymptomatic animals are undoubtedly one of the key points in the control of CVL.

The occurrence of more positive animals in the immunochromatographic screening method in the present study, versus the confirmatory method, by ELISA, demonstrates the importance of using diagnostic methods with high sensitivity and specificity, in order to guarantee a more accurate diagnosis and, therefore, Consequently, avoiding unnecessary euthanasia of animals, making it necessary to search for more accurate techniques.

According to Grimaldi Jr et al., (Grimaldi Jr et al. 2012), the DPP has high sensitivity in symptomatic animals (98%), however when performed in asymptomatic animals the sensitivity reduces (47%). Better results were found by Ribeiro et al., (Ribeiro et al. 2019), with DPP® Bio-Manguinhos showing a sensitivity of 97.9% in asymptomatic animals. These data reinforce the idea that this method of serological diagnosis may have different sensitivity and specificities, depending on the clinical stage, type of antigen used and the host's immune response (Grimaldi et al. 2012).

Health education and population awareness of the importance of the One Health are the main prevention tools. Although control policies are directed to public areas, in the population of stray dogs and in sand fly breeding sites, it is the citizen's role to carry out their inspections and use appropriate prevention methods in the home environment, a place that is totally adaptable on the part of the vectors of *L. infantum*. Therefore, the

availability of more accessible and effective diagnostic and prophylactic methods should not suppress the need for the population to employ active surveillance and monitoring within their communities. At the same time, it is the role of the government to make the population aware of its role within the concept of One Health.

Thus, the unprecedented detection of *Leishmania infantum* infection in the present study should encourage health services to carry out greater surveillance and monitoring of the parasite and entomological research to identify sand flies in the municipality.

References

- Aguiar DM, Oliveira TMFS, Cavalcante GT et al (2010) Seroprevalence of anti-*Leishmania* spp. antibodies in rural dogs from the city of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. *Rev Bra Parasitol Vet* 19:71-72. <https://doi.org/10.4322/rbpv.01901014>
- Almeida ABPF, Sousa VRF, Cruz FACS et al (2012) Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bra Parasitol Vet* 21:359-365. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612012005000005>
- Azevedo MAA, Dias AKK, Paula HB et al (2008) Canine visceral leishmaniasis evaluation in Poxoréo, Mato Grosso State, Brazil. *Rev Bra Parasitol Vet* 17:123-127. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612008000300001>
- Bavia ME, Carneiro DDMT, Gurgel HC et al (2005) Remote sensing and geographic information systems and risk of American visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. *Parassitologia* 47:165-169. <https://www.researchgate.net/publication/7700369>
- Bianchi MV, Fredo G, Tagliari NJ et al (2016) Autochthonous Canine Visceral Leishmaniasis in Urban Area of Porto Alegre, RS, Brazil. *Acta Sci Vet* 44:4. <https://doi.org/10.22456/1679-9216.84523>
- Brasil (2006) Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Ministério da Saúde. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf. Accessed 12 October 2022
- Brasil (2014) Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Ministério da Saúde. https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf. Accessed 12 October 2022

- Carvalho MR, Dias AFLR, Almeida ABPF et al (2020) Canine visceral leishmaniasis: perception, prevalence, and spatial distribution in municipality of Nossa Senhora do Livramento, Mato Grosso, Brazil. *Rev Bra Parasitol Vet* 29:e021019. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020017>
- Dantas-Torres F (2009) Canine leishmaniosis in South America. *Parasit Vectors* 2:1-8. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S1>
- Duarte JLS (2010) Aspectos epidemiológicos da Leishmaniose visceral no Município de Rondonópolis, Mato Grosso, 2003- 2008. Dissertation, Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo
- Grimaldi G Jr, Teva A, Ferreira AL et al (2012) Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 106:54-59. <https://doi.org/10.1016/j.trstmh.2011.10.001>
- Góes MAO, Melo CM, Jeraldo VLS (2012) Série temporal da leishmaniose visceral em Aracaju, estado de Sergipe, Brasil (1999 a 2008): aspectos humanos e caninos. *Rev. bras. epidemiol* 15:298-307. <https://doi.org/10.1590/S1415-790X2012000200007>
- IBGE (2020) Produção agrícola da cidade de Primavera do Leste em 2020. Instituto Brasileiro De Geografia e Estatística. <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/mt/primavera-doleste/pesquisa/14/10193?tipo=ranking&indicador=10368>. Accessed 28 July 2022
- INPE (2022) Prodes/Amazônia/Monitoramento da Floresta Amazônica Brasileira por Satélite. Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais. <http://www.obt.inpe.br/OBT/assuntos/programas/amazonia/prodes>. Accessed 28 July 2022
- Julião FS, Souza BMPS, Fritas DS et al (2007) Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Pesq Vet Bras* 27:319-324. <https://doi.org/10.1590/S0100-736X2007000800001>
- Magalhães-Junior JT, Mota TF, Profirio-Passos G et al (2006) Xenodiagnosis on dogs with visceral leishmaniasis: Canine and sand fly aspects related to the parasite transmission. *Vet Parasitol* 223: 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.04.031>
- Massis F, Ippoliti C, Iannetti S et al (2020) Canine Leishmaniasis: Serological Results in Private and Kennel Dogs Tested over a Six-Year Period (2009–2014) in Abruzzo and Molise Regions, Italy. *Microorganisms* 8:1915. <https://doi.org/10.3390/microorganisms8121915>

Mestre GLC, Fontes CJF (2007) A expansão da epidemia de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso, 1998-2005. Rev Soc Bras Med Trop 40:42-48. <http://doi.org/10.1590/S0037-86822007000100008>

Ribeiro VM, Miranda JB, Marcelino AP et al (2019) Performance of different serological tests in the diagnosis of natural infection by *Leishmania infantum* in dogs. Vet Parasitol 274:108920. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.014>

Primavera do Leste (2018). Dia “D” de vacinação antirrábica ocorrerá neste sábado (22). Secretaria de Saúde. <https://primaveradoleste.mt.gov.br/noticias-3303>. Accessed 28 July 2022

Statements and Declarations

Funding

The authors declare that no funds, grants, or other supports were received during the preparation of this manuscript.

Conflict of interest

The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.

Authors' contributions

The authors Phelipe Magalhães Duarte, José Wilton Pinheiro Junior and Leucio Câmara Alves contributed to the conception and design of the study. The preparation of the material and collection of the samples was done by Phelipe Magalhães Duarte. Sample processing was carried out by Sophia Oliveira Dantas, Victor Felipe da Silva Araújo, Joyci Torres de Paula and Phelipe Magalhães Duarte. The writing was done by Phelipe Magalhães Duarte, José Wilton Pinheiro Junior e Lucio Câmara Alves. All authors read and approved the final manuscript.

Code or data availability

Not applicable.

Ethics approval

The present study began after approval by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA), filed under CEUA nº 8017130521 (ID 000750).

Consent to participate

Not applicable.

Consent for publication

Not applicable.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A prevalência obtida juntamente da proximidade de Primavera do Leste com áreas endêmicas providas de vetores competentes traz um risco para a região. Dessa forma, a inédita detecção da infecção por *Leishmania infantum* no presente estudo, deve incitar os serviços de saúde a realizar uma maior vigilância e monitoramento do parasito e pesquisas entomológicas para identificação de flebotomíneos no município.

Dessa forma, são necessárias novas avaliações sorológicas na região, de forma mais ampla, a fim de se monitorar o *status* epidemiológico no município. A leishmaniose visceral é uma doença multifatorial, o que demanda uma abordagem no contexto da saúde única. Dessa forma, a contribuição da população no que tange ao controle é fundamental. Para tanto, a promoção de programas de educação em saúde é uma medida que se faz necessária no controle de doenças de caráter zoonótico.

7. ANEXO

Comprovante de submissão


[My account](#)

Your submissions

Track your submissions

Leishmania infantum in dogs on the agricultural frontier of the state of Mato Grosso, Brazil

Corresponding Author: Phelipe Magalhães Duarte
 Veterinary Research Communications
 411ff4fe-17a7-4207-be0c-7b262d3d4717 | v.1.0

[View submission details](#)

Technical check in progress 8 minutes ago

If you have submitted any articles to us via any other submissions system, e.g. Editorial Manager or eJournalPress, please log in to, or use notification emails from that system for article tracking information. Still have a question? [Contact us](#)

[Manage cookies / Do not sell my data](#)
[Help and support](#)
[Privacy policy](#)
[Terms and conditions](#)
[Accessibility statement](#)


[Give Feedback](#)

Track the status of your submission to Veterinary Research Communications

Caixa de entrada


Research Square
<info@researchsquare.com>

para mim

12:14 (há 2 minutos)

☆ ↶ ⋮

🌐

inglês

>

português

Traduzir mensagem

Desativar para: inglês

Dear Dr. Phelipe Magalhães Duarte,

Congratulations on your manuscript submission to Veterinary Research Communications. In partnership with Springer Nature, Research Square provides a private dashboard, where you can track the status of your manuscript (Leishmania infantum in dogs on the agricultural frontier of the state of Mato Grosso, Brazil) that is under consideration at Veterinary Research Communications. To access your dashboard and start tracking the progress of your manuscript through peer review, please log in to your account:

[Log in to your account](#)

Although you chose not to share your manuscript as a preprint when you submitted it to the journal, you can still do so through your dashboard. Preprints are given a DOI and posted permanently online on Research Square, allowing for more collaboration opportunities, earlier citations, and community comments. If you are interested in this option, log in via the link above and then select "Post My Preprint".

Please note that the peer review process, including all editorial communications, will continue through the journal where you submitted your manuscript. All queries about the peer review process should be directed to the journal.

Let us know if you have any questions or feedback - we'd love to hear from you.

Sincerely,

The Research Square Team
[Research Square](#)
 A preprint platform that makes research communication faster, fairer, and more useful.

This email has been sent to duarte.phe@gmail.com by Research Square.
[Privacy policy](#)
[Contact us](#)

Research Square Platform, LLC is a company registered in the United States under Federal Employer Identification Number (FEIN) 82-4431595 with its registered office at 601 West Main Street, Durham, NC, USA
 © 2022 Research Square Platform, LLC. All rights reserved.