

RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta tese será disponibilizado somente a partir de 19/08/2017.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”

FACULDADE DE MEDICINA

MARIA ANGELINA DA SILVA ZUQUE

**Participação de gambás e cães domiciliados como
reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi*
georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de
Três Lagoas - MS**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Doenças Tropicais

Orientadora: Profa.Dra. Simone Baldini Lucheis



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
CAMPUS DE BOTUCATU
FACULDADE DE MEDICINA
Programa de Pós-Graduação em Doenças Tropicais

MARIA ANGELINA DA SILVA ZUQUE

**Participação de gambás e cães domiciliados como
reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi*
georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de
Três Lagoas - MS**

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de
Botucatu, para obtenção do título de
Doutora em Doenças Tropicais

Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Simone Baldini Lucheis

Botucatu

2016

Ficha catalográfica

Zuque, Maria Angelina da Silva

Participação de gambás e cães domiciliados como reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi* georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas - MS.

Maria Angelina da Silva Zuque. - Botucatu: [s.n.]. 2015

Tese - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientadora: Simone Baldini Lucheis

1. Leishmaniose Visceral. 2. Cães. 3. Gambás. 4. Infecção natural.

Palavras-chave: Leishmaniose. Doença de Chagas. Reservatório. Infecção natural.

Maria Angelina da Silva Zuque

Participação de gambás e cães domiciliados como reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi* georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas – MS.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora.

Orientadora: Profa. Dr^a. Simone Baldini Lucheis

Comissão examinadora

Prof. Dr^a. Simone Lucheis
Laboratório de Sanidade Animal da Agência Paulista de
Tecnologia dos Agronegócios APTA
Regional Centro Oeste - Bauru

Prof. Dr. Hélio Langoni
Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia
FMVZ - UNESP - Botucatu

Prof^a. Dr^a. Katia Denise Saraiva Bresciani
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
UNESP - Araçatuba

Prof.^a Dr^a. Lilian Aparecida Colebrusco Rodas
Superintendência de Controle de Endemias – SUCEN
Laboratório do Serviço da Regional de Araçatuba

Prof.^a Dr^a. Maria Stela Branquinho Beaudoin
Superintendência de Controle de Endemias, SUCEN - SES/SP

Botucatu, 19 de fevereiro de 2016

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus...

Aos meus familiares e amigos pelo amor carinho, apoio incondicional, incentivo constante, que compreenderam minha ausência em várias ocasiões nesta etapa da minha vida.

Agradeço também pelos momentos difíceis, pois são eles que nos tornam mais fortes para enfrentar os obstáculos.

A minha orientadora, Dra. Simone Baldini Luccheis, pela amizade, força de que tudo daria certo. Serei eternamente grata pelos ensinamentos, incentivo e competência dedicados à condução desse trabalho.

A todos que colaboraram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

O saber se aprende com os mestres.

A sabedoria, só com o corriqueiro da vida.

Cora Coralina

Epígrafe

Zuque, MAS. **Participação de gambás e cães domiciliados como reservatórios de *Leishmania infantum* e *Trypanosoma cruzi* georreferenciados nos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas – MS.** 114f Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

RESUMO

A Leishmaniose Visceral e a Doença de Chagas são importantes zoonoses negligenciadas do ponto de vista de saúde pública. Animais domésticos, como o cão, e animais silvestres, como os gambás, fazem parte do ciclo destas zoonoses como fontes de infecção para os vetores. O estudo foi realizado em cinco municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas, Mato Grosso do Sul, em 2013 e 2014, com objetivo de identificar a ocorrência da infecção natural por *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* em gambás (*Didelphis albiventris*) e cães domiciliados, descrever aspectos epidemiológicos dessas doenças na população canina e humana, seus vetores, e a distribuição espacial da Leishmaniose Visceral Canina usando técnicas do georrefenciamento. Amostras de sangue dos cães foram submetidas a análises sorológicas e moleculares, e a dos gambás somente as análises moleculares. Em relação à pesquisa de anticorpos contra a *Leishmania* spp., as provas sorológicas de 683 amostras dos cães, revelaram reagentes 320 amostras ao Dual Path Platform, 300 amostras ao Enzyme Linked Immunosorbent Assay e 116 a Reação de Imunofluorescência Indireta. Para *Trypanosoma cruzi*, pela Reação de Imunofluorescência Indireta, quatro amostras do município de Três Lagoas foram reagentes. Das 683 amostras de sangue total, dos cães submetidas à Reação em Cadeia pela Polimerase, todas foram negativas para *Trypanosoma cruzi* e obteve-se êxito na amplificação de *Leishmania* spp em 17 amostras. As 39 amostras de sangue total dos gambás foram negativas à Reação em Cadeia pela Polimerase para *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi*. Na área do estudo foi confirmada a infecção natural por *Leishmania* spp. somente nos cães domiciliados, mas não foi confirmada à infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em gambás e cães domiciliados. Os casos humanos de leishmaniose persistem em algumas áreas de um município desta regional e ocorrem de forma esporádica em outros três, e um município não apresenta caso autóctone. O uso do georreferenciamento para Leishmaniose Visceral Canina, em Três Lagoas, forneceu subsídios para identificar áreas com prioridade de intervenção para o controle da doença. A presença de flebotomíneos, associado à localização geográfica, e às condições ambientais são favoráveis à sua disseminação, bem como a transmissão da doença aos cães e a humanos.

Palavras chave: Leishmaniose. Doença de Chagas. Reservatório. Infecção natural.

Zuque, MAS. **Natural infection by *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* in opossums and domiciliated dogs, and georeferenced from municipalities of Regional Health from Três Lagoas – MS.** 114f Tese (Doutorado). Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2016.

ABSTRACT

Visceral Leishmaniasis (VL) and Chagas disease (CD) are important neglected zoonoses in accordance with public health. Domestic animals such as dogs and wildlife such as possums , are part of these zoonoses cycles as reservoirs and sources of infection for vectors. The study was conducted in five Regional Health of the municipalities of Três Lagoas , Mato Grosso do Sul in 2013 and 2014 , in order to verify the occurrence of natural infection with *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* in opossums (*Didelphis albiventris*) and the pet dogs, and describe the characteristics of diseases in human and canine population , vectors , and the spatial distribution of canine Visceral Leishmaniasis using techniques georrefenciamento. In dog's blood there were performed serological analysis and molecular tests and the samples of the opossums were performed molecular tests. Regarding the research for *Leishmania* antibodies the techniques serological to 683 dog samples, showed reagent 320 samples to Dual Path Platform, 300 samples to Enzyme Linked Immunosorbent Assay and 116 to Immunofluorescence Antibody Test. For *Trypanosoma cruzi*, the test Immunofluorescence Antibody Test (IFAT) four samples of Três Lagoas municipality were reactive. Of the samples from dogs 683 submitted to the Polymerase Chain Reaction were all negative by *Trypanosoma cruzi* gave successful amplification *Leishmania* spp in 17 of them. The 39 samples of the opossums were all negative by PCR to *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi*. In the study area was confirmed natural infection with *Leishmania* spp. only in pet dogs, but it was not confirmed to natural infection by *Trypanosoma cruzi* in opossums and pet dogs. Human cases of leishmaniasis persist in some areas of a municipality of this regional and occur sporadically in other three, and a municipality has no case. The use of georeferencing for Canine Visceral Leishmaniasis in Três Lagoas allowed to identify characteristic of the disease, as well areas with intervention priority to control the disease. The presence of phlebotomines, plus the favorable environmental conditions to its dissemination, allows the transmission of the disease to dogs and humans.

Key-words: Leishmaniasis. Chagas disease. Reservoir. Natural infection.

Lista de Mapas

Mapa 1: Localização da área do estudo, no estado de Mato Grosso do Sul. Brasil.....	27
Mapa 2: Municípios de abrangência da Regional de Saúde de Três Lagoas – MS.....	28
Mapa 3: Localização de Água Clara-MS.....	29
Mapa 4: Localização de Bataguassu-MS.....	30
Mapa 5: Localização de Brasilândia-MS.....	31
Mapa 6: Localização de Selvíria-MS.....	32
Mapa 7: Localização de Três Lagoas-MS.....	33
Mapa 8: Localização, malha urbana e regionais, segundo a Secretaria Municipal de Planejamento. Três Lagoas - MS em 2013.....	32
Mapa 9: Mapa 9: Localização das áreas I (São Carlos) e II (Vila Piloto) do inquérito sorológico canino. Três Lagoas. 2013-2014.....	41
Mapa 10: Proporção dos domicílios sem abastecimento de água do sistema de distribuição. Três Lagoas - MS. 2010.....	78
Mapa 11: Proporção de pessoas com menos de 11 anos de idade em Três Lagoas. 2010.....	79
Mapa 12: Proporção de pessoas com rendimento de até um salário mínimo em Três Lagoas. 2010.....	80
Mapa 13: Densidade de cães pelo censo canino e casos de LVC. Três Lagoas. 2013.....	82
Mapa 14: Densidade de cães pelo censo canino e casos de LVC. Três Lagoas. 2014.....	83
Mapa 15: Densidade dos casos de LVC em Três Lagoas. 2013.....	85
Mapa 16: Densidade dos casos de LVC em Três Lagoas.2014.....	86
Mapa 17: Casos de LVH, e LVC segundo exame reagente e ou sinais clínicos da doença. Três Lagoas. 2013.....	88
Mapa 18: Casos de LVH, e LVC segundo exame reagente ou sinais clínicos da doença. Três Lagoas. 2014.....	89
Mapa 19: <i>Cluster</i> para a prevalência de LVC. 2013.....	91
Mapa 20: <i>Cluster</i> para a prevalência de LVC. Três Lagoas. 2014.....	92
Mapa 21: <i>Cluster</i> para a incidência de LVC. Três Lagoas. 2013.....	94
Mapa 22: <i>Cluster</i> para a incidência de LVC. Três Lagoas. 2014.....	95

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Representação esquemática do ciclo biológico da <i>L. infantum</i>	17
Figura 2:	Representação esquemática do ciclo biológico do <i>T. cruzi</i>	23
Figura 3:	Área urbana do município de Água Clara, em destaque a rodovia BR 262. Mato Grosso do Sul. 2014.....	30
Figura 4:	Área urbana do município de Bataguassu – MS, em destaque a rodovia BR 267. 2014.....	31
Figura 5:	Área urbana do município de Brasilândia-MS.....	32
Figura 6:	Área urbana do município de Selvíria-MS.....	33
Figura 7:	Área urbana do município de Três Lagoas-MS.....	34
Figura 8:	Armadilha tipo gaiola usada para captura de gambás.....	39
Figura 9:	Coleta de amostras de sangue de gambás (<i>Didelphis albiventris</i>).....	40
Figura 10:	Coleta e acondicionamento de amostras de sangue de cães, procedentes de Três Lagoas (MS) durante o inquérito epidemiológico para Leishmaniose Visceral Canina (LVC).....	42
Figura 11:	Resultado reagente e não reagente do teste para Leishmaniose Visceral Canina (LVC), Dual Path Platform (DPP®).....	44
Figura 12:	Teste ELISA para Leishmaniose Visceral Canina (LVC) em microplacas para leitura em espectrofotômetro com filtro de 450 nm.....	45
Figura 13:	Diagnóstico de LVC pelas técnicas sorológicas. Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	52
Figura 14:	Diagrama dos resultados reagentes nos testes sorológicos DPP®, ELISA e RIFI.....	54
Figura 15:	Diagnóstico sorológico de LVC pelas técnicas de DPP® e ELISA. Municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	55
Figura 16:	Número de casos de Leishmaniose Visceral Humana (LVH), dos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas (MS). 2000 a 2014.....	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1:	População estimada de cinco municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas (MS) em 2013, 2014 e 2015.....	29
Tabela 2:	Diagnóstico de LVC pelas técnicas sorológicas moleculares para <i>Leishmania</i> spp. dos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas 2013-2014.....	50
Tabela 3:	Diagnóstico de LVC pelas técnicas sorológicas. Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	51
Tabela 4:	Comparação entre o teste ELISA e DPP®. Três Lagoas. MS. 2013-2014.....	53
Tabela 5:	Comparação entre o teste RIFI e DPP®. Três Lagoas. MS. 2013-2014.....	53
Tabela 6:	Comparação entre o teste RIFI e ELISA. Três Lagoas. MS. 2013-2014.....	53
	Tabela 4: Diagnóstico sorológico de LVC pelas técnicas de DPP® e ELISA. Municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	49
Tabela 5:	Resultados da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para <i>Leishmania</i> spp. e <i>T.cruzi</i> em cães de municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas (MS). 2013-2014.....	53
Tabela 6:	Resultados sorológicos de LVC pelas técnicas sorológicas. Municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	54
Tabela 7:	Resultados da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para <i>Leishmania</i> spp. e <i>T.cruzi</i> em cães de municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas (MS). 2013-2014.....	57
Tabela 8:	Resultados sorológicos de LVC pelas técnicas sorológicas. Municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas. 2013-2014.....	58
Tabela 9:	Número, percentual, incidência e letalidade de Leishmaniose Visceral Humana (LVH), segundo os municípios pertencentes à Regional de Saúde de Três Lagoas (MS). 2013 e 2014.....	64
Tabela 10:	Número de casos de LVH segundo o bairro de residência. Três Lagoas. 2013 e 2014.....	65
Tabela 11:	Número de casos de LVH segundo a faixa etária. Três Lagoas. 2013 e 2014.....	65
Tabela 12:	Número de cães eutanasiados dos municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas em 2013 e 2014.....	69
Tabela 13:	Número de <i>L. longipalpis</i> capturados no município de Três Lagoas. segundo o bairro. 2013-2014.....	74
Tabela 14:	Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina (LVC), segundo os bairros. Três Lagoas (MS). 2013 e 2014.....	90

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 LEISHMANIOSE VISCERAL	16
2.2 DOENÇA DE CHAGAS	21
2.3 GEORREFERENCIAMENTO	23
3 OBJETIVOS	26
4 MATERIAL E MÉTODOS	27
4.1 Delineamento do estudo	27
4.2 Área do estudo	28
4.3 Aspectos éticos	36
4.4 Procedimentos do estudo	36
4.4.1 Determinação do tamanho amostral	36
4.4.2 Coleta de dados	37
4.4.3 Análise Estatística	37
4.5 Coleta de sangue de cães e gambás	38
4.6 Análises sorológicas	42
4.6.1 Reação de Imunofluorescência Indireta para <i>Leishmania</i> spp. e <i>Trypanosoma cruzi</i>	42
4.6.2 Dual Path Platform	43
4.6.3 Enzyme Linked Immunosorbent Assay	44
4.7 Análises moleculares	45
4.7.1 Reação em Cadeia pela Polimerase para <i>Leishmania</i> spp. e <i>Trypanosoma cruzi</i>	46
4.7.2 Reação em Cadeia pela Polimerase para <i>Trypanosoma cruzi</i>	47
4.8 Georreferenciamento	48
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
5.1 Resultados laboratoriais	50
5.2 Leishmaniose Visceral	62
5.3 Doença de Chagas	70
5.4 Dados entomológicos	73
5.5 Georreferenciamento	76
6 CONCLUSÃO	96
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
ANEXOS	110

1 INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) e a Doença de Chagas (DC) são doenças infecciosas crônicas, e os agentes etiológicos são respectivamente, *Leishmania infantum* (*L. infantum*) e *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*).¹⁻³ Estas são enfermidades negligenciadas e importantes problemas de saúde pública no país, com maior carga em populações pobres e com dificuldades em acessar os serviços e ações de saúde; com baixa prioridade para desenvolvimento e acesso aos medicamentos, métodos diagnósticos e métodos de controle; assim como pouco interesse político nos níveis de gestão.⁴

No Brasil, a LV destaca-se entre as doenças emergentes e o Ministério da Saúde estima cerca de três mil pessoas infectadas anualmente. Entre 2000 e 2011 ocorreram mais de 2,7 mil óbitos. No mundo, segundo estimativas da Organização Mundial da Saúde (OMS), quase dois milhões de novos casos de leishmaniose são registrados por ano com 20 a 40 mil óbitos.⁴

Os canídeos estão expostos a um conjunto de agentes patogênicos que podem provocar doenças transmitidas por vetores. Em locais onde a LV é endêmica, os cães domésticos representam o principal reservatório no ciclo urbano de transmissão pelo qual, o homem e outros cães podem se infectar devido ao grande número de animais infectados e ao intenso parasitismo neles⁵⁻⁹. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos humanos e a infecção em cães tem sido mais prevalente que no homem.¹⁰

Os problemas relacionados à LV se devem ao crescente número de casos em áreas endêmicas, à reemergência, à expansão para áreas indenes e à associação da doença a um processo de urbanização com maior número de indivíduos expostos.^{1,2,9}

No Brasil, os vetores relacionados com a transmissão da doença são duas espécies de flebotomíneos: *Lutzomyia longipalpis*, a principal; e *Lutzomyia cruzi*, em áreas específicas dos estados do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul.¹⁰

Por outro lado, a DC apesar do centenário de sua descrição e dos avanços realizados no seu combate, principalmente em relação ao controle do vetor, ainda é endêmica na América Latina, afetando de 16 a 18 milhões de pessoas, e estima-se que 14 mil mortes ocorrem anualmente pela doença.^{11,12}

Em relação a DC, no Brasil, predomina os casos crônicos da doença decorrentes de infecções adquiridas no passado, à maioria infectada pela via vetorial, forma de transmissão associada às baixas condições sócio-econômicas da população. O perfil epidemiológico da doença apresenta um novo cenário com a ocorrência de casos e surtos na Amazônia Legal por transmissão oral e vetorial (sem colonização e extradomiciliar). A estimativa de infectados no país é de aproximadamente três milhões de pessoas incluindo outras formas de transmissão como transfusão sanguínea, acidente em laboratório, transplante de órgão, via congênita ou oral.¹¹⁻¹⁴

Quanto às principais formas prováveis de transmissão ocorridas no país, nos últimos anos, 64% foram por transmissão oral, 10% por transmissão vetorial e em 13% não foi identificada a forma de transmissão.¹⁰ Sendo a via oral, o tipo de transmissão geralmente associada aos surtos de Doença de Chagas Aguda (DCA). Esta forma de transmissão é de grande importância epidemiológica, tendo em vista o grande número de casos, principalmente na região norte do país, sendo o processamento de açaí e outros alimentos o principal foco de contágio. Também pode ocorrer por meio da ingestão de carne crua ou mal cozida de caça ou alimentos contaminados pela secreção das glândulas anais de marsupiais infectados.^{10,15,16}

Na DC tem sido detectado *T. cruzi* em mamíferos domésticos e silvestres, portanto considerados importantes reservatórios e colaboradores na transmissão da doença, sendo os cães descritos como os mais importantes¹⁵⁻¹⁷. Na Argentina, encontraram a prevalência de 41% em cães e 42% em gatos¹⁸. Os vetores da DC são insetos da subfamília Triatominae (Hemiptera, Reduviidae).¹⁰

As técnicas de geoprocessamento são ferramentas importantes de análise das relações entre o ambiente e eventos relacionados à saúde, podem ser utilizadas na análise dinâmica de difusão espacial das doenças e suas relações com o ambiente, na avaliação da situação de saúde de populações e na identificação de regiões e grupos sob risco de adoecer.¹⁹ Estas técnicas vêm sendo utilizadas na monitorização e avaliação das ações de saúde, e permite identificar diferentes padrões de distribuição espacial, contribuindo para um melhor planejamento da saúde pública.

A industrialização do município de Três Lagoas (MS), principalmente de papel e celulose, fez com que a pecuária e a mata nativa da região fossem substituídas progressivamente por reflorestamento de eucalipto. Por estes motivos vem ocorrendo à expansão da área urbana e o aumento da população em cinco municípios desta regional, Água Clara, Bataguassu, Brasilândia, Selvíria e Três Lagoas.

Novos loteamentos surgem na periferia destes municípios, e existe a presença de um número significativo de animais domésticos nas residências, principalmente o cão. Também tem sido relatada presença de animais silvestres, como os gambás, em alguns bairros. Estes animais são importantes fontes de infecção para as espécies domésticas e para humanos, podendo ser reservatórios e portadores de zoonoses, dentre elas a LV e DC¹⁰. Segundo o Ministério da Saúde, Mato Grosso do Sul, não é considerado endêmico para DC, e não existe sobreposição dessas doenças nestes municípios.

O ambiente desempenha um importante papel na dinâmica de transmissão da doença. O desmatamento é um fator preponderante, por reduzir a disponibilidade de fonte alimentar para os flebotomíneos, expondo o cão e humanos, que se tornam as fontes mais acessíveis. Além disso, o intenso processo migratório provoca o deslocamento de pessoas que levam seus animais domésticos, muitas vezes infectados, o que também contribui para a expansão e urbanização da doença.^{2,10,20}

Diante do exposto e considerando a expansão da LV no Mato Grosso do Sul, e a escassez de pesquisa na região realizou-se este estudo em cinco municípios da Regional de Saúde de Três Lagoas, com o objetivo de verificar a ocorrência da infecção natural por *L. infantum* e *T. cruzi* em gambás e cães domiciliados, descrever aspectos epidemiológicos dessas doenças na população canina e humana, seus vetores, e a análise espacial da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) empregando técnicas de georreferenciamento.

CONCLUSÃO

- Em relação à infecção natural por *Leishmania* spp., confirmou-se nos canídeos domiciliados procedentes dos municípios do estudo, mas não foi confirmada com as amostras de sangue dos gambás por análises moleculares. A LVC se encontra ainda com concentração em alguns bairros de Três Lagoas, com expansão para novas áreas, e observa-se a expansão da LVC em Água Clara e Brasilândia.

- Em Três Lagoas, quanto às doenças em humanos, os casos de leishmaniose visceral humana persistem em áreas com transmissão da doença desde o início da epidemia no município.

- Em relação à infecção natural por *T.cruzi* não foram confirmadas nas amostras analisadas de sangue dos cães e gambás com as técnicas empregadas em nenhum dos municípios. Sugere-se que novos estudos devam ser realizados.

- A presença dos flebotomíneos, associada às condições ambientais da região é favorável à sua disseminação, bem como a transmissão da doença aos cães e ao homem.

- O uso do georreferenciamento para LVC, em Três Lagoas, possibilitou verificar as características da doença e padrões espaciais da distribuição da LVC no município de Três Lagoas, bem como subsídios para identificação de áreas com prioridade de intervenção para o controle da LVC.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. Brasil. Guia de Vigilância Epidemiológica. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. 8ª ed. Brasília. 2010; 816 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
2. Michalick MSM; Genaro O. Gênero *Leishmania*. In NEVES; et al. Parasitologia Humana. 11ª ed. Atheneu. São Paulo. 2004; p. 67-84.
3. Lana M; Tafuri WL. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In NEVES; et al. Parasitologia Humana. 11ª ed. Atheneu. São Paulo. 2004; p. 85-108.
4. Brasil. Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília. 2011; 78 p.: il. (Série A. Normas e Manuais Técnicos).
5. Guerin PJ, Oliaro P, Shyam S, Boelaert M, Croft S, Desjeux P. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis, and treatment, and proposed research and development agenda. *Lancet*. London. 2002; 2:494–501
6. França-Silva JC, da Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GL, da Costa CA, Mayrink W, Vieira EP, Costa JS, Genaro O, Nascimento E. Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Vet Parasitol*. Nova York. 2003;111(2-3):161-73.
7. Serrano ACM, Nunes CM, Savani ESM, Nicoletti SR, Bonello DFL, Vasconcelos RO, et al. Leishmaniose em felino na zona urbana de Araçatuba-SP - relato de caso. *Clin Vet*. 2008;(76):36-40.
8. Eloy LJ; Lucheis SB. Hemoculture and Polymerase Chain Reaction Using Primers TCZ1/TCZ2 for the Diagnosis of Canine and Feline Trypanosomiasis. *Vet Sci*. 2012; 6p.
9. Braga ARC; Langoni H; Lucheis SB. Evaluation of canine and feline leishmaniasis by the association of blood culture, immunofluorescent antibody test and polymerase chain reaction. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*. 2014; 20:5.
10. Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância em Saúde. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde. 2014; 812 p.
11. Petherick A. After years of neglect, Brazil takes aim at Chagas disease. *Focus on Brazilian Biomedicine*. *Nat Med* 2011; 17:1174.

* Segundo normas Vancouver: "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journal" (International Committee of Medical Journals editors, 1993).

12. Brenner Z; Andrade ZA; Barral-Neto M. Epidemiologia. In: *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2.ed. Guanabara Koogan S.A. Rio de Janeiro. 2000.

- 13.Nóbrega AA; Garcia MH; Tatto Erica; Obara MT; Costa E; Sobel J; Araujo, WN. Oral Transmission of Chagas Disease by Consumption of Açaí Palm Fruit, Brazil. *Em Infect Dis*. 2009; 15(4):653-5.
- 14.Souza-Lima RC; Barbosa MG; Coura JR; Nascimento AS; Ferreira JMBB; Magalhães LK; Albuquerque BC; Araújo GANA; Guerra JAO. Outbreak of acute Chagas disease associated with oral transmission in the Rio Negro region, Brazilian Amazon. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2013; 46(4):510-4.
- 15.Hotez PJ, Molyneux DH, Fenwick A, Kumaresan J, Sachs SE, Sachs JD, Savioli L. Control of neglected tropical diseases. *N Engl J Med*. Boston. 2007; 357(10):1018-27.
- 16.Rassi Jr, A; Rassi A, Marin-Neto JA. Chagas disease. *Lancet*, London. 2010; 17;375(9723):1388-402.
- 17.Gurtler RE. Domestic dogs and cats as source of *Trypanosoma cruzi* infection in rural northwestern Argentina. *Parasitology*. 2007; 134(Pt 1):69-82.
- 18.Rosypal AC; Cortés-Vecino JA, Gennari SM, Dubey JP, Tidwell RR, Lindsay DS. Serological survey of *Leishmania infantum* and *Trypanosoma cruzi* in dogs from urban areas of Brazil and Colombia. *Vet Parasitol*. 2007; 149(3-4):172-7.
- 19.Medronho RA, Werneck GL. Técnicas de análise espacial em Saúde. In: Medronho RA, Carvalho DM, Bloch KV, Luiz RR, Werneck GL, editores. *Epidemiologia*. São Paulo: Atheneu; 2004; p.427-46.
- 20.Maia-Elkhoury, AN; Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saúde Publica*. 2008; 24(12):2941-7.
- 21.Ashford DA, David JR, Freire M, David R, Sherlock I, Eulálio MC, Sampaio DP, Badaro R. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. *Am J Trop Med Hyg*. 1998; 59(1):53-7.
- 22.Brasil. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Brasília. 2006; 120p.
- 23.Desjeux P. Leishmaniasis. Public health aspects and control. *Clin. Dermatol*. 1996; 14(5):417-23.
- 24.Boelaert M, Criel B, Leeuwenburg J, Van Damme W, Le Ray D, Van Der Stuyft P. Visceral leishmaniasis control: a public health perspective. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg*. 2000; 94(5):465-71.

25. Bern C, Chowdhury R. The epidemiology of visceral leishmaniasis in Bangladesh: prospects for improved control. *Indian J. Med. Res.* 2006; 123(3):275.
26. WHO. Control of the leishmaniasis: Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. World Health Organization. Geneva. *Who Tech. Rep. Ser.* 2010; 949:22-6.
27. Alvar J, Aparicio P, Aseffa A, Den Boer M, Canavate C, Dedet J-P, et al. The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin. Microbiol. Rev.* 2008; 21(2):334–59.
28. Gomes YM, Paiva Cavalcanti M, Lira RA, Abath FG, Alves LC. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. *Vet J.* 2008; 175:45-52.
29. Del Giudice P, Marty P, Lacour JP, Perrin C, Pratlong F, Haas H, et al. Cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: case reports and literature review. *Arch. Dermatol.* 1998; 134(2):193.
30. BenSaid M, Guerbouj S, Saghrouni F, Fathallah-Mili A, Guizani I. Occurrence of *Leishmania infantum* cutaneous leishmaniasis in central Tunisia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 2006; 100(6):521-6.
31. Svobodová M, Alten B, Zídková L, Dvorák V, Hlavacková J, Mysková J, Seblová V, Kasap OE, Belen A, Votýpka J, Volf P. Cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* transmitted by *Phlebotomus tobbi* *Int. J. Parasitol.* 2009; 39(2):25-6.
32. SUCEN. Relatório Leishmaniose Visceral. Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo. 2006. [Acesso 2014, set 12]. Disponível em www.sucen.sp.gov.br.
33. Galati EAB, Nunes VLB, Rego Jr. FA, Oshiro ET, Chang MR. Estudo de flebotomíneos (Diptera:Psichodidae) em foco de leishmaniose visceral no Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Saúde Pública* 1997; 378-90.
34. Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, Hoffmann MP, Freitas RA, Malacco MAF. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American Visceral Leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1998; 12:315-7.
35. Rangel, EF, Lainson, R (org.). Flebotomíneos do Brasil. Rio de Janeiro: Fiocruz. 2003. 367 p.
36. Paranhos-Silva M, FreitasLAR, Santos WC, Grimaldi GJr, Pontes-de-Carvalho LC, Oliveirados-Santos AJ. A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 1996; 55:39-44.
37. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Rev. Bras. Epidemiol.* 2004; 7(3):338-49.

- 38.Costa CHN. Characterization and speculations on the urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. *Cad. Saúde Pública*. 2008; 24(12):2959-63.
- 39.Alvar J, et al. Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol*. 2004; 57:1-88.
- 40.Acedo Sánchez C, Martín Sánchez J, Vélez Bernal ID, Sanchís Marín MC, Louassini M, Maldonado JA & Morillas Márquez F. Leishmaniasis eco-epidemiology in the Alpujarra region (Granada province, southern Spain). *Inter J Parasit*. 1996; 25:303-10.
- 41.Werneck GL. Forum: geographic spread and urbanization of visceral leishmaniasis in Brazil. Introduction. *Cad. Saúde Pública*. 2008; 24(12):2937-40.
- 42.Dias JCP. Epidemiology of Chagas Disease. In: Wendel S, Brener Z, Camargo ME & Rassi A. Chagas disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. ISBT São Paulo. 1992; p. 49-80.
- 43.Nussenzweig, V. & Goble, F. C. Further studies on the antigenic constitution of strains of *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*. *Exp. Parasit*. 1966; 18:224-230.
- 44.Souza AI. Estudo clínico da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães residentes em uma área rural de Mato Grosso do Sul, Brasil. [Dissertação]. Mestrado em Ciências Agrárias e Veterinárias: Universidade Estadual Paulista "Júlio Mesquita Filho". Jaboticabal. 2007.
- 45.Rey, L. Parasitologia. 3. ed. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2001; 856 p.
- 46.Dias JCP & Coura JR. Epidemiologia. In: J. C. P. Dias & J. R. Coura, org. Clínica e Terapêutica da Doença de Chagas. Uma Abordagem Prática para o Clínico Geral. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz; 1997. p. 33-66.
- 47.DIAS JCP. Doença de Chagas e transfusão de sangue no Brasil: vigilância e desafios. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. 2006; 28(2):83-4.
- 48.Shikanai-Yasuda MA, Carvalho NB. Oral transmission of Chagas disease. Clin Infect Dis. 2012;54(6):845-52.
- 49.ANVISA. Gerenciamento do Risco Sanitário na Transmissão de Doença de Chagas Aguda por Alimentos. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Informe Técnico (35). Brasília: ANVISA; 2008.
- 50.Tyler KM, Engman DM. The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *Int J Parasitol* 2001;1:472-481.
- 52.Gonzales-Perdomo M; Romero P. & Goldenberg S. cAMP and adenylate cyclase activators stimulate *Trypanosoma cruzi* differentiation. *Experimental Parasit*. 1988;66:205-212.

- 53.Vinhaes MC; Dias JCP. Doença de Chagas no Brasil. Cadernos de Saúde Pública16. Rio de Janeiro: FIOCRUZ, 2000. p.7-12.
- 54.Miles MA, Feliciangeli MD, de Arias AR. American trypanosomiasis (Chagas' disease) and the role of molecular epidemiology in guiding control strategies. Brit. Med. J. 2003;28:1444-48.
- 55.Barcellos C; Ramalho WM, Gracie R, Magalhães MAFM, Fontes MP, Skaba D. Georreferenciamento de dados de saúde na escala submunicipal: algumas experiências no Brasil. Epidemiol. Serv. Saúde. Brasília, 2008; 17(1):59-70.
- 56.Baneth G; Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. Trends in Parasitology. 2008; v. 24, n. 7, p. 324-330.
- 57.Davis, C, Câmara, G. Introdução. São José dos Campos, 2001. [Acesso 2014, out 03].Disponível em: <<http://www.dpi.inpe.br/gilberto/livro>> Acesso em: 03/10/2013.
- 58.Medronho RA, Werneck GL. Técnicas de análise espacial em Saúde. In: Medronho RA, Carvalho DM, Bloch KV, Luiz RR, Werneck GL, editores. Epidemiologia. São Paulo: Atheneu; 2004. p.427-46.
- 59.Medronho RA. Geoprocessamento e Saúde: uma nova abordagem do espaço no processo saúde doença. Rio de Janeiro: FIOCRUZ/CICT/NECT; 1995.
- 60.Bavia, ME, Ribeiro FS, Martins MS, Cardim LL, Silva MMN, Carneiro DDMT. Geotecnologias na identificação de fatores ambientais relacionados à ocorrência da Leishmaniose Visceral Americana em Conde, Bahia, Brasil. Rev. Bras. Saúde Prod. An., Salvador. 2011;12(4):949-960.
- 61.Carvalho MS, Pina MF, Santos SM. Conceitos básicos de sistemas de informação geográfica e cartografia aplicados à saúde. 20ed. Brasília: Organização Pan-Americana de Saúde; 2000.122p.
- 62.Tavares L, Tavares E. Incidência, Distribuição Geográfica e Aspectos Ambientais das Áreas Endêmicas da Leishmaniose Visceral em Sergipe. Aracaju: Fundação Nacional de Saúde, 1999. [Acesso 2014, set 25]. Disponível em: <<http://scielo.iec.pa.gov.br>>.
- 63.Oliveira CDL, Assunção RM, Reis IA, Proietti FA. Spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, 1994-1997. Cad. Saúde Pública. 2001;17(12):1231-9
- 64.Furlan MBG. Epidemia de Leishmaniose Visceral no município de Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brasil. [Dissertação]. Mestrado Profissional. Instituto de Saúde coletiva. Universidade Federal da Bahia. 2008.

65. Paulan S de C, Silva HR, Lima EACF, Flores EF, Tachibana VM, Kanda CZ, Noronha Junior ACF, Dobre PR. Spatial distribution of canine visceral leishmaniasis in ilha solteira, São Paulo, Brazil. Rev. de Eng. Agríc., Jaboticabal. 2012;32(4):765-74.

66. Brasil. Abordagens espaciais em saúde pública. Ministério da Saúde, Secretaria Vigilância em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz. Brasília: Ministério da Saúde, 2006.136p (Série B. Textos Básicos de Saúde) (Série Capacitação e Atualização em Geoprocessamento em Saúde;1).

67. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2015. [Acesso 2015, jul 22]. Disponível em: <http://cidades.ibge.gov.br>.

68. SEPLAN. Atlas Multirreferencial. Secretaria de Planejamento e Coordenação Geral. Fundação IBGE, 1990.

69. Água Clara. Prefeitura municipal de Água Clara. 2014. [Acesso 2015 jul 20]. Disponível em: www.aguaclara.ms.gov.br/site/pontencialidades

70. Costa Neto, PL. O. Estatística. São Paulo: Edgard Blücher, 1977.

71. Reis JC. Estatística Aplicada à Pesquisa em Ciência Veterinária. 1. ed. Olinda: JCR, 2003.

72. Tenório MS. Avaliação de técnica sorológica para Leishmaniose Visceral e doença de Chagas em animais silvestres e identificação molecular. [Tese] Faculdade de Medicina de Botucatu. Programa: Doenças Tropicais. UNESP. Botucatu. 2015

73. Camargo ME. Fluorescent antibody test for the sorodiagnosis of American trypanosomiasis: technical modification employing preserved culture forms of *Trypanosoma cruzi* in a slide test. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo. 1966;8:227-234.

74. Luciano RM; Lucheis SB, Troncarelli MZ, Luciano DM, Langoni, H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de Imunofluorescência Indireta (RIFI). Braz J Vet Res An Sci. São Paulo. 2009;46(3):18-7.

75. Bio-Manguinhos. TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina. Teste Rápido qualitativo para detecção de anticorpos de cão para Leishmania. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro. 2011.

76. Bio-Manguinhos. EIE- Leishmaniose Visceral Canina. Ensaio Imunoenzimático para diagnóstico da leishmaniose visceral canina. Instituto de Tecnologia em Imunodiagnósticos. Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro, 2011.

77. El Tai N, Osman OF, El Fari M, Presber W, Schonian G. Genetic heterogeneity of ribosomal internal transcribed spacer (its) in clinical samples of *Leishmania donovani* spotted on filter paper as revealed by single-strand

conformation polymorphisms (sspc) and sequencing. Transac of the Roy Soc of Trop Med Hyg. 2000; 94:1-5.

78.Oliveira TMFS; Vasconcelos EJR, Nakaghi, ACH, Defina TPQ, Jusi MMG, Baldani CD, Cruz KC, Machado RZ. A novel A2 allele Found in *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*. Rev Bras de Parasitol. Jabuticabal. 2011;20(1):42-8.

79.Garin YJ, Meneceur P, Pratlong F, Dedet J-P, Derouin F, Lorenzo F. A2 gene of Old World Cutaneous *Leishmania* is a single highly conserved functional gene. BMC Infect Dis. 2005;5:18.

80.Pereira EFA. Variabilidade genética e diagnóstico molecular da *Leishmania spp.* pelas técnicas de RAPD e PCR no estado do Paraná e casos importados. [Dissertação]. Mestrado em Ciências Biológicas: Universidade Federal do Paraná, Curitiba; 2005.

81.Ikonomopoulos J; kokotas S; Gazouli M; Zavras A; Stoitsiou M; Gorgoulis VG. Molecular diagnosis of leishmaniosis in Dogs. Comparative application of traditional diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples. Vet Parasitol. 2003;113:99-103.

82.Virreira M; et al. Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection. Am J Trop Med Hyg. 2003;68(5):574-82.

83.Corte MD, Gonçalves JC, Silva CS et al. Análise da concordância interobservadores em exames de Papanicolaou. NewLab, Ed 80. 2007

84.Beghetto MG, Luft VC, Mello ED, Polanczyk CA. Avaliação nutricional: descrição da concordância entre avaliadores. Rev Bras Epidemiol 2007;10:506-16.

85. Shrout PE. Measurement reliability and agreement in psychiatry. Statistical Methods in Medical Research. 1998;7:301-17.

86.Hendrick R. The leishmaniasis in biology and medicine. London: Academic Press. 1987. p.703-729.

87.Maia C; Campino L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. Vet Parasitol. 2008;197(3-4):498-503.

88.Cardim, MFM; Rodas, LAC; Dibo, MR; Guirado, MM; Oliveira, AM; Chiaravalloti Neto, F. Introdução e expansão da Leishmaniose visceral americana em humanos no estado de São Paulo, 1999-2011. Rev. Saúde Pública. São Paulo. 2013;47(4):1-9

89.Paltrinieri S, Solano-Gallego L, Fondati A, Lubas G, Gradoni L, Castagnaro M, Crotti A, Maroli M, Oliva G, Roura X, Zatelli A, Zini E. Guidelines for diagnosis and

clinical classification of leishmaniasis in dogs. J Am Vet Med Assoc. 2010;236(11):1184–1191

90.Laurenti MD, Rossi CN, Matta V, Marcondes LM. Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi to the natural vector. Vet Parasitol. 2013; 196(3-4):296-300.

91.Schubach EYP. Validação da técnica de imunocromatografia rápida de duplo percurso para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em amostras de sangue total e soro. [Dissertação] Universidade de Brasília, Brasília. 2011.

92.Silva ES, Van der Meide WF, Schoone GJ, Gontijo CMF, Schallig HDFH, Brazil RP. Diagnosis of canine Leishmaniasis in the endemic area of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, by parasite, antibody and DNA detection assays. Vet Res Commun. 2006;30:637-43.

93.Ferreira EC, de Lana M, Carneiro M, Reis AB, Paes DV, Silva ES, Schallig H, Gontijo CM. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. Vet Parasitol 2007;146(3-4):235-41.

94.Brasil. Esclarecimento sobre substituição do protocolo diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC). Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Brasília: Ministério da Saúde. 2011. [Acesso 2015 jul 20] Disponível em: www.saude.gov.br/svs.

95.Costa RT, França JC, Mayrink W, Nascimento E, Genaro, O, CampoS-Neto, A. Standardization of a rapid immununochromatographic test with the recombinant antigens k39 and k26 for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2003; 97:678-82.

96.Reithinger, R, Quinnell RJ, Alexander B, Davies, CR. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay, and PCR. J Clin Micr. 2002;40(7):2352-56.

97.Badaró R; Benson D, Eulálio MC, Freire M, Cunha S, Netto EM, Pedral-Sampaio D, Madureira C, Burns JM, Houghton RL, David JR, Reed SG. rk39: a cloned antigen of *Leishmania chagasi* that predicts active visceral leishmaniasis. J Infect Dis. 1996; 173(3):758-61.

98.Scalone A, de Luna R, Oliva G, Baldi L, Satta G, Vesco G, Mignone W, Turilli C, et al. Evaluation of the *Leishmania* recombinant K39 antigen as a diagnostic marker for canine leishmaniasis and validation of a standardized enzyme-linked immunosorbent assay. Vet Parasitol. 2002;104:275-85.

99.Romero GAS, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America. A systematic review. PLoS. Negl. Trop. Dis. 2010;4(1):1-17.

100. Porrozzi R, Costa MVS, da Teva A, Falqueto A, Ferreira AL, Santos CD dos, Fernandes AP, Gazzinelli RT, Campos-Neto A, Grimaldi Jr G. Comparative evaluation of Enzyme-Linked Immunosorbent Assays based on crude and recombinant Leishmanial antigens for serodiagnosis of symptomatic and asymptomatic *Leishmania infantum* visceral infections in dogs. *Clin Vac Immunol*. 2007;14(5):544-8.
101. Pedras MJ, Viana LG, Oliveira EJDE, Rabello A. Comparative evaluation of direct agglutination test, rk39 and soluble antigen-ELISA and RIFI for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil. *Transactions of the Royal Society of Trop Med and Hyg*. 2008;102(2):172-8.
102. Figueiredo FB, Madeira MF, Menezes RC, Pacheco RS, Pires MQ, Furtado MC, Pinto AG, Schubach TMP. Efficacy of an indirect immunofluorescence test in the diagnosis of canine leishmaniosis. *The Vet J*. 2010;186(1):123-4.
103. Silva DA, Madeira MF, Abrantes TR, Barbosa Filho CJL, Figueiredo FB. Assessment of serological tests for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Vet J* 2013;195(2):252-3.
104. Arruda MM, Figueiredo FB, Cardoso FA, Hiamamoto RM, Brazuna JCM 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*. 2013;8(7):e69988.
105. Lachaud L; Hammami SM, Chabbert E. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol*. 2002. 40(1):210-15.
106. Cortes S, Rolão N, Ramada J, Campino L. PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* s.l.-specific kinetoplastid primers. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2004;98(1):12-17.
107. Ordeix L, Solano-Galleg, LAIA, Fondevila D, Ferrer L, Fondati A. Papular dermatitis due to *Leishmania* spp. infection in dogs with parasite-specific cellular immune responses. *Vet Dermatol* 2005;16(3):187-191.
108. Santos JM; Dantas-Torres F, Mattos MR, Lino FR, Andrade LS, Souza RC, Brito FL, Brito ME, Brandão-Filho SP, Simões-Mattos L. Prevalence of anti-*Leishmania* spp antibodies in dogs from Garanhuns, in the middle scrub zone (Agreste) of Pernambuco. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2010;43(1):41-5.
109. Faria, A. R.; Andrade, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. *Revista Pan-Amaz. Sau. Minas Gerais*. 2012;3(2):47-57.
110. Fisa R, Riera C, Gallego M, Manubens J, Portus M. Nested PCR for diagnosis of canine leishmaniosis in peripheral blood, lymph node and bone marrow aspirates. *Vet Parasitol*. 2001; 99:105-11.

- 111.Manna L; Vitale F, Reale S, Caracappa A, Pavone LM. Comparison of different tissue sampling for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniosis. *Vet Parasitol.* 2004; 125(3-4):251-62.
- 112.Reale S, Maxia L, Vitale F, Glosriosos NS, Caracappa S, Vesco G. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. *J Clin Microbiol.* 1999;37(9):2931-35.
- 113.Ferrer L, Rabanal RM, Domingo M, Ramos JA, Fondevila D. Identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tissues by immunoperoxidase staining. *Res Vet Sci* 1988;44:194-6.
- 114.Srividya G, Kulshrestha A, Singh R, Salotra P. Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade. *Parasitol Res.* 2012; 110:1065-78.
- 115.Cruz I, Nieto Javier, Moreno Javier, Cañavate Carmen, et al. *Leishmania/HIV* co-infections in the second decade. *Indian Journal of Medical Research, New Delhi.* 2006;123:357-88.
- 116.Antinori S, Cascio A, Parravicini C, Bianchi R, Corbellino M. Leishmaniasis among organ transplant recipients. *Lancet Infect Dis, New York.* 2008;8:191-9.
- 117.Alam MZ, Shamsuzzaman AK, Kuhls K, Schonian G. PCR diagnosis of visceral leishmaniasis in an endemic region, Mymensingh district, Bangladesh. *Trop Med Int Health.* 2009;14(5):499-503.
- 118.Silva MAL, Medeiros RA; Brandão-Filho S; Melo FL; Medeiros Z. Alvos moleculares utilizados em PCR para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Rev Eletrônica de Farmácia.* 2010; 7:1-15.
- 119.Antonialli SAC. Ecoepidemiologia da Leishmaniose Visceral Americana e sua distribuição espacial no estado de Mato Grosso do Sul 1994 – 2003. [Tese]. Ciências pela Coordenação dos Institutos de Pesquisa da Secretaria do Estado de São Paulo. 2006.
- 120.Ewers AT, Rizzo LV, Filho JK. *Imunologia e envelhecimento.* Einstein. 2008; 6 (Supl 1):13-20.
- 121.Botelho ACA, Natal D. Primeira descrição epidemiológica da leishmaniose visceral em Campo Grande, Estado de Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009;42(5):503-8.
- 122.Alves MCGP; Matos MR, Reichmann ML, Dominguez MH. Dimensionamento da população de cães e gatos do interior do Estado de São Paulo. *Rev. de Saúde Pública, São Paulo.* 2005;39(6): 891-7
- 123.Julião FS, Souza BMPS, Freitas DS, Oliveira LS, Larangeira DF, Dias-Lima AG, Souza VMM, Barrouin-Melo SM, Moreira Jr ED, Paule BJA, Franke CR.

Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. *Pesq. Vet. Bras.* 2007; 27(8):319-24.

124. Palatnik-de-Sousa CB, Batista-de-Melo LM, Borja-Cabrera GP, Palatnik M, Lavor CC. Improving methods for epidemiological control of canine visceral leishmaniasis based on a mathematical model: impact on the incidence of the canine and human disease. *Anais Acad. Bras. Ciênc.* 2004;76(3):583-93.

125. Moreira ED Jr, Mendes de Souza VM, Sreenivasan M, Nascimento EG, Pontes CL. Assessment of an optimized dog-culling program in the dynamics of canine *Leishmania* transmission. *Vet Parasitol.* 2004;122(4):245-52.

126. Costa CHN, Tapety CMM, Werneck, GL. Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2007;40(4):415-19.

127. Camargo ME, Silva GR, Castilho EA, Silveira AC. Inquérito sorológico da prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1984;26:192-204.

128. Borges-Pereira J, Zauza PL, Galhardo MC, Nogueira JS, Pereira GRL, Cunha RV. Doença de Chagas na população urbana do Distrito Sanitário de Rio Verde, Mato Grosso do Sul, Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34(5): 459-466.

129. Gaúna LA. Mapeamento da Doença de Chagas no Município de Porto Murtinho-MS. *Arte e Ciência.* 2011.

130. Soares RPP, Santoro MM. α -Glycerophosphate Dehydrogenase Activity in Flight Muscles of Triatomine Bugs *Panstrongylus megistus* and *Triatoma sordida*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2000. p.773-775.

131. Dias JCP, Prata A, Schofield CJ. Doença de Chagas na Amazônia: esboço da situação atual e perspectivas de prevenção. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* 2002;35(6):669-78.

132. Santos FM. Avaliação de triatomíneos no pantanal Sul-matogrossense, Corumbá/MS. [Dissertação]. Programa Ciências ambientais e sustentabilidade agropecuária: Universidade Católica Dom Bosco. 2014.

133. Camacho AA, ALVES RO. Cardiopatia chagásica em caninos. In: Belerian, G; et al. Afecciones cardiovasculares em pequenos animais. Interbook. São Paulo. 2007;38(5):1351-56.

134. Montenegro VM; Jiménez M, Pinto Dias JC, Zeledón R. Chagas disease in dog dogs from endemic areas of Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz.* 2002; p.491-494.

135. Lucheis SB, Da Silva AV, Araújo JR. JP, Langoni H, Meira DA, Marcondes-Machado J. Trypanosomatids in dogs belonging to individuals with chronic

Chagas' disease living in Botucatu town and surrounding region. São Paulo State, Brazil. J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis. 2005;11(4):492-509.

136. Souza AI; Paulino-Junior D, Gonçalves SM, Camacho AA. Aspectos clínico-laboratoriais da infecção natural por *Trypanosoma cruzi* em cães de Mato Grosso do Sul. Cienc. Rural. Santa Maria. 2008; vol.38 n.5, p.1351-1356.

137. Umezawa ES. Immunoblot assay using excretes-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas' disease. J Clin Microbiol. 1996; 34(9):2143-2147.

138. REY, L. *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. In: REY, L. Parasitologia. Guanabara Koogan. Rio de Janeiro. 2001. 856p.

139. Oliveira GMG; Figueiró Filho EA, Andrade GMC, Araújo L A, Oliveira MLG, Cunha RV. Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no Município de Três Lagoas, área de transmissão intensa de leishmaniose visceral, Estado de Mato Grosso do Sul, Brasil. Rev Pan-Amaz Saude. 2010;54:304-31.

140. Almeida PS, Gonçalves GMA, Minzão LD, Larson RVG, Cristaldo LCM, Ceretti Júnior W, Obara MT, Barata, JMS. Ocorrência de *Psammolestes coreodes* Bergroth, 1911 (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) no Estado de Mato Grosso do Sul. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2008;41(5):546-546.

141. Herrera HM, Rocha FL, Lisboa CV, Rademaker V, Mourão GM, Jansen AM. Food web connections and the transmission cycles of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida, Trypanosomatidae) in the Pantanal Region, Brasil. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 2011;105:380-87.

142. Tenório MS, Oliveira e Sousa L, Alves-Martin MF, Paixão MS, Rodrigues MV, Starke-Buzetti WA, Araújo Junior JP, Lucheis SB. Molecular identification of trypanosomatids in wild animals. Vet parasitol. 2014;203(1-2):203-6.

143. Alves, F.M.. A complexidade, multifatorialidade e não linearidade da rede de transmissão do *Trypanosoma cruzi* (*Trypanosomatida: Trypanosomatidae*) em quatis (Carnivora: *Procyonidae: Nasua nasua*) de vida livre do Pantanal/MS, um estudo longitudinal. [Dissertação]. Pós-Graduação em Medicina Tropical: Fiocruz. Rio de Janeiro, 2013.

144. Borges, BKA. Fatores de Risco para Leishmaniose Visceral em Belo Horizonte, Minas Gerais. [Dissertação]. Medicina Veterinária: Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG. 2009.

145. Cerbino-Neto J; Werneck GL; Costa CHN. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. Cad Saúde Pública. 2009;25(7):1543-51.

- 146.Almeida ABPF, Mendonça AJ, Sousa VRF. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. *Ciência Rural*. 2010;40(7):1610-15.
- 147.Fernández MS, Salomón OD, Cavia R, Perez AA, Acardi SA, Guccione JD. *Lutzomyia longipalpis* spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis, Misiones, Argentina. *Acta Tropica*. 2010;114(2):81-7.
- 148.Bigeli JG, Oliveira JR WP, Teles NMM. Diagnosis of *Leishmania Leishmania*) *chagasi* infection in dogs and the relationship with environmental and sanitary aspects in the municipality of Palmas, state of Tocantins, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2012;4(5):18-23.
149. Oliveira ALL, Paniago AMM, Dorval MEC, Oshiro ET, Leal CR, Sanches M, Cunha RV, Bóia MN. Foco emergente de Leishmaniose visceral. *Rev Soc. Med. Trop*. 2006;39(5):446-450.
150. Marcondes M, Rossi CN. Leishmaniose visceral no Brasil. *Braz. J. Vet Res Anim Sci*, São Paulo. 2013;50(5):341-352.