

PESQUISA DE ANTICORPOS PARA *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp. E *Leishmania* spp. EM CÃES NO MUNICÍPIO DE PARDINHO, SÃO PAULO

Karine Bott Mantovan¹
Christiane Grave Saraiva Luiz²
Benedito Donizete Menozzi¹
Mariana Guimarães Nilsson¹
Giulia Soares Latosinski¹
Rodrigo Costa da Silva³
Helio Langoni¹

RESUMO

Com a crescente abordagem integração entre saúde humana, saúde animal e ambiental, o cão vem se destacando como potencial reservatório ou sentinela na cadeia epidemiológica de determinadas zoonoses, devido a sua importância como membro do núcleo familiar atual. O presente estudo objetivou determinar a soroprevalência e fatores de risco para toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose visceral canina (LVC) em 181 cães do município de Pardinho, SP, Brasil, participantes de Programa de Controle Populacional, realizado pelo Serviço de Vigilância Sanitária local. As amostras de soro foram submetidas a detecção de anticorpos IgG para *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) e *Leishmania* spp. pela reação de imunofluorescência indireta (RIFI), bem como anticorpos para *Leptospira* spp. pela técnica de soroprecipitação microscópica (SAM). Adicionalmente, questionário epidemiológico relacionado às zoonoses abordadas foi aplicado aos tutores para verificar associação epidemiológica dos fatores de risco com os resultados sorológicos. Para leptospirose, 7/181 (3,87%; IC95% 1,5-7,8%) animais foram reagentes, sendo *Canicola* o sorovar prevalente (5/7, 71,43%), seguido por *Icterohaemorrhagiae* (1/7, 14,29%) e *Pyrogenes* (1/7, 14,29%). Para toxoplasmose, 17/181 (9,39%; IC95% 5,6-14,6%) amostras apresentaram anticorpos específicos, sendo 8/17 (47,05%) com título de 16, 7/17 (41,17%) com título 64, 1/17 (5,88%) com título 256 e 1/17 (5,89%) com título 4096. Por outro lado, nenhuma amostra apresentou anticorpos específicos detectáveis para *Leishmania* spp. Por meio deste estudo, foi possível o registro da circulação de *T. gondii* e *Leishmania* spp. em cães do município estudado. Com isso, demonstra-se a importância de realização de inquéritos sorológicos em cães durante programas de controle populacional. Dada a importância de se controlar estas e outras zoonoses relevantes a saúde pública, se destacam a necessidade de ações de vigilância epidemiológica e a importância do cão como sentinela.

Palavras chave: antropozoonoses, saúde pública, *Canis familiaris*, epidemiologia.

RESEARCH FOR *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp. AND *Leishmania* spp. ANTIBODIES IN DOGS FROM PARDINHO, SÃO PAULO**ABSTRACT**

The dog, with the growing approach to the integration between human, animal and environmental, has been standing out as a potential reservoir or sentinel to the

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), Campus de Botucatu. Correspondência: helio.langoni@unesp.br

² Médica Veterinária da Vigilância Sanitária da Prefeitura Municipal de Pardinho-SP

³ Universidade do Oeste Paulista (UNOESTE), Faculdade de Medicina Veterinária, Presidente Prudente

epidemiological chain of some specific zoonoses, due to its importance as a member of the current family nucleus. The present study aimed to determine the seroprevalence and risk factors to toxoplasmosis, leptospirosis and canine visceral leishmaniasis (LVC) in 181 dogs from Pardinho, SP, Brazil., included on a Population Control Program carried out by the local Health Surveillance Service. Serum samples were researched for *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) and *Leishmania* spp. IgG antibodies using the indirect immunofluorescence test (IFAT), whereas *Leptospira* spp. antibodies using the microscopic agglutination test (MAT). Additionally, an epidemiological questionnaire related to the studied zoonoses was applied to the owners to verify the epidemiological association of the risk factors to the serological results. For leptospirosis, seropositivity was in 7/181 (3.87%; 95%CI 1.5-7.8%) animals resulted reagent, with Canicola as the prevalent serovar (5/7, 71.43%), followed by Icterohaemorrhagiae (1/7, 14.29%) and Pyrogenes (1/7, 14.29%). For toxoplasmosis, 17/181 (9.39%; 95%CI 5.6-14.6%) samples resulted positive, presenting titer 16 (8/17, 47.05%), titer 64 (7/17, 41.17%), titer 256 (1/17, 5.89%), and titer 4096 (1/17, 5.88%). On the other hand, no sample resulted positive for *Leishmania* spp. antibodies. In this way, this study reports the unprecedented record of the circulation of *T. gondii* and *Leptospira* spp. among dogs in the studied area. This demonstrates the importance of serological surveys on dogs during population control programs. The need for epidemiological surveillance actions and the importance of the dog as sentinel are highlighted, due to the importance of controlling these and other zoonoses relevant to public health.

Keywords: anthroozoonoses, public health, *Canis familiaris*, epidemiology.

INVESTIGACIÓN DE ANTICUERPOS PARA *Toxoplasma gondii*, *Leptospira* spp. y *Leishmania* spp. EN PERROS EN EL MUNICIPIO DE PARDINHO, SÃO PAULO

RESUMEN

Con el creciente enfoque para la integración entre la salud humana, animal y ambiental, el perro se destaca como potencial reservorio o centinela en la cadena epidemiológica de determinadas zoonosis, por su importancia como miembro del núcleo familiar actual. El presente estudio tuvo como objetivo determinar la seroprevalencia y los factores de riesgo para toxoplasmosis, leptospirosis y leishmaniasis visceral canina (LVC) en 181 perros de la ciudad de Pardinho, SP, Brasil, participantes del Programa de Control de la Población, realizado por el Servicio de Vigilancia Sanitaria local. Las muestras de suero fueron sometidas a reacción de inmunofluorescencia indirecta (RIFI) para la detección de anticuerpos IgG para *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) y *Leishmania* spp., así como anticuerpos frente a *Leptospira* spp. por la técnica de aglutinación microscópica (SAM). Adicionalmente, se aplicó a los propietarios un cuestionario epidemiológico relacionado a las zoonosis abordadas para verificar la asociación epidemiológica de los factores de riesgo con los resultados serológicos. Para la leptospirosis, 7/181 (3,87%; IC95% 1,5-7,8%) animales fueron reactivos, siendo Canicola el serovar prevalente (5/7, 71,43%), seguido de Icterohaemorrhagiae (1/7, 14,29%) y Pyrogenes (1/7, 14,29%). Para la toxoplasmosis, 17/181 (9,39%; IC95% 5,6-14,6%) mostraron anticuerpos específicos, 8/17 (47,05%) con un título de 16, 7/17 (41,17%) con título 64, 1/17 (5,89%) con título 256 y 1/17 (5,88%) con título 4096. Por otro lado, ninguna muestra mostró anticuerpos específicos detectables para *Leishmania* spp. Así, en este estudio fue posible registrar la circulación de *T. gondii* y *Leishmania* spp. en los perros del municipio estudiado. Esto demuestra la importancia de realizar investigaciones serológicas en perros durante los programas de control de la población. Dada la importancia de controlar estas y otras zoonosis relevantes para la salud

pública, se destaca la necesidad de acciones de vigilancia epidemiológica y la importancia del perro como centinela.

Palabras clave: antropozoonosis, salud pública, *Canis familiaris*, epidemiologia

INTRODUÇÃO

Com a integração entre as saúdes humana, animal e ambiental, o cão se destaca como potencial reservatório e sentinela para transmissão de zoonoses devido a sua importância como membro do núcleo familiar atual. Essa estreita relação o torna uma importante fonte de infecção para doenças infecciosas causadas por diferentes microrganismos, como toxoplasmose, leptospirose e leishmaniose visceral canina (LVC) (1).

A toxoplasmose é causada pelo protozoário parasita intracelular obrigatório, *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*), capaz de infectar animais homeotérmicos, ocorrendo, sobretudo, nas regiões de clima temperado e tropical. Os únicos hospedeiros definitivos são os animais da família Felidae, que podem eliminar oocistos, que, quando esporulados, se tornam resistentes ao meio ambiente. Há uma ampla variedade de hospedeiros intermediários, incluindo os cães e o homem. Estes se infectam pela ingestão de água e alimentos contaminados com oocistos, pela ingestão de carne crua ou mal cozida contendo bradizoítos no interior de cistos teciduais, ou por via congênita (taquizoítos), podendo causar abortos e problemas no desenvolvimento do feto (2,3,4).

Dentre as doenças infecciosas bacterianas, a leptospirose é uma das zoonoses mais difundidas no mundo e ocorre de forma endêmica no Brasil. *Leptospira interrogans* (*L. interrogans*) é a espécie mais comumente relacionada aos quadros de doença. Considerada uma doença sazonal, sua incidência aumenta principalmente em períodos de alto índice pluviométrico, onde é comum a ocorrência de surtos (5). A leptospirose pode acometer animais domésticos e silvestres. A transmissão ocorre pelo contato com água ou alimentos contaminados com a bactéria eliminada pela urina de roedores, cães e outros animais, principalmente na zona urbana (6). Vários sorovares de *Leptospira* spp. podem estar envolvidos na ocorrência da doença canina, sendo que os sorovares mais comuns são Icterohaemorrhagiae e Canicola (7,8).

Já a leishmaniose visceral (LV) é considerada uma das principais doenças tropicais negligenciadas no mundo, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS). No Brasil, sua ocorrência corresponde a 90% dos casos notificados nas Américas (9,10). É causada por um protozoário dimórfico, *Leishmania infantum* (*L. infantum*), e sua ocorrência depende, portanto, da presença do protozoário, de vetor suscetível, o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (*Lu. longipalpis*) (11,12), e de um hospedeiro/reservatório suscetível (13,14). No ambiente doméstico, o cão é considerado importante hospedeiro e fonte de infecção para os vetores. Assim, a leishmaniose visceral canina (LVC) apresenta grande importância do ponto de vista da saúde pública. Os cães podem ser assintomáticos, oligossintomáticos ou apresentar quadros clínicos graves da doença (15). Em relação ao ambiente, a presença de árvores, vegetações e matéria orgânica no peridomicílio é considerada como fator de risco para a sua ocorrência (16,17).

Considerando a importância de *L. infantum*, *Leptospira* spp. e *T. gondii* em cães, o papel destes como reservatório e sentinela para zoonoses, o ambiente como um nicho ecológico para esses patógenos e, conseqüentemente, um risco potencial de infecção para humanos, e considerando-se, ainda, os aspectos de saúde única, foi realizado o presente trabalho, que teve como objetivo determinar a ocorrência de anticorpos, e respectivos fatores

de risco, em cães do município de Pardinho, SP, Brasil, submetidos a castração pelo Centro de Vigilância Sanitária local.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostragem

O presente estudo foi desenhado como um estudo de corte transversal. Amostras de sangue de cães domiciliados de área urbana e rural, diferentes idades, e ambos os sexos, do município de Pardinho (23°04'52"S, 48°22'25"O), localizado na região centro-oeste do estado de São Paulo, Brasil. Os animais amostrados foram participantes de campanha de castração promovida pelo Centro de Vigilância Sanitária da Prefeitura Municipal de Pardinho. As amostras foram coletadas no período de janeiro a outubro de 2019, por punção venosa em tubos de ensaio sem anticoagulante. As amostras foram centrifugadas a 1600 x g por 10 minutos, para obtenção do soro e, estas, acondicionadas em microtubo a -20°C. Previamente a coleta o proprietário assinou o termo de consentimento e foi aplicado o questionário epidemiológico relacionado as doenças estudadas.

O cálculo amostral foi determinado com base na estimativa da população canina do município, levando-se em consideração a campanha de vacinação antirrábica de 2017 realizada pelo Instituto Pasteur, com total de 1987 cães. Para este cálculo, utilizou-se uma soroprevalência de 50%, pois não há estudos no município estudado, com precisão de 7% e nível de significância de 95%, resultando em um "n" mínimo amostral de 181. Todos os cálculos foram realizados no site OpenEpi (https://www.openepi.com/Menu/OE_Menu.htm). O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ/UNESP, Botucatu (n.0119/2019).

Pesquisa de anticorpos

Para leptospirose foi utilizada a técnica de Soroaglutinação Microscópica (SAM) de acordo com o Ministério da Saúde (18). Como antígeno, foram utilizados 13 sorovares de *Leptospira* spp., mantidos por repiques semanais em meio Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH) a 28°C, a saber: Australis, Autumnalis, Bratislava, Canicola, Cynopteri, Copenhageni, Icterohaemorrhagiae, Hardjo, Djasman, Grippotyphosa, Pomona, Pyrogenes e *Nupezoo-1*, este último isolado de urina de cão atendido no Hospital Veterinário da FMVZ, UNESP-Botucatu. Em microplaca, amostra de soro diluído a 1:50 foram pipetados e desafiados aos sorovares, considerando-se reagentes quando aglutinação de 50% ou mais das leptospirosas visualizadas foi observada ao microscópio de campo-escuro, em relação aos respectivos controles. O título de corte considerado foi 100. Os soros reagentes na prova de triagem foram submetidos à titulação.

Para pesquisa de anticorpos para *Leishmania* spp. e *Toxoplasma gondii* utilizou-se a reação de imunofluorescência indireta [RIFI] (19). Considerou-se título de corte de 16 para toxoplasmose e de 40 para leishmaniose. Em casos de positividade procedeu-se as titulações para avaliar o resultado final.

Análise estatística

Os dados foram tabulados em planilha Excel e calculada a prevalência e intervalo de confiança de 95% (IC95%) para os animais positivos. A associação entre as variáveis epidemiológicas e os resultados sorológicos foram analisados pelo Teste de Qui-quadrado (χ^2) ou Teste Exato de Fisher. A análise estatística foi realizada com o software SAS OnDemand of Academics (<https://odamid-usw2.oda.sas.com/SASODAControlCenter/>), considerando-se um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Das amostras avaliadas, 17/181 (9,39%; IC95% 5,6-14,6%) foram positivas para toxoplasmose, sendo que 8/17 (47,05%) apresentaram título 16, 7/17 (41,17%) título 64, 1/17 (5,88%) título 256, e 1/17 (5,88%) título 4096.

Para leptospirose, 7 (3,87%; IC95% 1,5-7,8%) amostras foram reagentes. Dentre os sorovares pesquisados, Canicola (5/7, 71,43%) foi o prevalente, seguido por Icterohaemorrhagiae e Copenhageni (1/7, 14,29%) e Pyrogenes (1/7, 14,29%). Com relação aos títulos para os sorovares detectados, seis amostras apresentaram títulos para sorovar Canicola (três amostras com título de 100, duas com título de 200 e uma com 400), enquanto duas amostras apresentaram título 1600 para os sorovares Copenhageni e Icterohaemorrhagiae, e uma apresentou título 100 para o sorovar Pyrogenes. Além disso, coaglutinação foi observada em duas amostras para o sorovares Icterohaemorrhagiae e Copenhageni, com título 1600, e em outras duas amostras para os sorovares Nupezo-1 e Pyrogenes, com título 100.

Todas as amostras resultaram negativas para a pesquisa de anticorpos para *Leishmania* spp.

As variáveis analisadas e os resultados dos diagnósticos sorológicos estão descritos na tabela 1, não sendo observada associação estatística ($p > 0,05$).

Tabela 1. Associação significativa entre as variáveis epidemiológicas analisadas e a pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii* e *Leptospira* spp. em cães do município de Pardinho, SP, Brasil.

VARIÁVEL	N (%) ^a	<i>Toxoplasma gondii</i>			<i>Leptospira</i> spp.		
		n (%) ^b	OR (IC95%) ^d	p ^e	n (%) ^c	OR (IC95%)	p
Idade							
Adulto	151 (93,79)	14 (9,27)			6 (3,97)		
Idoso	10 (6,21)	1 (10)	0,92 (0,11-7,80)	1,00 ^g	1 (10)	0,37 (0,04-3,43)	0,74 ^g
Sexo							
Macho	68 (40)	8 (11,76)			4 (5,88)		
Fêmea	102 (60)	8 (7,84)	1,57 (0,56-4,40)	0,55 ^f	3 (2,94)	2,06 (0,45-9,52)	0,57 ^g
Vacinado							
Não	126 (72,83)	16 (12,70)			5 (3,97)		
Sim	47 (27,17)	1 (2,13)	6,69 (0,86-51,94)	0,06 ^g	2 (4,26)	0,93 (0,17-4,96)	1,00 ^g
Ambiente							
Urbano	113 (63,13)	12 (10,62)			6 (5,31)		
Rural	66 (36,87)	5 (7,58)	1,45 (0,49-4,31)	0,68 ^f	1 (1,52)	3,64 (0,43-30,96)	0,40 ^g
Presença de roedor							
Sim	94 (56,29)	6 (6,38)			3 (3,19)		
Não	73 (43,71)	10 (13,70)	0,43 (0,15-1,24)	0,18 ^f	4 (5,48)	0,57 (0,12-2,62)	0,72 ^g
Acesso à rua							
Sim	86 (50)	5 (5,81)			5 (5,81)		
Não	86 (50)	11 (12,79)	0,42 (0,14-1,27)	0,19 ^f	2 (2,33)	2,59 (0,49-13,74)	0,44 ^g
Rede de água e esgoto							
Sim	108 (63,16)	12 (11,11)			5 (4,63)		
Não	63 (36,84)	4 (6,35)	1,84 (0,57-5,98)	0,45 ^g	2 (3,17)	1,48 (0,28-7,87)	0,98 ^g
Ração disponível à noite							
Sim	41 (24,40)	1 (2,44)			2 (4,88)		
Não	127 (75,60)	15 (11,81)	0,19 (0,02-1,46)	0,12 ^g	5 (3,94)	1,25 (0,23-6,71)	1,00 ^g

Legenda: ^a N, número de amostras testadas; %, porcentagem; ^b n, número de animais positivos para a pesquisa de anticorpos para *Toxoplasma gondii* pela RIFI; ^c n, número de animais reagentes para a pesquisa de anticorpos para *Leptospira* spp. pela SAM; ^d OR, Odds Ratio; IC95%, intervalo de confiança de 95%; ^e p, valor de p para nível de significância de 5%; ^f Teste de Qui-quadrado (χ^2); ^g Teste Exato de Fisher.

DISCUSSÃO

A soroprevalência de anticorpos para *Leptospira* spp. observada em amostras caninas no presente estudo corrobora com a variação de 2,66 a 59,25% observada no país (20), demonstrando a ocorrência da infecção na região.

Modolo et al. (21) observaram soroprevalência de 15,3% em 775 animais avaliados no município de Botucatu, SP. Silva et al. (22) encontraram 17,9% de animais reagentes e Coiro et al. (23) detectaram soroprevalência de 7,6% de anticorpos para *Leptospira* spp. em 302 cães no mesmo município, área limítrofe de Pardinho, SP.

Essas diferenças na soroprevalência podem ser explicadas por vários fatores que influenciam na ocorrência da infecção, com destaque para a topografia, região, temperatura, umidade, índices pluviométricos, reservatórios selvagens, reservatórios domésticos e outros fatores ambientais (24), bem como pela diferença nas populações caninas envolvidas e ainda pela procedência dos antígenos testados.

A resposta sorológica é variável para os diferentes sorovares e um dos sorovares mais frequentemente envolvidos, assim como no presente estudo, foi o Canicola (23,25,26,27), o que confirma o papel dos cães na manutenção desse sorovar, adaptado à espécie canina. Cães podem eliminar o agente na urina por longos períodos de tempo, mesmo sendo assintomáticos (22,28).

Sorovares que infectam principalmente humanos, como Icterohaemorrhagiae, foram detectados no presente estudo, indicando a circulação deste sorovar no ambiente e sendo um fator muito importante para saúde pública, uma vez que a proximidade entre o homem e os cães levam à exposição aos mesmos fatores de risco (30). Portanto, as autoridades sanitárias devem considerar as informações veterinárias valiosas na sinalização de um risco, para que o planejamento de atividades locais específicas para o controle da leptospirose humana possa ser realizado (31,32).

Ao focar na toxoplasmose, a soroprevalência observada foi de 9,39%. Na mesma região, em Botucatu, Langoni et al. (31) observaram 33,1% de positividade, comparado a 27,25% observado por Ullmann et al. (32) e 20,8% por Coiro et al. (23). Por se tratar de um coccídio cosmopolita, *T. gondii* é encontrado nas mais distintas regiões geográficas, e é de se esperar resultados variáveis de soroprevalência. Há grande dispersão do protozoário no ambiente, dependendo da região estudada (2). Devido a relação intrínseca entre homens e cães, a ideia do cão como indicativo de contaminação ambiental é reforçada, devendo-se considerá-lo como sentinela para a doença, no que se refere à saúde pública. Desta forma, salienta-se a importância dos inquéritos soroepidemiológicos para se avaliar a dispersão do agente no meio ambiente (33).

Em relação às variáveis analisadas como fatores de risco, não se observou associação estatística com variáveis que normalmente estão relacionadas à ocorrência das doenças como idade, sexo, situação vacinal, ambiente em que vivem, se há a presença de roedores, se tem acesso livre a rua, se há a presença de água tratada e rede de esgotos ou se a ração fica disponível a noite.

A pesquisa de anticorpos para *Leishmania* spp. resultou negativo para amostras testadas, corroborando os dados obtidos por Langoni et al. (34) e Babboni et al. (35) no município de Botucatu, SP. A expansão da LVC no estado de São Paulo foi observada por Cardim et al. (36) ao longo de um eixo principal que se estende da região noroeste à sudeste do estado, em direção à região de Bauru, SP, seguindo o gasoduto Bolívia-Brasil e a Rodovia Marechal Rondon, que atravessa a mesma região.

De acordo com a Superintendência de Controle de Endemias do Estado de São Paulo (SUCEN), o município Pardinho é considerado silencioso, não receptivo e não vulnerável,

devido a não apresentar casos autóctones da doença e não ter a presença do vetor (37). De acordo com Sevá et al. (38), medidas de controle devem ser priorizadas em áreas que não possuem registro atual de vetores ou hospedeiros infectados com LVC, como Pardinho, mas que apresentam riscos para a introdução da doença como a dispersão de vetores competentes de LVC, cães e humanos infectados, e fatores de risco associados. Apesar dessa situação, as ações de vigilância são extremamente importantes, considerando-se a proximidade de outros municípios com casos de LVC.

Com isso, demonstra-se a importância e a oportunidade de realização de inquéritos sorológicos em cães destinados a programas de controle populacional, o que pode ser viabilizado mediante parcerias entre a academia e órgãos de saúde pública, pois por meio deste estudo, foi possível constatar a circulação das zoonoses citadas entre cães do município estudado, informação até então não acessada nessa população.

CONCLUSÃO

Cães do município estudado foram expostos aos agentes da leptospirose e toxoplasmose e que, portanto, caracterizam sua importância epidemiológica na região estudada. Embora não tenha sido detectada resposta para anticorpos contra *Leishmania* spp., existe o risco de introdução da enfermidade considerando-se as regiões limítrofes ao município serem áreas endêmicas para essa importante zoonose. Assim, ações de vigilância epidemiológica são importantes para o monitoramento, prevenção e controle das zoonoses estudadas.

REFERÊNCIAS

1. Jacob J, Lorber B. Diseases transmitted by man's best friend: the dog. *Microbiol Spectr*. 2015;3(4):1-15.
2. Zanella JRC. Zoonoses emergentes e reemergentes e sua importância para saúde e produção animal. *Pesq Agropec Bras*. 2016;51(5):510-9.
3. Pinto-Ferreira F, Caldart E, Pasquali A, Mitsuka-Breganó R, Freire R, Navarro I. Padrões de transmissão e fontes de infecção em surtos de toxoplasmose humana. *Emerg Infect Dis*. 2019;25(12):2177-82.
4. Da Silva JG, Alves BHLS, Melo, RPB, Kim, PCP, Neto, OLS, Bezerra MJG, Sá SG, Mota RA. Occurrence of anti-Toxoplasma gondii antibodies and parasite DNA in raw milk of sheep and goats of local breeds reared in Northeastern Brazil. *Acta Trop*. 2015;142:145-8.
5. Jorge S, Schuch RA, De Oliveira NR, Da Cunha CEP, Gomes CK, Oliveira TL, Rizzi C, Qadan AF, Pacce VD, Recuero ALC, Brod CS, Dellagostin OA. Human and animal leptospirosis in Southern Brazil: A five-year retrospective study. *Travel Med Infect Dis*. 2017;18:46-52.
6. Oliveira PPV, Ohara MP, Hoffmann JL, Silva AML, Patrício MIA, Barreto MLCA, Avelar KES, Carvalho JLB, Araújo WN. Fatores de risco para leptospirose, relacionada à atividade laboral em agricultores de arroz em uma cidade do nordeste do Brasil, 2008. *J Health Biol Sci*. 2014;2(3):99-107.

7. Santanna R, Vieira A, Grapiglia J, Lilenbaum W. High number of asymptomatic dogs as leptospiral carriers in an endemic area indicates a serious public health concern. *Epidemiol Infect.* 2017;145(9):1852-4.
8. Lau SF, Wong JY, Khor KH, Roslan MA, Rahman MSA, Bejo SK, Radzi R, Bahaman AR. Seroprevalence of leptospirosis in working dogs. *Top Companion Anim Med.* 2017;32(4):121-5.
9. Organização Mundial da Saúde / Organização Pan-Americana da Saúde - OMS/OPAS. Leishmanioses: informe epidemiológico das Américas. Informe de Leishmanioses n.7 – Março, 2019. 2019;1:1-27.
10. Hotez PJ, Alvarado M, Basáñez M-G, Bolliger I, Bourne R, Boussinesq M, Brooker SJ, Brown AS, Buckle G, Budke CM, Carabin H, Coffeng LE, Fèvre EM, Fürst T, Halasa YA, Jasrasaria R, Johns NE, Keiser J, King CH, Lozano R, Murdoch ME, O’hanlon S, Pion SDS, Pullan RL, Ramaiah KD, Roberts T, Shepard DS, Smith JL, Stolk WA, Undurraga EA, Utzinger J, Wang M, Murray CJL, Naghavi M. The global burden of disease study 2010: interpretation and implications for the neglected tropical diseases. *PloS Neglec Trop Dis.* 2014;8(7):e2865.
11. Alvar J, Vélez ID, Bern C, Herrero M, Desjeux P, Cano J, Jannin J, Den Boer M, WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PloS One.* 2012;7(5):e35671.
12. De Oliveira, AR, Pinheiro, GRG, Tinoco, HP, Loyola, ME, Coelho, CM, Dias, ES, Monteiro, EM, Silva, FOL, Pessanha, AT, Souza, AGM, Pereira, NCL, Gontijo, NF, Fujiwara, RT, Da Paixão, TA, Santos, RL. Competence of non-human primates to transmit *Leishmania infantum* to the invertebrate vector *Lutzomyia longipalpis*. *PloS Negl Trop Dis.* 2019;13(4):e0007313.
13. Langoni H. Leishmanioses. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1a ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016. p.1013-24.
14. Richini-Pereira VB, Marson PM, Hayasaka EY, Victoria C, Da Silva RC, Langoni H. Molecular detection of *Leishmania* spp. in road-killed wild mammals in the Central Western area of the State of São Paulo, Brazil. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2014;20(1):27.
15. Paiz LM, Donalisio MR, Richini-Pereira VB, Motoie G, Castagna CL, Tolezano JE. Infection by *Leishmania* spp. in free-ranging opossums (*Didelphis albiventris*) in an environmentally protected area inhabited by humans in southeastern Brazil. *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2016;16(11): 728-30.
16. Dias RCF, Thomaz-Soccol V, Pasquali AKS, Alban SM, Fendrich RC, Pozzolo EM, Chiyo L, Bisetto Jr., A, Ferreira FP, Desto SS, Freire RL, Mitsuka-Breganó R, Navarro IT. Variables associated with the prevalence of anti-*Leishmania* spp. antibodies in dogs on the tri-border of Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2018;27(3):338-47.

17. Thomaz-Soccol V, Gonçalves AL, Piechnik CA, Baggio RA, Boeger WA, Buchman TL, Michaliszyn MS, Santos DR, Celestino A, Aquino Jr J, Leandro AS, Paz OLS, Limont M, Bisetto Jr A, Shaw JJ, Yadon ZE, Salomon OD. Hidden danger: Unexpected scenario in the vector-parasite dynamics of leishmaniasis in the Brazil side of triple border (Argentina, Brazil and Paraguay). *PloS Negl Trop Dis*. 2018;12(4):e0006336.
18. Ministério da Saúde / Fundação Nacional da Saúde – MS/FUNASA. Manual de Leptospirose. 2a ed. Brasília: Ministério da Saúde. 1995. 98 p.
19. Camargo ME. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev Bras Patol Clin*. 1974;10(3):87-107.
20. Pinto-Ferreira F, Pasquali AKS, Thomaz-Soccol V, Mitsuka-Breganó R, Caldart ET, Leandro AS, Chiyo L, Pozzolo EM, Cubas P, Giordano LGP, Petterle RR, Navarro IT. Epidemiological relevance of dogs for the prevention of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leptospira* spp. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2019;28(3):383-94.
21. Modolo JR, Langoni H, Padovani CR, Shimabukuro FH, Mendonça AO, Victoria C, Silva WB. Investigação soropidemiológica de leptospirose canina na área territorial urbana de Botucatu, São Paulo, Brasil. *Braz J Vet Res Anim Sci*. 2006;43(5):598-604.
22. Silva WB, Simões LB, Padovani CR, Langoni H, Lopes ALS, Modolo JR. Inquérito sorológico e distribuição espacial da leptospirose canina em área territorial urbana da cidade de Botucatu-SP. *Vet Zootec*. 2009;16(4):656-68.
23. Coiro CJ, Langoni H, Silva RC, Ullmann LS. Risk factors to leptospirosis, leishmaniasis, neosporosis and toxoplasmosis in domiciliated and peridomiciliated dogs in Botucatu - SP. *Vet Zootec*. 2011;18(3):393-407.
24. Alves CJ, Andrade JSL, Vasconcellos SV, Morais ZM, Azevedo SS, Santos FA. Avaliação dos níveis de aglutininas anti-*Leptospira* em cães no município de Patos- PB, Brasil. *Rev Bras Ciênc Vet*. 2000;7(1):17-21.
25. Morikawa VM, Bier D, Pellizzaro M, Ullmann LS, Pappalardo IAD, Kikuti M, Langoni H, Biondo AW, Molento MB. Seroprevalence and seroincidence of *Leptospira* infection in dogs during a one-year period in an endemic urban area in Southern Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48(1):50-5.
26. Paes AC. Leptospirose Canina. In: Megid J, Ribeiro MG, Paes AC. *Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia*. 1a ed. Rio de Janeiro: Roca, 2016, p.356-77.
27. Sakata EE, Yasuda PH, Romero EC, Silva MV, Lomar AV. Sorovares de *Leptospira interrogans* isolados de casos de leptospirose humana em São Paulo, Brasil. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 1992;34(3):217-21.
28. Scanziani E, Calcaterra S, Tagliabue S. Serologic findings in cases of acute leptospirosis in the dog. *J Small Anim Pract*. 1994;35:257-60.
29. Martins G, Penna B, Lilenbaum W. The dog in the transmission of human leptospirosis under tropical conditions: victim or villain? *Epidemiol Infect*. 2012;140(2):207-9.

30. Sant'anna R, Vieira AS, Grapiglia J, Lilenbaum W. High number of asymptomatic dogs as leptospiral carriers in an endemic area indicates a serious public health concern. *Epidemiol Infect.* 2017;145(9):1852-4.
31. Langoni H, Modolo JR, Pezerico SB, Silva RC, Castro APB, Da Silva AV, Padovani CR. Serological profile of anti-Toxoplasma gondii antibodies in apparently healthy dogs of the city of Botucatu, São Paulo, State Brazil. *J Venom Anim Toxins incl Trop Dis.* 2006;12(1):142-8.
32. Ullmann LS, Fornazari F, Camossi LG, Greca H, Silva RC, Menozzi BD, Langoni H. Ações de vigilância continuada, papel do cão como animal sentinela para Toxoplasmose. *Rev Bras Parasitol Vet.* 2008;17(1):345-7.
33. Benitez ADN, Martins FDC, Mareze M, Santos NJR, Ferreira FP, Martins CM, Garcia JL, Mitsuka-Breganó R, Freire RL, Biondo AW, Navarro IT. Spatial and simultaneous representative seroprevalence of anti-Toxoplasma gondii antibodies in owners and their domiciled dogs in a major city of Southern Brazil. *PLoS One.* 2018;13(2):e0192570.
34. Langoni H, Modolo JR, Souza LC, Araújo WN, Shimabukuro FH, Mendonça AO, Leite BLS, Padovani CR. Epidemiological vigilance for canine leishmaniasis in the county of Botucatu, SP, Brazil. *Ars Vet.* 2001;17(3):196-200.
35. Babboni SD, Pereira N, Padovani CR, Pantoja JCF, Victoria C, Gouveia JCM, Dauria SRN, Camargo MCGOC, Modolo JR. Estudo soroepidemiológico prospectivo da leishmaniose visceral americana canina no município de Botucatu, SP. *Vet Zootec.* 2015;22(2):268-74.
36. 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 Públ.* 2013;47(4):691-700.
37. Superintendência de Controle de Endemias - SUCEN. Secretaria do Estado de São Paulo. Situação Atual dos casos de Leishmaniose no estado de São Paulo, Brasil [Internet]. São Paulo: SUCEN; 2017. [citado 26 nov. 2019]. Disponível em: <http://www.saude.sp.gov.br/sucen-superintendencia-de-controle-de-endemias/programas/leishmaniose-visceral/situacao-atual>.
38. Sevá ADP, Mao L, Galvis-Ovallos F, Lima JMT, Valle D. Risk analysis and prediction of visceral leishmaniasis dispersion in São Paulo State, Brazil. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017;11(2):e0005353, 2017.

Recebido em: 26/11/2019

Aceito em: 28/01/2021