

## **Leishmaniose em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, Nordeste do Brasil**

Leishmaniasis in wild, synanthropic and domestic animals on the Island of Itamaracá, Pernambuco, Northeastern Brazil

Leishmaniasis en animales salvajes, sinantrópicos y domésticos en la Isla de Itamaracá, Pernambuco, Nordeste de Brasil

Recebido: 07/02/2022 | Revisado: 14/02/2022 | Aceito: 11/03/2022 | Publicado: 18/03/2022

### **Aksa Ingrid Vieira Batista**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0696-7194>  
Universidade Federal Rural do Semi-Árido, Brasil  
E-mail: aksaingridmv@gmail.com

### **Wagner Wesley Araújo Andrade**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2655-4250>  
Rural Federal University of Pernambuco, Brasil  
E-mail: wagnerwesley08@gmail.com

### **Janilene de Oliveira Nascimento**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5210-2656>  
Rural Federal University of Pernambuco, Brasil  
E-mail: janileneoliveira@outlook.com

### **Weslania Souza Inacio da Silva**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4393-544X>  
Federal University of Sergipe, Brasil  
E-mail: weslaniainacio@hotmail.com

### **Matheus Resende Oliveira**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6535-1077>  
Federal University of Sergipe, Brazil  
E-mail: matheusrxoliveira@gmail.com

### **Igo Gonçalves dos Santos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2318-8053>  
Federal University of Sergipe, Brasil  
E-mail: goncalvesigo1267@gmail.com

### **Manuel Benicio Oliveira Neto**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7499-4971>  
Federal University of Sergipe, Brasil  
E-mail: netooliveiraufs@gmail.com

### **Rafael Antonio Nascimento Ramos**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-0347-9358>  
Federal University of the Agreste of Pernambuco, Brasil  
E-mail: rafaelanramos10@yahoo.com.br

### **Leucio Câmara Alves**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3417-5143>  
Rural Federal University of Pernambuco, Brasil  
E-mail: leucioalves@gmail.com

### **Victor Fernando Santana Lima**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-7255-0664>  
Federal University of Sergipe, Brasil  
E-mail: victor.fslima@gmail.com

### **Resumo**

As leishmanioses são doenças de notificação compulsória, caracterizadas por manifestações clínicas graves, sendo causadas por protozoários intracelulares obrigatórios, pertencentes ao gênero *Leishmania*, onde as espécies *L. (L.) infantum* e *L. (V.) braziliensis* são responsáveis pela maioria dos casos de leishmaniose no Brasil. Muitos estudos indicam a necessidade de investigações sobre o papel exato de espécies de animais na epidemiologia das leishmanioses, particularmente dos gambás e roedores, onde a presença destes animais aumentam as chances de humanos e outros animais se infectarem. Tendo em vista a escassez de informações sobre a epidemiologia das leishmanioses em algumas regiões do Estado de Pernambuco, objetivou-se nesse estudo avaliar a ocorrência da infecção por *Leishmania* spp. em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos. Para isso foi realizado o diagnóstico

parasitológico por meio da citologia esfoliativa da pele de lesões cutâneas, além de PCR do complexo *L. donovani* e *L. braziliensis* de sangue e de biópsia de baço, fígado e pele de roedores e gambás capturados em uma área endêmica para as leishmanioses no estado de Pernambuco. Nas localidades onde foram capturados animais sinantrópicos positivos para *Leishmania* foi procedido a coleta de sangue, pele, medula óssea e linfonodo da população canina. Como resultado formas amastigotas e DNA do complexo *L. donovani* foram detectados em 8,3% (2/24) dos animais sinantrópicos (*D. albiventris* e *O. nigripes*). Na população canina 29,4% (15/51) de cães reagentes para Leishmaniose Visceral, e 6,6% foram parasitologicamente e molecularmente positivo para o complexo *L. donovani*. Assim conclui-se que gambás, roedores e os cães participam do ciclo de transmissão do complexo *L. donovani*.

**Palavras-chave:** *Leishmania* sp.; Mamíferos; Sinantropismo; Zoonoses.

### Abstract

Leishmaniasis are notifiable diseases, characterized by severe clinical manifestations, being caused by obligate intracellular protozoa, belonging to the genus *Leishmania*, where the species *L. (L.) infantum* and *L. (V.) braziliensis* are responsible for most cases of leishmaniasis in Brazil. Many studies indicate the need for investigations into the exact role of animal species in the epidemiology of leishmaniasis, particularly of skunks and rodents, where the presence of these animals increases the chances of humans and other animals becoming infected. Considering the scarcity of information on the epidemiology of leishmaniasis in some regions of the State of Pernambuco, the objective of this study was to evaluate the occurrence of infection by *Leishmania* spp. in wild, synanthropic and domestic animals. For this, the parasitological diagnosis was carried out through exfoliative cytology of the skin of cutaneous lesions, in addition to PCR of the *L. donovani* and *L. braziliensis* complex of blood and spleen, liver and skin biopsy of rodents and skunks captured in an endemic area for leishmaniasis in the state of Pernambuco. In the locations where synanthropic animals positive for *Leishmania* were captured, blood, skin, bone marrow and lymph nodes were collected from the canine population. As a result, amastigote forms and DNA from the *L. donovani* complex were detected in 8.3% (2/24) of synanthropic animals (*D. albiventris* and *O. nigripes*). In the canine population, 29.4% (15/51) of dogs reactive for Visceral Leishmaniasis, and 6.6% were parasitologically and molecularly positive for the *L. donovani* complex. Thus, it is concluded that skunks, rodents and dogs participate in the transmission cycle of the *L. donovani* complex.

**Keywords:** *Leishmania* sp.; Mammals; Synanthropism; Zoonoses.

### Resumen

Las leishmaniasis son enfermedades de declaración obligatoria, caracterizadas por manifestaciones clínicas severas, siendo causadas por protozoos intracelulares obligados, pertenecientes al género *Leishmania*, donde las especies *L. (L.) infantum* y *L. (V.) braziliensis* son responsables de la mayoría de los casos de leishmaniasis en Brasil. Muchos estudios indican la necesidad de investigar el papel exacto de las especies animales en la epidemiología de la leishmaniasis, particularmente de los zorrillos y roedores, donde la presencia de estos animales aumenta las posibilidades de que los humanos y otros animales se infecten. Considerando la escasez de información sobre la epidemiología de la leishmaniasis en algunas regiones del Estado de Pernambuco, el objetivo de este estudio fue evaluar la ocurrencia de infección por *Leishmania* spp. en animales salvajes, sinantrópicos y domésticos. Para ello se realizó el diagnóstico parasitológico mediante citología exfoliativa de la piel de lesiones cutáneas, además de PCR del complejo de sangre y bazo de *L. donovani* y *L. braziliensis*, biopsia de hígado y piel de roedores y zorrillos capturados en un endemismo. para leishmaniasis en el estado de Pernambuco. En los lugares donde se capturaron animales sinantrópicos positivos para *Leishmania*, se recolectó sangre, piel, médula ósea y ganglios linfáticos de la población canina. Como resultado, se detectaron formas de amastigotes DNA del complejo *L. donovani* en el 8,3 % (2/24) de los animales sinantrópicos (*D. albiventris* y *O. nigripes*). En la población canina, el 29,4% (15/51) de perros reactivos para Leishmaniasis Visceral, y el 6,6% fueron parasitológica y molecularmente positivos para el complejo *L. donovani*. Así, se concluye que mofetas, roedores y perros participan en el ciclo de transmisión del complejo *L. donovani*.

**Palabras clave:** *Leishmania* sp.; Mamíferos; Sinantropismo; Zoonosis.

## 1. Introdução

As leishmanioses são antroprotozooses de grande importância para a saúde pública, devido ao aumento no número de novos casos de humanos e animais infectados por protozoários do gênero *Leishmania* (Desjeux, 2004; WHO, 2010). No Brasil são descritas cerca de sete espécies de *Leishmania* pertencentes aos subgêneros *Viannia* e *Leishmania*, onde a *Leishmania (Leishmania) infantum* é responsável pela maioria dos casos de Leishmaniose Visceral (LV), sendo estes protozoários transmitido para seus hospedeiros através ação de flebotomíneos vetores (Grimaldi-Júnior & Tesh, 1993; Valdivia et al., 2015).

No passado, a leishmaniose era considerada uma doença essencialmente de transmissão rural (Rey, 2001), porém hoje, apresenta-se com ciclos nitidamente urbanos e peri-urbanos, em decorrência de modificações sócio-ambientais, como desmatamento, e o êxodo rural, levando o homem para a periferia dos centros urbanos (Brasil, 2004).

Atualmente, já se sabe que o parasito *Leishmania* sp. pode infectar diversas espécies de mamíferos domésticos e de vida livre, pertencentes a família Bovidae, Canidae, Cricetidae, Cunicuidae, Felidae, Equidae, Leporidae, Muridae, Mustelidae e Procyonidae (Quinnel & Courtenay, 2009). Embora, o cão doméstico, por sua vez, ainda é considerado o principal reservatório da LV em áreas urbanas do Brasil (Gontijo & Melo, 2004; Brasil, 2007).

Muitos estudos têm indicado a necessidade de investigações sobre o papel exato de novas espécies de animais na epidemiologia das leishmanioses, para isso métodos de diagnósticos parasitológicos, sorológicos e moleculares têm sido utilizados na detecção de animais infectados (Sherding, 2006; Brasil, 2007). E a partir desses achados, medidas efetivas para o controle dos vetores e dos reservatórios poderão ser adotadas para diminuir a expansão e o surgimento de novos casos das leishmanioses (Colombo et al., 2015; Ovalle-Bracho et al., 2016).

Sabendo-se que a presença de animais silvestres, sinantrópicos e domésticos em áreas próximas a residências do homem, aumentam as chances destes se infectarem com *Leishmania* spp. (Dias et al., 2003) e ao constante aumento de casos das leishmanioses no estado de Pernambuco, objetivou-se nesse estudo avaliar a ocorrência de leishmaniose em animais silvestres, sinantrópicos e domésticos.

## 2. Metodologia

### Aspectos éticos

O presente trabalho foi aprovado pelo Conselho de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (103/2015 e 127/2015) e do Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade com a licença de número 50.588-1.

### Áreas de estudo e animais sinantrópicos

O município da Ilha de Itamaracá, o qual está localizado na zona da Mata do estado pernambucano, Região Metropolitana do Recife – RMR, distando a 47,5 quilômetros da capital do Estado, constituído por 19 bairros, ocupando uma área de 67 km<sup>2</sup> é conhecido por apresentar alguns dos maiores números de casos registrados de LV do estado de Pernambuco, durante as últimas décadas (Dantas-Torres & Brandão-Filho, 2006).

No respectivo município, foi selecionado uma área na zona urbana com registros de casos humanos de leishmaniose. Nestas localidades, foram realizadas capturas de marsupiais (*Didelphis albiventris* n = 12) e roedores (*Cerradomys subflavus* n = 2; *Rattus norvegicus* n = 2; *Rattus rattus* n = 4; *Oryzomys nigripes* n = 3; *Oryzomys fornesi* n = 1) sinantrópicos de diferentes espécies, idades e sexos.

Para captura dos animais foram utilizadas armadilhas Tomahawk (*tipo Live Trap*) com dimensões padronizadas para animais de pequeno porte (30 x 17,5 x 15,5 cm), iscadas com abacaxi e pasta de amendoim. As armadilhas foram dispostas ao entardecer, sendo recolhidas ao amanhecer do dia seguinte à captura, obtendo-se um esforço amostral de 50 armadilhas/noite, totalizando 250 armadilhas/noites em cinco dias de capturas. A amostragem utilizada foi por conveniência não probabilística, capturando o maior número possível de animais.

Todos os animais capturados foram inicialmente contidos fisicamente e pesados. Nos marsupiais a contenção química foi realizada através da aplicação, por via intramuscular, de uma associação de cloridrato de cetamina (8 mg/Kg) e cloridrato de xilazina (0,8 mg/Kg), e após a confirmação do efeito anestésico, foi procedido o exame físico, sendo preenchida uma ficha específica de identificação para cada animal. E assim, foram realizadas as coletas de 2 mL de sangue por via intracárdica,

além de biópsia cutânea de ambas as bordas auriculares, obtendo-se fragmentos médios de 5 mm. Ao término do manejo dos marsupiais, aguardou-se o retorno completo da sedação e posteriormente liberação à vida livre, no mesmo local onde foram capturados.

Nos roedores foi realizado a aplicação por via intraperitoneal, de uma associação de cetamina (22-40mg/Kg) e xilazina (1mg/Kg), no qual após confirmação do efeito anestésico, foi procedida à eutanásia, utilizando-se tiopental sódico em doses elevadas conforme recomendado pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (2012). Posterior ao exame físico foram realizadas coletas de 2 mL de sangue por via intracardíaca, além da biópsia de fragmentos com cerca de 5 mm do baço, fígado e de ambas as bordas auriculares. É importante destacar que durante todo o procedimento de manipulação dos animais, foram adotados Equipamentos de Proteção Individual que proporcionaram proteção total do corpo do manipulador.

Nos marsupiais e roedores que apresentaram lesões dermatológicas foi realizada também a citologia esfoliativa. A partir do material obtido foram confeccionados esfregaços em lâminas de vidro com extremidade fosca lapidada, as quais após o processo de secagem em temperatura ambiente, foram coradas pelo método de coloração rápida.

### **Animais domésticos**

Nas localidades onde foram capturados animais sinantrópicos positivos para *Leishmania* foi procedido a coleta de amostras biológicas na população canina localizada num raio de até 700 m do ponto de captura. No geral foram coletadas amostras de sangue de 51 cães errantes e/ou domiciliados, com idade superior a seis meses, de diferentes raças e sexo.

Para cada animal foi confeccionada uma ficha de identificação individual, com informações acerca das condições clínicas dos animais. De todos os animais foram colhidos aproximadamente 5ml de sangue através da venopunção da veia cefálica ou jugular, sendo o material transferido para tubos coletores com e sem etilenodiaminotetracético de sódio (EDTA).

Nos animais que apresentaram lesões dermatológicas foi realizada a citologia esfoliativa, além de punção aspirativa de linfonodo nos cães que apresentavam linfadenomegalia. A punção de medula óssea foi realizada no processo xifóide apenas de animais que apresentaram mais de quatro sinais clínicos compatíveis com leishmaniose, sendo então, aspirado uma alíquota do conteúdo, que foi imediatamente transferido para tubos plásticos de polipropileno contendo EDTA.

A partir do material obtido por meio da citologia esfoliativa da pele, punção aspirativa de linfonodo e de medula óssea foram confeccionados estiraços em lâminas de vidro, as quais, após o processo de secagem em temperatura ambiente, foram coradas pelo método de coloração rápida.

### **Diagnóstico Parasitológico**

Todas as amostras utilizadas na confecção de esfregaços e citologia esfoliativa, após o processo de secagem em temperatura ambiente, e coloração pelo método panótico rápido, foram examinados em microscópio óptico com objetiva de 100x, sendo analisado todo o campo da lâmina.

### **Teste imunocromatográfico**

O teste imunocromatográfico utilizado na população canina foi o DPP® Leishmaniose Visceral Canina da BioManguinhos (FIOCRUZ, BR) que utiliza como antígeno duas proteínas recombinantes k26/k39. As análises foram realizadas seguindo as instruções do fabricante.

### **Reação em Cadeia de Polimerase**

#### **Extração de DNA**

Para o diagnóstico molecular, o DNA foi extraído a partir de 200µL de sangue e/ou medula óssea, e 30 mg para tecidos (pele, fígado e baço), utilizando o kit comercial Tissue & Blood Qiamp (Qiagen) conforme recomendações do fabricante.

### **Amplificação do complexo *Leishmania donovani***

As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador com ciclos de: 1 ciclo de desnaturação inicial a 94°C por 2 minutos, seguido de 30 ciclos de desnaturação a 94°C por 20 segundos, anelamento a 60 °C por 20 segundos, extensão a 72°C por 30 segundos e extensão final a 72°C por 5 minutos.

Os *primers* utilizados foram os MC1: (5' – GTT AGC CGA TGG TGG TCT TG – 3') e MC2: (5' – CAC CCA TTT TTC CGA TTT TG – 3'), descritos por Cortes et al. (2004), que permitem a amplificação de 447 pares de base do DNA. Como controle positivo e negativo foram utilizados DNA extraído da medula óssea de um cão naturalmente infectado por *L. (L.) infantum* e água ultra-pura, respectivamente.

Os produtos amplificados foram analisados por meio de eletroforese horizontal em gel de agarose 2% em um tampão TAE 1X, utilizando o corante BlueGreen®<sup>1</sup>, usando marcador de peso molecular (100 bp DNA ladder - GibcoBRL-Life Technologies, MD, USA)<sup>2</sup>. Posteriormente, os géis foram visibilizados e analisados por meio de um transiluminador ultravioleta acoplado a um computador com *software* de imagens.

Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% em um tampão TAE 1X, utilizando o corante BlueGreen® e marcador de peso molecular (100 bp DNA ladder - GibcoBRL-Life Technologies, MD, USA). Após a eletroforese, os géis foram visibilizados por meio de um transiluminador ultravioleta acoplado a um computador com programa de análise de imagens.

### **Amplificação do complexo *Leishmania braziliensis***

A reação para detecção de DNA de *L. braziliensis* foi realizada utilizando-se os *primers* B1: (5' – GGG GTT GGT GTA ATA TAG TGG – 3') e B2: (5' – CTA ATT GTG CAC GGG GAG G – 3') conforme descrito por Reithinger et al. (2000).

As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador com ciclos de: 1 ciclo de desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, seguido por 35 ciclos de desnaturação a 94°C por 60 segundos, anelamento a 60,5 °C por 60 segundos, extensão a 72°C por 60 segundos e extensão final a 72°C por 10 minutos. Foi utilizado como controle positivo DNA de formas promastigotas de *L. (V.) braziliensis* (MHOM/1975/M2903) mantidas em meio de cultura e como controle negativo água ultra-pura.

Os produtos amplificados foram submetidos a eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% em um tampão TAE 1X, utilizando o corante BlueGreen® e marcador de peso molecular (100 bp DNA ladder - GibcoBRL-Life Technologies, MD, USA). Após a eletroforese, os géis foram visibilizados por meio de um transiluminador ultravioleta acoplado a um computador com programa de análise de imagens.

### **Análise dos dados**

Para a análise estatística, foram calculadas a frequência relativa e absoluta de animais parasitados, usando-se o programa computacional InStat (GraphPad Software, Inc., 2000) com nível de significância  $p < 0,05$ .

## **3. Resultados**

Para esse estudo foram capturados 24 mamíferos sinantrópicos, sendo 50% (12/24) marsupiais e roedores, respectivamente.

---

<sup>1</sup> Corante para ácidos nucleicos Blue Green loading dye- 600µL

<sup>2</sup> 1 Kb Plus DNA Ladder- Invitrogen™



Sendo assim, o percentual de gambás e roedores positivos encontrados na área urbana da Ilha de Itamaracá foram superiores aos observados por Nardi (2010) que ao realizar um levantamento de mamíferos silvestres potencialmente reservatórios das leishmanioses no Parque Estadual Morro do Diabo detectou 3,2% de animais positivos, sendo três espécies de roedores *Akodon cursor*, *Dasyprocta azarae*, *Oligoryzomys* sp. e uma de gambá *D. albiventris*. De forma semelhante, Quintal (2010) ao realizar PCR em tempo real de amostras biológicas obtidas dos marsupiais *D. albiventris* e *Micoureus paraguayanus* detectou 1,65% de animais parasitados.

*D. albiventris* e *O. nigripes* foram as únicas espécies sinantrópicas positivas para o complexo *L. donovani*. Comprovando assim, o papel dos marsupiais e roedores no ciclo peridoméstico das leishmanioses na região (Lainson, 2010; Brandão-Filho, 2003). Vale lembrar que estas espécies animais possuem caráter sinantrópico, com uma boa capacidade de adaptação em áreas periurbanas, sendo assim, potenciais reservatórios de *Leishmania* sp. (Silva et al., 2001; Santiago et al., 2007).

Assim como observado na área estudada, o cão doméstico tem participado na epidemiologia da LV em ambientes urbanos, periurbanos e selvagens (Oliveira, 2012). Nestes animais foram observados diferentes sinais clínicos: emaciação, caquexia, alopecia, dermatoses, principalmente nas orelhas, focinho e áreas perioculares, onicogribose, hepatoesplenomegalia, linfadenopatia, enterorragia, artrites e paresia dos membros posteriores (Brasil, 2006; Pimentel et al., 2008), sabendo que a evolução dos sinais clínicos está relacionada a resposta imunológica de cada animal, podendo alguns cães serem portadores assintomáticos (Gállego, 2004).

Interessantemente, Courtenay et al. (2002) e Woodroffe et al. (2004) destacam a hipótese de que os cães podem ser potenciais dispersores de *Leishmania* ao se deslocarem entre o ambiente silvestre e urbano, como também podem ser perpetuadores do ciclo do parasito no meio silvestre.

Para o diagnóstico do complexo *L. donovani* em gambás, roedores e cães foram utilizadas diferentes amostras biológicas, as quais foram analisadas por métodos parasitológicos, imunológicos e molecular, sendo estes métodos indicados para o diagnóstico das leishmanioses nestes animais (Nardi, 2010; Oliveira, 2012). Em trabalhos semelhantes, Tenório et al. (2011), destaca a importância da execução de testes para o diagnóstico de LV em animais silvestres e domésticos, com o objetivo de identificar precocemente animais infectados, e assim minimizar a disseminação do agente infeccioso para os espécimes susceptíveis.

Vale ressaltar que apesar da ausência de animais positivos para o complexo *L. braziliensis*, este agente tem sido registrado no estado de Pernambuco, bem como em regiões circunvizinhas a área estudada (Andrade et al., 2012). Sendo assim, observada a persistência das antigas áreas de ocorrência da doença, demonstrando, no mínimo, que as atuais medidas de controle podem estar sendo insuficientes para controlar a LV nas áreas endêmicas (Dantas-Torres e Brandão-Filho, 2006).

## 5. Conclusões

O presente estudo demonstra que houve a persistência da leishmaniose na Ilha de Itamaracá, Pernambuco, no qual marsupiais, roedores e cães participam do ciclo de transmissão do complexo *L. donovani*.

## Referencias

Andrade, T. A. S., Soares, F. C. S., Alencar Ramos, J. V. D., & Gloria Faustino, M. A. D. (2012). Perfil epidemiológico dos casos notificados de Leishmaniose Tegumentar Americana no município de Igarassu/PE no período de 2008 a 2010. *Scire Salutis*, 2(2).

Brandão-Filho, S. P., Brito, M. E., Carvalho, F. G., Ishikaw, E. A., Cupolillo, E., Floeter-Winter, L., & Shaw, J. J. (2003). Wild and synanthropic hosts of *Leishmania (Viannia) braziliensis* in the endemic cutaneous leishmaniasis locality of Amaraji, Pernambuco State, Brazil. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 97(3), 291-296.

Brasil (2006). *Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral*. Brasília: Ministério da Saúde, 120p.

Brasil (2007). *Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar americana*. Brasília: Ministério da Saúde, 181p.

Colombo, F. A., Pereira-Chioccola, V. L., da Silva Meira, C., Motoie, G., Gava, R., Hiramoto, R. M., Almeida, M. E., Silva, A. J., Cutolo, A. A. & Menz, I. (2015). Performance of a real time PCR for leishmaniasis diagnosis using a *L.(L.) infantum* hypothetical protein as target in canine samples. *Experimental parasitology*, 157, 156-162.

CFMV, Conselho Federal de Medicina Veterinária (2012). *Guia brasileiro de boas práticas em eutanásia em animais-conceitos e procedimentos recomendados*. Brasília: CFMV, 62p.

Courtenay, O., Quinell, R. J., Garcez, L. M., & Dye, C. (2002). Low infectiousness of a wildlife host of *Leishmania infantum*: the crab-eating fox is not important for transmission. *Parasitology*, 125(5), 407-414.

Dantas-Torres, F., & Brandão-Filho, S. P. (2006). Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 39(4), 352-356.

Desjeux, P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 27(5), 305-318.

Dias, F. D. O. P., Lorosa, E. S., & Rebêlo, J. M. M. (2003). Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Cadernos de Saúde Pública*, 19(5), 1373-1380.

Gállego, M. (2004). Zoonosis emergentes por patógenos parásitos: las leishmaniosis. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties*, 23(2), 661-676.

Gontijo, C. M. F., & Melo, M. N. (2004). Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista Brasileira de epidemiologia*, 7(3), 338-349.

Grimaldi Jr, G., & Tesh, R. B. (1993). Leishmaniasis of the New World: current concepts and implications for future research. *Clinical microbiology reviews*, 6(3), 230-250.

Lainson, R. (2010). The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy. *Revista Pan-Amazônica de Saúde*, 1(2), 13-32.

Nardi, M. S. (2010). *Pesquisa de Leishmania sp. em flebotomos e mamíferos silvestres de fragmentos florestais na região do Pontal do Paranapanema, SP* (Doctoral thesis), Universidade de São Paulo.

Oliveira, R. L. (2012). *Pesquisa de anticorpos IgG anti-Leishmania infantum em raposas (Cerdocyon thous) de vida livre e de cativeiro e em cães domésticos (Canis familiaris) em Unidades de Conservação do Estado de Pernambuco* (Masters dissertation), Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Ovalle-Bracho, C., Díaz-Toro, Y. R., & Muvdi-Arenas, S. (2016). Polymerase chain reaction–miniexon: a promising diagnostic method for mucocutaneous leishmaniasis. *International journal of dermatology*, 55(5), 531-539.

Pimentel, D. S., Albuquerque, E. R., Faustino, M. A. G., Maia, F. C. L., Ramos, R. A. N. & Alves, L. C. (2008). Alterações estruturais hepáticas e esplênicas em cães (*Canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha e Chagas, 1937). *Medicina Veterinária (UFPR)*, 2(2), 23-27.

Quinell, R. J., & Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, 136(14), 1915-1934.

Quintal, A. P. N. (2010). *Leishmania spp. em Didelphis albiventris e micoureus paraguayanus (Mammalia: Didelphimorphia)*. (Masters dissertation), Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Rey, L. (2001) *Parasitologia*. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.

Santiago, M. E. B., Vasconcelos, R. O., Fattori, K. R., Munari, D. P., Michelin, A.F., & Lima, V. M. F. (2007). An investigation of *Leishmania* spp. in *Didelphis* spp. from urban and peri-urban areas in Bauru (São Paulo, Brazil). *Veterinary parasitology*, 150(4), 283-290.

Sherding, R. (2006). *Toxoplasmose e outras infecções protozoárias sistêmicas*. Birchard, S.J. & Sherding, R.G. 3th ed. Manual Saunders. New York: Elsevier, 223-234.

Silva, E. S., Gontijo, C. M., Pacheco, R. S., Fiuzza, V. O., & Brazil, R. P. (2001). Visceral leishmaniasis in the metropolitan region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 96(3), 285-291.

Valdivia, H. O., Reis-Cunha, J. L., Rodrigues-Luiz, G. F., Baptista, R. P., Baldeviano, G. C., Gerbasí, R. V., Dobson, D. E., Pratloug, F., Bastien, P., Lescano, A. G., Beverley, S. M. & Bartholomeu, D. C. (2015). Comparative genomic analysis of *Leishmania (Viannia) peruviana* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. *BMC genomics*, 16(1), 1-10.

WHO, World Health Organization. Control of the leishmaniasis (2010). *WHO Technical Report Series*, 949, 1-202.

Woodroffe, R., Cleaveland, S., Courtenay, D. O., Laurenson, M. K. & Artois, M. (2004). *Infectious disease in the management and conservation of wild canids*. In: Macdonald D. W., Sillero-Zubiri C. (2004). *The Biology & Conservation of Wild Canids*. Oxford: Oxford University Press, 123-142.