

SOROPREVALÊNCIA DE *LEISHMANIA* SP. EM EQUÍDEOS NO ESTADO DO RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

*(Seroprevalence of Leishmania sp. in equides
in the state of Rio Grande do Sul, Brazil)*

Uillians Volkart de OLIVEIRA^{1*}; Jacinto GOMES²; Helga Marlene
Cardoso WAAP³; Alexandre Dias MUNHOZ⁴

¹Faculdade de Ciências Sociais e Aplicadas (FACISA). Rod. BR 101, 1130. Km 808, Itamaraju/BA.
CEP: 45.836-000; ²Escola Superior Agrária de Elvas, Portugal; ³Instituto de Investigação
Agrária e Veterinária, Portugal; ⁴Universidade Estadual de Santa Cruz.

*E-mail: uilliansvolkart@gmail.com

RESUMO

Objetivou-se através deste estudo determinar a frequência e a titulação de soros de equídeos reagentes e não reagentes aos antígenos para *Leishmania* sp. em equídeos destinados ao abate em um frigorífico no estado do Rio Grande do Sul, Brasil. Além disso, foi avaliada a influência de dois fatores de risco para *Leishmania* em equídeos: sexo e altitude. Participaram do estudo 351 equinos e 3 muare, sendo colhidas amostras de sangue de todos os animais. Foi utilizada a reação de imunofluorescência indireta para diagnóstico sorológico de *Leishmania* sp. em todos os equídeos. Para avaliar a influência dos fatores de risco testados foi utilizado o teste do Qui-quadrado com correção de Yates através do Programa Biostat 5.0. Em 14,12% (50/354) dos equídeos, seus anticorpos reagiram ao antígeno de *Leishmania* sp., sendo que na titulação o resultado foi: 35 animais com títulos de 1:40, 10 com títulos de 1:80, 4 com títulos de 1:160 e 1 com títulos de 1:320. Nenhum dos dois fatores de risco avaliados foram significativos. A exposição destes equídeos a *Leishmania* sp. sugere a presença de vetores infectados (*Lutzomyia* sp.) na região, o que pode representar problemas de saúde pública e na medicina veterinária, já que tanto animais domésticos quanto os humanos podem adquirir esta doença.

Palavras-chave: Parasitos, diagnóstico, RIFI.

ABSTRACT

This study aimed to determine the frequency and antibody titres of Leishmania sp. in equines destined for slaughter in a slaughterhouse in the state of Rio Grande do Sul, Brazil. Additionally, the influence of two risk factors for leishmania infection in equines was evaluated: sex and altitude. Blood samples were collected from a total of 351 horses and 3 mules. The indirect immunofluorescent test was used for serological diagnosis of Leishmania spp. in all equids. The influence of the risk factors was assessed by the chi-square test with Yates correction using the statistical software Biostat 5.0. In 14.12% (50/354) of the equines, their antibodies reacted to the Leishmania sp. antigen. The following endpoint titers were determined: 35 animals with titers of 1:40, 10 with titers of 1:80, 4 with titers of 1:160, and 1 with titers of 1:320. Neither of the two risk factors studied were significant. Exposure of equidae to Leishmania spp suggests the presence of infected vectors (Lutzomyia sp.) in the region, which may pose a public health and veterinary medicine problem, since they may transmit the disease both to animals and humans.

Keywords: Parasite, diagnosis, IFA.

INTRODUÇÃO

A *Leishmania* sp. é um protozoário de importância na medicina veterinária e saúde pública, que pertence ao filo Euglenozoa, classe Kinetoplastea e família Trypanosomatidae e possui como hospedeiros intermediários os seres humanos, cães e outras espécies de mamíferos (MONTEIRO *et al.*, 2017; TAYLOR *et al.*, 2017). Estudos mostram que os equídeos também são hospedeiros intermediários deste protozoário (STEVERDING *et al.*, 2017; BENASSI *et*

al., 2018; COSTA *et al.*, 2021). No Brasil, os principais vetores associados à transmissão desse parasito são o *Lutzomyia longipalpis* e *L. cruzi* (BENASSI *et al.*, 2018).

A leishmaniose é uma doença de grande importância na saúde pública por ser uma zoonose. Esta doença possui 3 formas conhecidas sendo elas a visceral, cutânea e mucocutânea. Estima-se que ocorra cerca de 700.000 a 1.000.000 de casos anualmente no mundo, em 2020 o Brasil apresentou mais de 97% dos casos de Leishmaniose Visceral (WHO, 2022). Os equinos podem atuar como hospedeiros intermediários desta doença (BRASIL, 2007), por isso a importância da realização de um estudo sorológico nesta espécie (EVERS *et al.*, 2017) pois uma área que possui um equino soropositivo pode ser indicativa da presença da doença na localidade em outras espécies animais (ESCOBAR *et al.*, 2019).

As manifestações clínicas da leishmaniose em equídeos geralmente são caracterizadas por baixa condição corporal, úlcera circular com borda bem definida e lesões nodulares ou papulares únicas ou múltiplas na cabeça, nos membros ou nas regiões axilar e inguinal (SOARES *et al.*, 2013; GAMA *et al.*, 2014). Essas lesões, únicas ou múltiplas tendem, no geral, a ulcerar (MHADHBI e SASSI, 2020).

No Brasil, estudos de soro prevalência em equinos através da reação de imunofluorescência Indireta (RIFI) para anticorpos anti *Leishmania* sp. foram realizados em animais oriundos de um frigorífico no Paraná (EVERS *et al.*, 2017), no estado do Maranhão (FERREIRA *et al.*, 2018), São Paulo (VILLALOBOS *et al.*, 2010; BENASSI *et al.*, 2018) e Minas Gerais (OLIVEIRA *et al.*, 2017). Enquanto no exterior já foram identificados equídeos soropositivos através da RIFI na Itália (NARDONI *et al.*, 2019) e Tunísia (DRISSI *et al.*, 2018).

É importante destacar que o estudo de anticorpos anti-*Leishmania* sp. em equídeos pode indicar a presença destes parasitas no ambiente humano (EVERS *et al.*, 2017) já que os equídeos podem ser considerados possíveis reservatórios deste parasito (BENASSI *et al.*, 2018). Diante do exposto, objetivou-se com a realização deste estudo determinar a frequência de equídeos destinados ao abate no Rio Grande do Sul soropositivos para *Leishmania* sp.

MATERIAL E MÉTODOS

Coleta de sangue

O estudo foi realizado em um frigorífico sob Inspeção Federal localizado no Estado do Rio Grande do Sul, no Sul do Brasil, nos períodos de julho de 2016 e março de 2017. Foram coletados, em tubos sem anticoagulante, 10mL de sangue de 354 equídeos (351 equinos e 3 muare), provenientes de 33 cidades das 7 mesorregiões do estado do Rio Grande do Sul, sendo que desses equídeos 182 eram fêmeas e os outros 172 eram machos.

Todas as amostras foram mantidas em refrigeração até o seu processamento. O sangue foi centrifugado a 1000g e o soro de cada amostra foi alíquotado e acondicionado em tubos tipo eppendorf de 2,0mL, identificados e armazenados a -20 °C para a sorologia. Este projeto teve aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA-UESC) - Protocolo nº 020/13.

Reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para *Leishmania* sp.

Para realização da sorologia para pesquisa de anticorpos contra *Leishmania* sp. foi utilizada a RIFI, considerando como ponto de corte a diluição para equinos de 1:40 para

Leishmania sp. (SOARES *et al.*, 2013; BENASSI *et al.*, 2018). As lâminas foram sensibilizadas com promastigotas da cepa de *Leishmania*, sendo utilizado o conjugado anti-IgG equino (Sigma, F7759). A leitura das reações foi realizada em microscópio de epifluorescência com aumento de 400X, considerando-se como positiva a reação em que mais de 50% dos taquizoítos apresentarem fluorescência periférica total. Os controles positivos e negativos para *Leishmania* sp. foram provenientes do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV) de Oeiras, Portugal. Embora não houvesse controles positivos de equinos, o antígeno foi testado com soros positivos e negativos de um cão soropositivo e outro cão soronegativo para *Leishmania* sp. As amostras positivas foram, posteriormente, tituladas em diluições seriadas.

Análise Estatística

Os dados foram tabulados para a realização de uma análise descritiva com distribuição de frequências relativas e absolutas dos equídeos reagentes e não reagentes ao antígeno de *Leishmania* sp. Além disso, também foi realizado o teste do Qui-quadrado com correção de Yates através do Programa Biostat 5.0 para avaliar a associação estatística com os potenciais fatores de risco sexo e altitude. Com o resultado obtido neste estudo foi realizada uma análise espacial na qual foi utilizado um arquivo shapefile da malha geográfica do estado do Rio Grande Sul encontrado no site do IBGE. Para a execução desta análise utilizou-se o software livre Qgis versão 2.18. Para a formatação da análise deste estudo o Qgis foi alimentado com dados de uma planilha oriunda de um arquivo em Excel (AYRES, 2007; QGIS, 2022; SAMPAIO, 1998).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em 14,12% (50/354) dos equídeos estudados, seus anticorpos reagiram ao antígeno de *Leishmania* sp., sendo que na titulação o resultado foi 35 animais com títulos de 1:40; 10 com títulos de 1:80; 4 com títulos de 1:160 e 1 com títulos de 1:320, como pode ser observado na Tab. 01.

Tabela 01: Soro prevalência e titulação de equinos reagentes e não reagentes a antígenos de *Leishmania* sp. na RIFI.

Reagentes			Não Reagentes	
Titulação	n°	(%)	n°	(%)
1:40	35	9,887	304	85,875
1:80	10	2,824		
1:160	4	1,129		
1:320	1	0,002		
Total	50	14,124	304	85,875

Destes equinos reagentes, 5,08% (18/354) eram machos e 9,03% (32/154) eram fêmeas, como pode ser observado na Tab. 02. Porém, é importante salientar que os 3 muare

utilizados neste estudo foram não reagentes, sendo que os 50 animais reagentes eram todos equinos.

Tabela 02: Análise de qui-quadrado referente ao sexo e altitude de equinos destinados ao abate na cidade de São Gabriel, Rio Grande do Sul, reagentes e não reagentes a antígeno de *Leishmania* através da RIFI.

Variável	Reagentes	(%)	Não Reagente	(%)	Qui-quadrado
SEXO					
Macho	18/172	10,47	154/172	89,53	3,69
Fêmea	32/182	17,58	150/182	82,42	
ALTITUDE					
<200 metros	22/188	11,70	166/188	88,3	1,93
>200 metros	28/164	17,06	138/164	84,14	

A porcentagem de equinos reagentes ao antígeno da *Leishmania* sp. encontrado neste estudo está abaixo dos 46% descrito por Evers *et al.* (2017) e 40% descrito por Villalobos *et al.* (2010). Evers *et al.* (2017) realizaram o seu estudo em animais oriundos das regiões centro-oeste, sudeste e sul do Brasil, sendo as regiões centro-oeste e sul as que tiveram a maior porcentagem de animais reagentes, enquanto Villalobos *et al.* (2010) realizaram o seu estudo no estado de São Paulo, no qual o mesmo relata que a exposição a este parasito é comum, pois os equinos vivem em uma área endêmica. Ferreira *et al.* (2018) obteve 13% de equinos reagentes a RIFI no estado do Maranhão, sendo um valor semelhante ao encontrado neste estudo.

Logo, neste estudo foram identificados equinos reagentes ao antígeno de *Leishmania* sp. oriundos de frigoríficos o que corrobora com outros estudos (EVERS *et al.*, 2017; PRADELLA *et al.*, 2020). Neste frigorífico onde o estudo foi realizado tivemos equinos oriundos de 34 cidades diferentes, onde teve pelo menos um equino reagente em 19 cidades destas, sendo elas: Alegrete, Aceguá, Amaral Ferrador, Bom Jesus, Bossoroca, Cachoeira do Sul, Canguçu, Pedras Altas, Pelotas, Piratini, Rosário do Sul, Santa Maria, Santa Vitoria do Palmar, Santana do Livramento, São Francisco de Paula, São Gabriel, São Sepé, Uruguaiana e Vacaria. Como pode ser observado na Fig. 01.

Além disso é importante destacar que Escobar *et al.*, (2019) realizaram um estudo na cidade de Uruguaiana no Rio Grande do Sul em que foram encontrados equinos infectados pela *Leishmania infantum* sp. em áreas de transmissão de leishmaniose visceral canina, demonstrando que as outras áreas em que tivemos equinos reagentes neste estudo podem também ser áreas de transmissão para leishmaniose, pois os equinos podem atuar como hospedeiros intermediários desta doença (BRASIL, 2007).

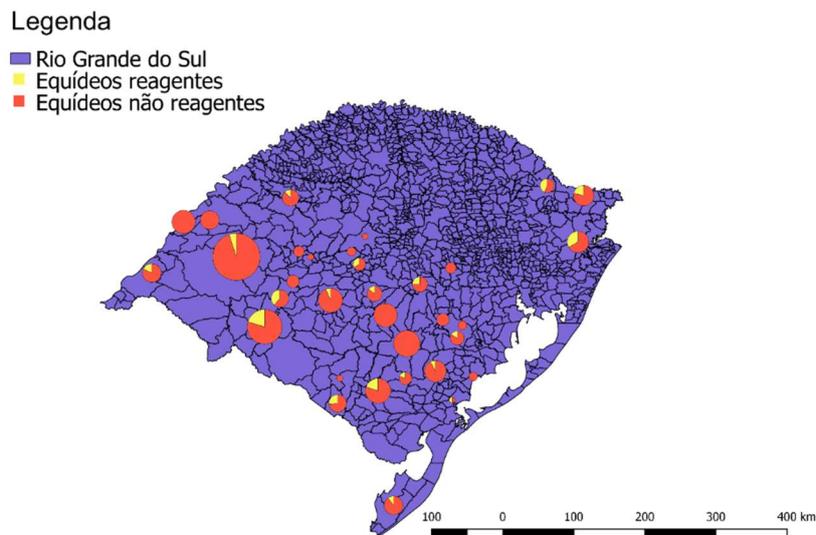


Figura 01: Distribuição espacial de equídeos reagentes e não reagentes para antígenos de *Leishmania* no estado do Rio Grande do Sul.

Neste estudo não houve diferença entre equinos machos e fêmeas reagentes ao antígeno de *Leishmania* sp. na RIFI, o que corrobora com outros estudos (CAMOSSO *et al.*, 2010; LOPES *et al.*, 2013; GAZZONIS *et al.*, 2020). Também não foi encontrada diferença entre equinos oriundos de cidades com altitudes acima e abaixo de 200 metros de altitude que foram reagentes e não reagentes ao antígeno da *Leishmania* sp. na RIFI. Este resultado difere do que foi encontrado na Itália por GAZZONIS *et al.* (2020), que constataram uma maioria de equinos soronegativos em cidades abaixo de 200 metros de altitude. Isto pode ser explicado devido a uma maior abundância de vetores da *Leishmania* sp. em cidades acima de 200 metros de altitude (BONGIORNO *et al.*, 2003), porém em um estudo realizado no Brasil, o vetor foi encontrado em altitudes bastante diversificadas (MARCONDES *et al.*, 1998), o que pode ter contribuído para um resultado diferente.

A presença de equinos reagentes ao antígeno da *Leishmania* sp. pode ocorrer tanto em equinos que residem em áreas urbanas e periurbanas, devido a presença do mosquito próximo de locais que residem cães (ESCOBAR *et al.*, 2019), quanto em equinos que residem próximos da fauna silvestre, pois cavalos podem ser fonte de alimento para flebotomíneos em ambiente peridoméstico (PRADELLA *et al.*, 2021). Além disso, a degradação da mata nativa, alta umidade, introdução de novas culturas e monoculturas, densidade e disponibilidade de matéria orgânica são fatores de risco para a presença deste mosquito em áreas peri-domésticas (FOLLADOR *et al.*, 1999; VEDOVELLO FILHO *et al.*, 2008).

Estes equídeos não demonstraram sinais clínicos aparentes sugestivos da presença da *Leishmania* sp. No entanto, apenas a clínica não é suficiente para descartar a presença do parasito no equídeo, pois através de técnicas sorológicas associadas com técnicas moleculares já foi possível identificar a presença deste parasito em equinos que não apresentavam sinais clínicos (BENASSI *et al.*, 2018). Cavalos podem apresentar respostas imunológicas humorais e celulares eficientes contra este parasito, impedindo assim o aparecimento da forma clínica desta doença (FERNANDEZ-BELLON *et al.*, 2006).

Mesmo quando o equino apresenta os sinais clínicos da leishmaniose podem ser confundidos com outras dermatoses o que acaba dificultando a possibilidade de um diagnóstico clínico (LIMEIRA *et al.*, 2019). Logo, estes animais, apresentando ou não sinais clínicos, podem agir como reservatórios atraindo flebotômíneos capazes de se infectarem com o sangue dos equinos contendo o parasito (BENASSI *et al.*, 2018.; VEDOVELLO FILHO *et al.*, 2008; TRUPPEL *et al.*, 2014), podendo posteriormente transmitir este parasito para outras espécies animais e seres humanos (PRADELLA *et al.*, 2022; SILVA *et al.*, 2018; VEDOVELLO FILHO *et al.*, 2008).

CONCLUSÕES

A existência de vários equídeos sororeagentes ao antígeno da *Leishmania* sp. em diversas localidades do Rio Grande do Sul sugere que o vetor infectado com este parasito provavelmente está presente nestes locais, o que pode refletir em problemas na medicina veterinária e na saúde pública já que outras espécies animais e humanos também compartilham o mesmo espaço que estes equídeos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à Fundação de amparo à pesquisa do estado da Bahia (FAPESB), Processo nº 0020/2013 e a Coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES), pela concessão da bolsa de pesquisa. Para a Universidade Estadual de Santa Cruz (UESC) e ao Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, Oeiras, Portugal) pelo suporte fornecido durante a realização do estudo. Também agradeço ao Friederich-Loeffler-Institute, Institute of Epidemiology (FLI, Greifswald, Insel Riem, Germany) pelo apoio fornecido.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, C.M.; RANGEL, E.F.; DEANE, L.M. Cutaneous leishmaniasis in frequent in equines from an endemic area in Rio de Janeiro, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, n.4, p.471–472, 1986. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/T9qgtRfq4Dcpjt6T49YdwLz/?format=pdf&lang=en>. Acesso em: 06 jun. 2022.
- AYRES, M.; AYRES JUNIOR, M.; AYRES, D.L.; SANTOS, A.A.S. **BioEstat 5.3: aplicações estatísticas nas áreas das Ciências Biomédicas**. Sociedade Civil Mamirauá: Belém, Pará-Brasil, 2007. 324p. Disponível em <https://www.mamiraua.org.br/downloads/programas/> Acesso em: 20 abr. 2022.
- BENASSI, J.C.; BENVENGA, G.U.; FERREIRA, H.L.; SOARES, R.M.; SILVA, D.T.; PEREIRA, V.F.; RUIZ, V.L.A.; OLIVEIRA, T.M.F.S. Molecular and serological detection of *Leishmania* spp. in horses from an endemic area for canine visceral leishmaniasis in southeastern Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.18, n.38, p.1058–1063, 2018.

BONGIORNO, G.; HABLUETZEL, A.; KHOURY, C.; MAROLI, M. Host preferences of phlebotomine sand flies at a hypoendemic focus of canine leishmaniasis in central Italy. **Acta Tropica**, v.88, n.2, p.109-116, 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2. ed., Brasília: Ministério da Saúde, 2007.

COSTA, S.C.L.; DE SOUZA FREITAS, J.; CARVALHO, F.S.; PEREIRA, M.J.S.; CORDEIRO, M.D.; FONSECA, A.H.; JUSI, M.M.G.; MACHADO, R.Z.; MUNHOZ, A.D. Frequency and factors associated of potential zoonotic pathogens (*Borrelia* spp., *Rickettsia* spp., *Leishmania* spp. and *Anaplasma phagocytophilum*) in equids in the state of Bahia, Brazil. **Parasite Vectors**, v.14, n.275, p.1-10, 2021.

CAMOSSO, L.G.; SILVA, A.V.; LANGONI, H. Inquérito sorológico para toxoplasmose em equinos na região de Botucatu-SP. **Arquivos Brasileiros da Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.2, p.484-488, 2010.

DRISSI, G.; MHADHBI, M.; SASSI, L.; GHARBI, M.; DHAOUADI, S.; MAHJOUR, T.; BAHRI, A. Epidemiological survey of vector-borne infections in equids from northern Tunisia. **Revue Scientifique et Technique**, v.37, n.3, p.1021-1027, 2018. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30964451/>. Acesso em: 08 jun. 2022.

ESCOBAR, T.A.; DOWICH, G.; DOS SANTOS, T.P.; ZURAVSKI, L.; DUARTE, C.A.; LUBECK, I.; MANFREDINI, V. Assessment of *Leishmania infantum* infection in equine populations in a canine visceral leishmaniosis transmission area. **BMC Veterinary Research**, v.15, n.381, p.1-9, 2019.

EVERS, F.; FERREIRA, F.P.; NAVARRO, I.T.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; PAGLIARI, S.; MONICA, T.C.; NINO, B.S.L.; FREIRE, R.L. Presença de anticorpos anti- *Leishmania* em cavalos de abate no Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v.38, n.6, p.3921-3926, 2017.

FERNÁNDEZ-BELLON, H.; SOLANO-GALLEGO, L.; BARDAGÍ, M.; ALBEROLA, J.; RAMIS, A.; FERRER, L. Immune response to leishmania infantum in healthy horses in Spain. **Veterinary Parasitology**, v.135, n.2, p.181-185, 2006.

FERREIRA, F.P.; CALDART, E.T.; BRITO, D.R.B.; CHAVES, D.P.; GARCIA, J.L.; NAVARRO, I.T. "Baixadeiros" horses: Prevalence of anti-*Trypanosoma* spp. and anti-*Leishmania* spp. antibodies. **Ciência Animal Brasileira**, v.19, n.8, p.1-8, 2018.

GAMA, A.; ELIAS, J.; RIBEIRO, A.J.; ALEGRIA, N.; SCHALLIG, H.D.; SILVA, F.; SANTARÉM, N.; CARDOSO, L.; COTOVIO, M. Cutaneous leishmaniosis in a horse from northern Portugal. **Veterinary Parasitology**, v.200, n.1/2, p.189-192, 2014.

GAZZONIS, A.L.; BERTERO, F.; MORETTA, I.; MORGANTI, G.; MORTARINO, M.; VILLA, L.; ZANZANI, S.A.; MORANDI, B.; RINNOVATI, R.; VITALE, F.; MANFREDI, M.T.; CARDOSO, L.; VERONESI, F. Detecting antibodies to *Leishmania infantum* in horses from areas with different epizooticity levels of canine leishmaniosis and a retrospective revision of Italian data. **Parasit Vectors**, v.13, n.530, p.1-9, 2020.

LIMEIRA, C.H.; ALVES, C.J.; AZEVEDO, S.S.; SANTOS, C.S.A.B.; MELO, M.A.; SOARES, R.R.; BARNABÉ, N.N.D.C.; RODRIGUES, G.Q. Clinical aspects and diagnosis of leishmaniasis in equids: a systematic review and meta-analysis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.28, n.4, p.574-581, 2019.

LOPES, A.P.; SOUSA, S.; DUBEY, J.P.; RIBEIRO, A.J.; SILVESTRE, R.; COTOVIO, M.; SCHALLIG, H.D.F.H.; CARDOSO, L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A. Prevalence of antibodies to *Leishmania infantum* and *Toxoplasma gondii* in horses from the north of Portugal. **Parasites & Vectors**, v.6, n.178, p.1-4, 2013.

MARCONDES, CARLOS BRISOLA, LOZOVEI, ANA LEUCH, & VILELA, JOSÉ HENRIQUE. Distribuição geográfica de flebotomíneos do complexo *Lutzomyia intermedia* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera, Psychodidae). **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.31, n.1, p.51-58, 1998.

MHADHBI, M.; SASSI, A. Infection of the equine population by *Leishmania* parasites. **Equine Veterinary Journal**, v.52, n.1, p.28–33, 2020. Disponível em: <https://beva.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/evj.13178>. Acesso em: 08 set. 2022.

MONTEIRO, S.G. **Parasitologia na Medicina Veterinária**. 2. ed. Editora Roca, 2017.

NARDONI, S.; ALTOMONTE, I.; SALARI, F.; MARTINI, M.; MANCIANTI, F. Serological and Molecular Findings of *Leishmania* Infection in Healthy Donkeys (*Equus asinus*) from a Canine Leishmaniosis Endemic Focus in Tuscany, Italy: A Preliminary Report. **Pathogens**, v.8, n.3, p.1-7, 2019.

OLIVEIRA, P.M.; GARCIA, F.; EVERS, F.; BARBOSA, V.M.; OBANDO, D.C.M.; NASCIUTTI, N.R.; GARCIA, J.L.; NOGUEIRA, G.M.; HEADLEY, S.A.; SAUT, J.P.E. Seroepidemiology of *Leishmania* spp. in equids from Uberlândia, Minas Gerais, Brazil. **Ciência Rural**, v.47, n.5, p1-4, 2017.

PRADELLA, G.D.; DUARTE C.A.; ESCOBAR, T.A.; ZURAVSKI, L.; GÓSS, G.C.; SKUPIEN, J.A.; LÜBECK, I. Risk and protective factors of Leishmaniasis in the rural area of the western border region of Rio Grande do Sul, Brazil. **BMC Veterinary Research**, v.17, n.330, p.1-8, 2021.

PRADELLA, G.D.; ESCOBAR, T.A.; DUARTE, C.A.; LUBECK, I.; GÓSS, G.C.; LAGRECA, L.J.L.; HECKLER, G.F.; CAMARGO, L.P.; ROMERO, B.G. Identificação de *Leishmania* spp. em cavalos e um cão da zona rural de Uruguaiana, Rio Grande do Sul, Brasil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.41, n.6, p.2687-2694, 2020.

QGIS. **Development Team**. Disponível em https://qgis.org/pt_BR/site/. Acesso em: 07 jun. 2022.

SAMPAIO, I.B.M. **Estatística aplicada à experimentação animal**. 1. ed., Belo Horizonte: Fundação de Ensino e Pesquisa em Medicina Veterinária e Zootecnia, 1998.

SCHULZ, A.; MELLENTHIN, K.; SCHÖNIAN, G.; FLEISCHER, B.; DROSTEN, C. Detection, differentiation, and quantitation of pathogenic *Leishmania* organisms by a fluorescence resonance energy transferbased real-time PCR assay. **Journal of Clinical Microbiology**, v.41, n.4, p.1529–1535, 2003.

SILVA, A.P.; SANTOS, F.E.; SILVA, F.G.; CAVALCANTE, Y.C.S.; ANDRÉ, W.P.P.; SILVA, K.Q. Prevalência da leishmaniose visceral canina no município de Jaguaribe, Ceará. **Ciência Animal**, v.28, n.4, p.1-4, 2018.

SOARES, I.R.; SILVA, S.O.; MOREIRA, F.M.; PRADO, L.G.; FANTINI, P.; MARANHÃO, R.D.P.A.; SILVA FILHO, J.M.; MELO, M.N.; PALHARES, M.S. First evidence of autochthonous cases of *Leishmania (Leishmania) infantum* in horse (*Equus caballus*) in the Americas and mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v.197, n.3/4, p.665-669, 2013.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasit Vectors**, v.10, n.82, p.1-10, 2017.

TAYLOR, M.A.; COOP, L.R.; WALL, R.L. **Parasitologia Veterinária**. 4. ed., Guanabara Koogan, 2017.

TRUPPEL, J.H.; OTOMURA, F.; TEODORO, U.; MASSAFERA, R.; COSTA-RIBEIRO, M.C.V.; CATARINO, C.M.; DALAGRANA, L.; COSTA FERREIRA, M.E.M.; THOMAZ-SOCCOL, V. Os equídeos podem ser reservatórios de *Leishmania braziliensis* em áreas endêmicas? **PLOS ONE**, v.9, n.4, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0093731>. Acesso em: 22 mai. 2023.

VEDOVELLO FILHO, D.; JORGE, F.A.; LONARDONI, M.V.C.; TEODORO, U.; SILVEIRA, T.G.V. American cutaneous leishmaniasis in horses from endemic areas in the north-central mesoregion of Paraná state, Brazil. **Zoonoses and Public Health**, v.55, n.3, p.149-155, 2008.

VILLALOBOS, E.M.C.; CARVALHO, P.R.; LARA, M.C.C.S.H.; MARQUES, E.C.; SOUZA, M.C.A.M.; FELICIO, P.S.; CUNHA, M.S.; CUNHA, E.M.S. Prevalence of immune response of healthy equines with antibodies anti *Leishmania chagasi* in an endemic area of leishmaniasis. **Middle East Journal of Scientific Research**, v.5, n.6, p.520-534, 2010.

WHO. World Health Organization. **Leishmaniasis**, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. Acesso em: 03 mai. 2022.