

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA DA PARAÍBA

CAMPUS SOUSA

BACHARELADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

Luis Fernando Batista Arruda

ASPECTOS CLÍNICOS E MEIOS DE DIAGNÓSTICOS DA LEISHMANIOSE CANINA E  
FELINA

SOUSA-PB

2017

Luis Fernando Batista Arruda

ASPECTOS CLÍNICOS E MEIOS DE DIAGNÓSTICOS DA LEISHMANIOSE  
CANINA E FELINA

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado, como parte das  
exigências para a conclusão do  
Curso de Graduação em  
Bacharelado em Medicina  
Veterinária do Instituto Federal da  
Paraíba, Campus Sousa.

Orientadora: Docente M.Sc. Roseane de Araújo Portela

SOUSA-PB

2017

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA CENTRAL DO IFPB CAMPUS SOUSA

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

A ficha catalográfica deverá ser elaborada exclusivamente por profissional Bibliotecário e solicitada pelo discente com 48 horas de antecedência pelo e-mail [biblioteca.ss@ifpb.edu.br](mailto:biblioteca.ss@ifpb.edu.br) com os seguintes dados:

- Folha de Rosto e Resumo do TCC;
- Número total de Páginas.

Obs.: A mesma deverá ser impressa no verso da folha de rosto do TCC, posicionada conforme este modelo.

Luis Fernando Batista Arruda

ASPECTOS CLÍNICOS E MEIOS DE DIAGNÓSTICOS DA LEISHMANIOSE  
CANINA E FELINA

Trabalho de Conclusão de Curso defendido e aprovado em \_\_\_\_\_ pela  
Comissão Examinadora:

Orientadora: Docente M.Sc. Roseane de Araújo Portela

---

Docente Mestre Roseane de Araújo Portela, Instituto Federal de Educação,  
Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa.

Avaliadoras:

---

Docente Doutora Ana Lucélia de Araújo, Instituto Federal de Educação,  
Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa.

---

Docente Doutora Vanessa Lira de Santana, Instituto Federal de Educação,  
Ciência e Tecnologia da Paraíba, Campus Sousa.

SOUSA-PB

2017

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a Deus, à minha família, aos  
meus amigos e aos animais.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço em primeiro lugar a Deus, pela força e coragem durante toda esta longa caminhada, por me dar a oportunidade e força de seguir o caminho que escolhi.

Agradeço de forma especial ao meu pai (Francisco Edilson Arruda) e à minha mãe (Marcilene Batista Alves Galdino), por não medirem esforços para que eu pudesse levar meus estudos adiante, pelo amor, incentivo, apoio incondicional e principalmente pela educação, essa, repassada com amor, atitudes e exemplos. Por sempre me ensinarem que os bens materiais se vão, porém a educação é o passaporte para o futuro, pois, o amanhã pertence às pessoas que se preparam hoje e vocês me deram essa oportunidade. Agradeço também o por nas horas difíceis, de desânimo e cansaço, me fortaleceram e que para mim foi muito importante. Aproveito também para pedir desculpas pela ausência nesse período e por sempre compreenderem e apoiarem ainda mais.

Aos meus avôs e avós, que mesmo eu não estando tão presente, sempre estiveram torcendo e me apoiando, saibam que sempre estarão comigo no meu coração.

À minha irmã que por um tempo conviveu com minha rotina e quando voltou para casa deixou muita saudade.

À minha família, que me auxiliou e deu forças para atravessar mais essa etapa da minha vida.

Aos amigos, companheiros de trabalhos e irmãos na amizade que fizeram parte da minha formação e que vão continuar presentes em minha vida com certeza, em especial aos amigos da República de Sousa e de Lleida.

Agradeço a todos os educadores e orientadoras por me proporcionarem o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, por tanto que se dedicaram a mim, não somente por terem me ensinado, mas por terem me feito aprender.

Aos tutores pela confiança no trabalho realizado e a todos que de forma direta e indiretamente me ajudaram a concluir este trabalho, todos aqueles que tiveram paciência comigo em momentos de tensão e de empenho, e que me ajudaram a conseguir o que já consegui hoje na vida.

O meu mais sincero, Muito Obrigado!

## RESUMO

A leishmaniose visceral, também conhecida como calazar, e a leishmaniose tegumentar, são patologias de caráter fatal que acomete os seres humanos, canídeos, felídeos e equídeos. Este estudo visa avaliar comparativamente os aspectos clínicos e meios de diagnósticos da leishmaniose canina e felina diagnosticados no HV/IFPB, nos anos de 2015-2016. Foram incluídos no estudo os animais que no exame clínico apresentaram um ou mais dos sinais clínicos específicos da leishmaniose, ou sinais de doença crônica e sistêmica. Para o diagnóstico da leishmaniose, em cães e gatos, foram realizados os exames citológicos do material obtido através do PAAF dos linfonodos e escarificação das lesões cutâneas. E ainda para cães foi realizado o TRI®, com amostra de sangue a fresco. Diante de dois resultados positivos, sendo um na citologia e outro do TRI, o cão era diagnosticado com leishmaniose. A leishmaniose em felinos foi diagnosticada através da citologia. De 363 animais, nove cães foram diagnosticados com leishmaniose e uma gata. O quadro clínico clássico foi identificado em três cães. Dois eram assintomáticos, e mesmo nesses, foram positivos na citologia e no TRI. Esses animais assintomáticos devem ser bem avaliados, pois são também infectantes. Os exames citológicos e TRI foram compatíveis em todos os casos, porém é necessário o uso de mais de um meio de diagnóstico, quando a citologia ou o TRI® for negativo. No felino havia lesões dermatológicas e sinais sistêmicos, porém o animal apresentava outras infecções cutâneas e endoparasitas. A citologia para o diagnóstico da leishmaniose foi determinante, principalmente para os felinos. Sugere-se sempre fazer o uso do exame citológico em felinos com quadros sistêmicos e com lesões cutâneas, porém não sendo exclusiva nos casos em que não se encontra as formas amastigotas da *Leishmania*.

Palavras-chave: Amastigota. Calazar. Dermatite. Flebotomíneos. Gatos.

## ABSTRACT

Visceral leishmaniasis, also known as kala-azar, and tegumentary leishmaniasis, are fatal pathologies that affect humans, canids, felids and equidae. The aim of this study was to evaluate the clinical aspects and means of diagnosis of canine and feline leishmaniasis diagnosed at the VH/IFPB between 2015 and 2016: Animals included in the clinical examination presented one or more of the specific clinical signs of leishmaniasis, or signs of chronic and systemic disease. For the diagnosis of leishmaniasis, were performed cytological examination of the material obtained through FNAB of the lymph nodes and scarification of the lesions. In addition, for dogs, the commercial IRT was performed, with a fresh blood sample. Faced with two positive results, one in cytology and another in TRI, the dog was diagnosed with leishmaniasis. Leishmaniasis in felines was diagnosed through cytology. Of 363 animals, nine dogs and one cat were diagnosed with leishmaniasis. The classic clinical picture was identified in three dogs. Two were asymptomatic, and even those, were positive in cytology and in IRT. These asymptomatic animals should be well evaluated, as they are also infectious. Cytology and IRT tests were compatible in all cases, but more than one diagnostic mean is required when the cytology or screening test is negative. In the cat there were dermatological lesions and systemic signs, but the animal had other skin infections and endoparasites. Cytology for the diagnosis of leishmaniasis was determinant, especially for felines. It is always suggested to use this technique in felines with systemic conditions and with skin lesions. However, it is not exclusive in cases where the amastigote forms of *Leishmania* are not found.

Keywords: Amastigota. Kala-azar. Dermatitis. Phlebotomines. Cats.



## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Imagem 1 - Cão. Lesão ulcerada arredondada no membro torácico direito e onicogrifose.....	28
Imagem 2 - Cão. Linfonodo. Forma amastigota de <i>Leishmania</i> intracelular (seta) no macrófago e extracelular. Panótico Rápido, 100x Obj. com óleo de imersão. ....	29
Imagem 3 - Teste rápido imunocromatográfico Alere®, apresentando a linha de controle e a linha com o reagente. Resultado positivo para Leishmaniose. ....	30
Imagem 4 - Gato. Lesões crostosas na região da face. ....	32
Imagem 5 - Gato. Linfonodo. Forma amastigota intracelular (seta) de <i>Leishmania</i> . Panótico Rápido. Obj. 100x com óleo de imersão. ....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Comparativo do número de atendimentos entre cães e gatos atendidos no HV/IFPB.....	27
Tabela 2- Números de cães atendidos entre janeiro e dezembro de 2015 no HV/IFPB. . .....	27
Tabela 3- Principais sinais clínicos apresentados nos nove cães diagnosticados com leishmaniose. ....	28
Tabela 4- Resultado do exame parasitológico, teste rápido e sinais clínicos dos nove casos de leishmaniose em cães.....	30
Tabela 5- Números de gatos atendidos entre janeiro e dezembro de 2016, no HV/IFPB.. .....	31

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

CFMV	Conselho Federal de Medicina Veterinária
DPP	Dual Path Platform
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic Acid
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
FIOCRUZ	Fundação Oswaldo Cruz
HE	Histoquímico
HV/IFPB	Hospital Veterinário do Instituto Federal, Ciência e Tecnologia da Paraíba - Campus Sousa
IMIQ	Imunohistoquímico
LT	Leishmaniose Tegumentar
LTA	Leishmaniose Tegumentar Americana
LV	Leishmaniose Visceral
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
LVH	Leishmaniose Visceral Humana
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
ML	Milímetros
MS	Ministério da Saúde
OBJ	Objetiva
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAAF	Punção Aspirativa por Agulha Fina
PCR	Polymerase Chain Reaction
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
TRI	Teste Rápido Imunocromatográfico

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO .....</b>	<b>13</b>
<b>2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....</b>	<b>15</b>
<b>2.1. Histórico.....</b>	<b>15</b>
<b>2.2. Epidemiologia.....</b>	<b>15</b>
<b>2.3. Agente etiológico .....</b>	<b>16</b>
2.3.1. <i>Leishmania (Leishmania) chagasi</i> .....	17
2.3.2. <i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i> .....	17
2.3.3. <i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i> .....	17
2.3.4. <i>Leishmania (Viannia) guyanensis</i> .....	18
2.3.5. <i>Leishmania (Viannia) lainsoni</i> .....	18
2.3.6. <i>Leishmania (Viannia) naiffi</i> .....	18
2.3.7. <i>Leishmania (Viannia) lindenberg</i> .....	18
2.3.8. <i>Leishmania (Viannia) shawi</i> .....	18
<b>2.4. Vetor.....</b>	<b>18</b>
<b>2.5. Reservatório.....</b>	<b>19</b>
<b>2.6. Transmissão.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7. Ciclo biológico .....</b>	<b>20</b>
<b>2.8. Achados clínicos .....</b>	<b>20</b>
2.8.1. Cães.....	20
2.8.2. Gatos .....	21
<b>2.9. Métodos de Diagnóstico.....</b>	<b>22</b>
2.9.1. Reação de Imunofluorescência Indireta.....	22
2.9.2. <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> .....	22
2.9.3. <i>Western Blot</i> .....	23
2.9.4. <i>Polymerase Chain Reaction</i> .....	23
2.9.5. Citologia.....	23
2.9.6. Teste Imunocromatográfico .....	23

2.9.7. Xenodiagnóstico .....	24
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>25</b>
<b>3.1. Colheita de sangue .....</b>	<b>25</b>
<b>3.2. Exame citológico .....</b>	<b>25</b>
<b>3.3. Teste rápido imunocromatográfico .....</b>	<b>26</b>
<b>3.4. Método de análise.....</b>	<b>26</b>
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>4.1. Cães .....</b>	<b>27</b>
<b>4.2. Gatos .....</b>	<b>31</b>
<b>5. CONCLUSÃO .....</b>	<b>34</b>
<b>6. REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar e a leishmaniose tegumentar (LT), são patologias de caráter fatal que acometem os seres humanos, canídeos, felídeos (BILDIK et al., 2004) e equídeos (SOARES et al., 2013), constituindo-se como uma das principais doenças parasitárias encontradas em países tropicais (SILVA et al., 2005). É considerada como uma doença infecciosa e zoonótica, amplamente distribuída em todo mundo, desde a Ásia até a América (ALVARENGA, 2010).

A forma visceral ocorre pela infecção do protozoário *Leishmania infantum*, também conhecida como *L. chagasi*, enquanto que a forma tegumentar ocorre pela infecção com as espécies de *Leishmania amazonenses*, *L. (Viannia) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) shawi* e *L. (V.) braziliensis* (BRUM et al., 2007; BRASIL, 2010).

No Brasil, a LV é causada pela *Leishmania chagasi*, tendo crucialmente o flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (mosquito palha) como o principal vetor, sendo os cães e raposas os reservatórios domésticos e silvestres mais importantes (OLIVEIRA et al., 2005). O cão é considerado como o principal reservatório do parasito causador da infecção em humanos, tornando-o responsável também por agir como reservatório natural da doença no ciclo urbano (SOLANO-GALLEGO et al., 2007).

A sintomatologia dos animais acometidos pode ser variável, podendo existir animais que se apresentam aparentemente saudáveis, oligossintomáticos ou com sinais clínicos graves da doença (FEITOSA et al., 2000). Essa enfermidade acomete diversos órgãos do animal, sendo o sistema renal bastante acometido e com a progressão da doença, pode-se chegar a um estágio de insuficiência renal, a qual é considerada a principal causa de morte entre os cães acometidos por leishmaniose (ARAÚJO & SOUSA, 2013).

A LT em cães é caracterizada por apresentar principalmente lesões ulceradas bem delimitadas, comumente de bordas elevadas, acometendo a pele e mucosas. Tais lesões apresentam retardo na cicatrização e podem ser confundidas com dermatites, o que muitas vezes pode levar a um diagnóstico tardio da doença (LESSA et al., 2007).

Os felídeos selvagens podem ser naturalmente infectados, enquanto que os gatos domésticos podem ser infectados e manifestar a doença acidentalmente (HOOGSTRAAL & DIETLEIN, 1964; MANCIANTI, 2004). Apesar da infecção em felinos ser considerada rara, o número de casos clínicos tem aumentado nos últimos

anos. Inquéritos sorológicos e parasitológicos realizados tem detectado a infecção pelo parasito em um número considerável de gatos (PENNISI, 2002; MANCIANTI, 2004).

Um aspecto da leishmaniose em felinos é a forma não aparente da doença por longos períodos e a ocorrência de animais assintomáticos o que representa um grande problema para a saúde pública (MACHADO et al., 2007). Quando comparado com os cães, os gatos apresentam os mesmos sinais clínicos porém, de forma mais branda (GRAMICCIA, 2011). Lesões cutâneas nodulares e/ou ulcerativas nas bordas das orelhas e nariz foram as principais lesões cutâneas já relatadas (BONFANTE-GARRIDO et al., 1996; SOUZA et al., 2009; POCHOLLE et al., 2012).

Segundo o Guia de Orientação para Vigilância de Leishmaniose Visceral Canina (2015), as duas técnicas sorológicas para detecção da LV em cães preconizadas pelo Ministério da Saúde (MS) são o teste rápido imunocromatográfico DPP® (*Dual Path Platform*, Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) e o *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA), sendo o primeiro um teste rápido para triagem e o segundo confirmatório. Porém, o diagnóstico parasitológico pode ser considerado como um método confirmatório, visto que se baseia na visualização do parasito obtido de material biológico de punção de linfonodos, de medula óssea, hepática e biópsia ou escarificação de pele (BRASIL, 2010). Segundo Rocha (2012) para o diagnóstico de leishmaniose nos felinos algumas técnicas utilizadas para comprovar a presença do parasito em cães são utilizadas.

A leishmaniose em cães é bem relatada e frequentemente diagnosticada na cidade de Sousa-PB e em outras cidades brasileiras endêmicas. O município possui altos índices de casos de leishmaniose canina e humana, mas as informações que norteiam a leishmaniose felina são escassas (DANTAS et al., 2017). Entretanto, sugere-se que mesmo a doença sendo comum em cães para nossa região, muito ainda precisa ser firmado principalmente no que se refere aos sinais clínicos, condutas e avaliar comparativamente os meios de diagnóstico.

Objetivou-se avaliar neste trabalho comparar os aspectos clínicos e os meios de diagnóstico dos casos de leishmaniose canina e felina atendidos no Hospital Veterinário do Instituto Federal, Ciência e Tecnologia da Paraíba (HV/IFPB), campus Sousa, através do exame clínico, exame citológico e teste rápido imunocromatográfico (TRI) da empresa Alere®.

## **2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA**

### **2.1. Histórico**

No ano de 1835, na Grécia foi relatado o primeiro caso de leishmaniose em humanos, e após 34 anos ocorreu o segundo relato na Índia. Devido às sintomatologias como a hiperpigmentação na pele e pirexia recebeu o nome de *Kala-jwar* ou *Kalazar*, que significa febre negra (MARZOCHI et al., 1981). Posteriormente, William Boog Leishman e Charles Donovan conseguiram isolar o parasito no baço de um soldado e de uma criança na Índia (LEISHMAN, 1903). Então foi denominado o gênero *Leishmania* em homenagem a Leishman e Donovan. (PESSOA & MARTINS, 1988; REY, 2001).

Segundo Badaró & Duarte (1996), a doença foi identificada no homem e no cão no Brasil por Evandro Chagas no ano de 1937, quando foi descoberta da infecção do flebótomo *Lutzomyia longipalpis*, classificando o parasito como *Leishmania chagasi*.

Em 1956 a doença foi caracterizada como uma zoonose, após ter sido evidenciado que em áreas endêmicas da doença, o cão e a raposa eram encontrados como reservatórios naturais da *Leishmania* spp. (DEANE, 1956).

A leishmaniose em gato doméstico foi descrita pela primeira vez em 1912, na Argélia, em um filhote que habitava uma mesma casa com uma criança e um cão portadores de leishmaniose visceral (SERGENT et al., 1912). Nos últimos anos os casos de leishmaniose em gatos têm sido relatados esporadicamente pelo mundo, sugerindo que os gatos exercem o papel de reservatórios domésticos da doença (MAROLI et al., 2007; LONGONI et al., 2012; VICENTE SOBRINHO et al., 2012).

### **2.2. Epidemiologia**

Estima-se que a cada ano ocorra entre 700.000 e um milhão de novos casos de leishmaniose em humanos no mundo, causando entre 20.000 a 30.000 mortes por ano em humanos (WHO, 2017).

O Brasil vivencia uma era de reaparecimentos de velhas endemias (SCHIMMING, 2012) e tal fato está atrelado à expansão e urbanização que o país vem vivendo (AMORA et al., 2006). Acreditava-se que a LV era uma doença de caráter silvestre ou muitas vezes restrita a áreas rurais do Brasil, entretanto devido a edificação das cidades tem-se aumentado os casos de humanos, cães e gatos positivos em várias cidades brasileiras (ZORZETTO, 2008).



O nordeste brasileiro é a região com maior prevalência de leishmaniose visceral humana (LVH) e leishmaniose visceral canina (LVC) (BAVIA et al., 2005). Em um estudo realizado por Silva et al. (2016), dos 362 cães avaliados na cidade de Patos-PB, 41 foram soropositivos para LVC, totalizando uma soroprevalência de 11,33% na região e em um levantamento epidemiológico realizado por Melo & Pinto (2011) na mesorregião do sertão paraibano encontrou uma soroprevalência na cidade de Sousa de 10,1 %. Apesar de ser uma doença de notificação obrigatória, os casos são subnotificados dificultando o levantamento de dados de forma fidedigna.

A leishmaniose cutânea em gatos já foi relatada na América do Sul (BONFANTE-GARRIDO et al., 1996; PASSOS et al., 1996; SAVANI et al., 2004; SILVA et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2008; SOUZA et al., 2009; BRESCIANI et al., 2010; ARRUDA, et al., 2017), na América do Norte (TRAINOR et al., 2010), no Oriente Médio (SOLANO-GALLEGO et al., 2007) e na Europa (POLI et al., 2002; GREVOT et al., 2005; SOLANO-GALLEGO et al., 2007; POCHOLLE et al., 2012;). No Brasil, já foram descritos casos nos estados de Minas Gerais (PASSOS et al., 1996), Rio de Janeiro (SILVA et al., 2008; FIGUEIREDO et al., 2008), São Paulo (SAVANI et al., 2004; BRESCIANI et al., 2010;) Mato Grosso do Sul (SOUZA et al., 2009), e na Paraíba (PORTELA, 2013<sup>1</sup>; ARRUDA, et al., 2017).

A leishmaniose é considerada endêmica geralmente em áreas onde se têm mamíferos e vetores, os quais atuam como reservatórios e hospedeiros desse parasito. O grande número de infecções tem sido cada vez mais reportado o que coloca em risco a segurança dos seres humanos, cães e gatos. A urbanização, associada a proximidades entre habitações e alta densidade populacional contribuem significativamente para a rápida disseminação da doença (GONTIJO & MELO, 2004), e animais que após visitas as áreas endêmicas, voltam ao seu local de residência com a infecção subclínica (IRWIN, 2002).

### **2.3. Agente etiológico**

Os agentes etiológicos da leishmaniose são protozoários pertencentes ao reino Protista, filo *Protozoa*, subfilo *Sarcomastigophora*, classe *Mastigophora*, ordem *Kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae* e gênero *Leishmania* (URQUHART et al., 1998; MICHALICK, 2004). Não são distinguíveis morfológicamente, porém podem ser

---

<sup>1</sup> Dados não publicados.

diferenciados por anticorpos monoclonais (SHAW et al., 1986), através de métodos moleculares (DEGRAVE et al., 1994) e por análise de isoenzimas (FIGUEIRA et al., 2008). Atualmente são conhecidas 30 espécies de *Leishmania* e, aproximadamente 20 são patogênicas para o homem (ASHFORD, 2000). As *Leishmanias* spp. apresentam duas formas infectantes: uma forma flagelada, também denominada promastigota, que é encontrada no tubo digestivo do vetor e a outra forma aflagelada, conhecida como amastigota, o qual é necessariamente intracelular sendo encontrada em células do sistema monocítico fagocitário no hospedeiro vertebrado (canídeos, felídeos, humanos e marsupiais) (BRASIL, 2006).

Existem três principais espécies envolvida na infecção tanto humana quanto animal, as quais são encontradas regiões geográficas específicas: *Leishmania (L.) donovani* é encontrada na Ásia e na África; *Leishmania (L.) infantum* na Ásia, Europa e África, e *Leishmania (L.) chagasi* nas Américas (BRASIL, 2006).

No Brasil atualmente são conhecidas sete espécies responsáveis por causar a LT, sendo uma do subgênero *Leishmania* e seis do subgênero *Viannia*: são as *Leishmania (Leishmania) amazonenses*, *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Viannia) guyanensis* e mais recentemente as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste (BRASIL, 2010), e para LV é a *Leishmania (Leishmania) chagasi* (BRUM et al., 2007).

#### 2.3.1. *Leishmania (Leishmania) chagasi*

É a principal responsável pela LV no Brasil. Para esta espécie de *Leishmania*, diversas espécies de canídeos silvestres (*Cedocyonthous*, *Lycalopex vetulus*), marsupiais (*Didelphis marsupialis*, *D. albiventris*) e os roedores silvestres (*Prochymal osiris*) são considerados hospedeiros naturais. No ambiente doméstico, os cães são os principais reservatórios da doença (BRASIL, 2006).

#### 2.3.2. *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

Peculiar à bacia amazônica e pouco frequente nas regiões Nordeste, Centro-oeste e Sudeste. Os hospedeiros naturais são roedores silvestres, sendo raras as infecções humanas, porém, quando estas ocorrem, tendem a se apresentar sob forma cutânea, com grande quantidade de lesões ou lesão única (BRASIL, 2006).

#### 2.3.3. *Leishmania (Viannia) braziliensis*

Foi à primeira espécie de *Leishmania* descrita e incriminada como agente etiológico da Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA), considerada como uma espécie bastante difundida em todas as regiões brasileiras. É a mais importante, não só no Brasil, mas em toda a América Latina. Tem ampla distribuição, desde a América Central até o norte da Argentina (BRASIL, 2010). Os animais domésticos estão presentes no ciclo de transmissão desse agente, sendo frequente a notificação de cães parasitados em áreas endêmicas de LTA (NOHARA, 1994).

#### 2.3.4. *Leishmania (Viannia) guyanensis*

No Brasil, aparentemente está limitado à Região Norte (Acre, Amapá, Roraima, Amazonas e Pará), sendo encontrada principalmente em florestas que não se alagam no período de chuvas (BRASIL, 2010). Encontrado em mamíferos silvestres, os quais são considerados hospedeiros naturais, entre elas a preguiça, o tamanduá e roedores. (NOHARA, 1994).

#### 2.3.5. *Leishmania (Viannia) lainsoni*

Foi identificado nos estados do Pará, Rondônia e Acre, sendo o parasito isolado de vísceras e pele do roedor silvestre *Agouti paca* (paca), o qual é atribuído o possível papel de reservatório (BRASIL, 2010).

#### 2.3.6. *Leishmania (Viannia) naiffi*

Ocorre nos estados do Pará e Amazonas. O parasito foi isolado e caracterizado do tatu (*Dasypus novemcinctus*) (BRASIL, 2010).

#### 2.3.7. *Leishmania (Viannia) lindenberg*

Foi descrita em soldados em uma área de reserva florestal no Estado do Pará. Até 2010 não existia relatos de infecções em animais ou flebotomíneos (BRASIL, 2010).

#### 2.3.8. *Leishmania (Viannia) shawi*

Está distribuída nas regiões nordeste e sudeste do estado do Pará e região oeste do estado do Maranhão. O parasito foi isolado de amostras de vísceras e pele de alguns mamíferos silvestres como: macacos (*Chiropotes satanas* e *Cebus apella*), quati (*Nasua nasua*) e preguiça (*Choloepus didactylus*), animais predominantemente arbóreos. Então

considera-se então que o ciclo enzoótico ocorra neste ambiente, porém a transmissão para o homem ocorre no nível do solo (BRASIL, 2010).

#### 2.4. Vetor

Existem várias espécies de flebotomíneos hematófagos pertencentes à ordem Diptera e ao gênero *Lutzomyia* que são responsáveis pela transmissão das leishmanioses na América, e as espécies de flebotomíneos variam de acordo com a espécie de *Leishmania* envolvida, da mesma forma acontece com os reservatórios (FUNASA, 2002).

Os flebotomíneos fazem parte da família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, possuem ciclo de vida bem delimitados. Apenas as fêmeas destas espécies se alimentam de sangue para maturação folicular ovariana (DIAS, 2003).

No Brasil, a LV possui como principais vetores duas espécies de flebotomíneos, o *Lutzomyia longipalpis* e o *Lutzomyia cruzi* naturalmente conhecidos como mosquito palha ou birigui, dependendo da região do país. O *Lutzomyia longipalpis* possui grande importância no ciclo da leishmaniose em todas as regiões do país, entretanto o *Lutzomyia cruzi* é específico do estado do Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2010).

As principais espécies envolvidas na transmissão da LTA são: *Lutzomyia flaviscutellata*, *L. whitmani*, *L. umbratilis*, *L. intermedia*, *L. wellcome* e *L. migonei* (BRASIL, 2010).

De acordo com Rebêlo (2011) que pesquisou a frequência horária do *Lutzomyia longipalpis* em São Luís-MA, os flebotomíneos em ambiente peridomiciliar apresentaram um maior período de atividade diária entre as 18 e 22 horas e em ambiente domiciliar entre às 20:30 e 23:30 horas, sendo esse período considerado de risco para humanos e animais, uma vez que os flebotomíneos se alimentam de várias espécies.

Alguns artrópodes incluindo os carrapatos (*Dermacentor variabilis* e *Rhipicephalus sanguineus*) e as pulgas caninas podem atuar como vetores da leishmaniose, porém em regiões onde há presença de flebotomíneos que transmitem a *Leishmania* spp., os carrapatos e as pulgas não tem importância significativa, entretanto, esses ectoparasitas podem estar envolvidos no ciclo da doença em casos raros de transmissão de cão para cão em regiões que não tenham a presença dos flebotomos (COUTINHO et al., 2005; SPICKLER, 2009).

## **2.5. Reservatórios**

As *Leishmanias* spp. possuem principalmente como reservatórios naturais no ambiente silvestre as raposas (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e marsupiais (*Didelphis albiventris*) e nas áreas urbanas os cães domésticos (*Canis familiaris*) (COSTA, 2005).

Os gatos podem ser considerados como reservatórios domésticos da doença (MAROLI et al., 2007; DA SILVA et al., 2010; LONGONI et al., 2012; VICENTE SOBRINHO et al., 2012) e para Brasil (2010), o papel do homem e do gato como reservatório ainda está sendo discutido.

## **2.6. Transmissão**

As transmissões das leishmanioses ocorrem principalmente pela picada de fêmeas infectadas de dípteros pertencentes aos gêneros *Lutzomyia*, porém já foi relatada a transmissão iatrogênica, ocorrendo pela transfusão de sangue contaminado (SHERDING, 2008), a transmissão transplacentária em cães e roedores e a venérea em cães experimentalmente infectados (BOGGIATTO et al., 2011; NAUCKE & LORENTZ, 2012).

## **2.7. Ciclo biológico**

O ciclo biológico ocorre em ambiente terrestre e o inseto possui quatro fases de desenvolvimento: ovo, larva, pupa e adulto (BRASIL, 2004). Após a cópula, os ovos ficam sobre o solo úmido e eclodem após sete a 10 dias. Em condições ambientais ideais, dentro de 20 a 30 dias alcançam o estágio de pupa, que são mais resistentes às variações climáticas; dentro de duas semanas o ciclo está completo. A infecção do vetor ocorre quando a fêmea se alimenta do sangue do mamífero contaminado ingerindo as formas amastigotas de *Leishmania* spp. existentes no interior dos macrófagos. No tubo digestivo do inseto, as amastigotas se reproduzem por divisão binária, transformam-se em promastigota, e estas se multiplicam rapidamente até originarem as promastigotas metacíclicas infectantes, esta fase dura de três a quatro dias (BRASIL, 2003).

Através de um novo repasto sanguíneo, as fêmeas dípteras, inoculam junto à saliva as formas promastigotas metacíclicas infectantes em um novo hospedeiro. Na epiderme do hospedeiro estas formas são fagocitadas pelos macrófagos e no interior do vacúolo transformam-se em amastigotas perdendo o flagelo e multiplicam-se até rompê-los. As amastigotas são fagocitadas por novos macrófagos e ocorre a disseminação

hematogênica para os tecidos ricos em células do sistema fagocítico mononuclear como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (URQUHART et al., 1998; BRASIL, 2003).

## **2.8. Achados clínicos**

### **2.8.1. Caninos**

Os sinais clínicos da leishmaniose dependem da severidade da doença, a qual está diretamente relacionada ao hospedeiro, vetor e parasito, podendo afetar o tecido cutâneo e as vísceras (CAMPOS-PONCE et al., 2005). Os cães podem não apresentar sinal aparente, contudo quando sintomáticos, comumente apresentam mais de um sinal clínico, sendo que o sistema tegumentar, nervoso, hepático e renal são os mais afetados (FREITAS, 2012).

As alterações dermatológicas são comuns em animais que se apresentam positivos para a LVC, incluindo uma excessiva descamação cutânea principalmente ao redor dos olhos, despigmentação, prurido, pele seca e áreas de hiperqueratose (GENARO, 1993; RAMOS, 2009; MAGALHÃES et al., 2012). Em alguns casos é comum a observação de regiões nodulares localizadas de forma intradérmica, como também a presença de úlceras cutâneas, tal fato está relacionado à multiplicação das formas amastigotas do parasito na epiderme do animal, produzindo então um processo inflamatório local (SALZO, 2008).

Alguns animais podem apresentar sinais inespecíficos, como pirexia, anemia e caquexia a hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenopatia generalizada, uveíte anterior, conjuntivite, blefarite, pneumonia intersticial, rinite, poliartrite neutrofilica e glomerulonefrite. Há relatos do envolvimento do sistema nervoso, o que resulta em sinais neurológicos como convulsão generalizada, alterações visuais e sinais de alteração nos pares de nervos cranianos (FEITOSA et al., 2000; ETTINGER & FELDMAN, 2004). Esses sinais clínicos ainda podem ser agravados por infecções bacterianas secundárias (COSTA, 2011; CORTES et al., 2012).

Os sinais clínicos apresentados pela LTA costumam ser a presença da úlcera cutânea única, eventualmente múltipla, localizada principalmente nas orelhas, focinho ou bolsa escrotal, sendo então sugestiva para a realização dos exames complementares (BRASIL, 2010).

### 2.8.2. Felinos

Em felinos, são escassos os relatos, assim como lesões e sinais viscerais, porém em casos sistêmicos há acometimento do baço, fígado, rins e linfonodos. Sinais inespecíficos como; icterícia, febre, vômitos, linfadenopatia, lesões oculares e bucais, leucopenia e anemia também já foram relatadas. (MARCOS et al., 2009; SPICKLER, 2009).

São relatados casos de leishmaniose nos quais o animal apresentava alopecia e descamação na região do ouvido e temporal, características de dermatite crostosa (SERRANO et al., 2008) e Souza et al. (2009) relataram um caso no qual *Leishmania (Leishmania) amazonensis* foi encontrada em um gato doméstico, no estado do Mato Grosso do Sul, verificando-se que os sinais clínicos inespecíficos eram semelhantes aos observados em outras doenças comumente diagnosticadas em gatos. a

Em uma pesquisa conduzida no interior do estado de São Paulo, os principais sinais clínicos foram a linfadenopatia, perda de peso, alopecia, secreção ocular mucopurulenta bilateral, desidratação, mudanças no estado de consciência, hepatomegalia, descarga nasal mucopurulenta, úlceras com crostas hemorrágicas e opacidade da córnea (SOBRINHO, 2010), corroborando com outro estudo realizado na mesma região em gatos infectados por *Leishmania chagasi*, o qual acrescentou diarreia e dispneia a esses sinais (VIDES et al., 2011).

Em infecções experimentais, sugere-se que o gato apresenta um alto grau de resistência natural ao parasito (SIMÕES-MATTOS et al., 2005), a qual depende também de fatores genéticos não relacionados à resposta celular (MANCIANTI, 2004). A resposta imune à infecção por *Leishmania* spp. em gatos diferiria das observadas em cães, o que deve explicar o pequeno número de animais infectados e sintomáticos (DA SILVA et al. 2008).

## 2.9. Métodos de diagnóstico

Para o diagnóstico da LVC há certa dificuldade devido à diversidade de sinais clínicos inespecíficos e seu caráter sistêmico, entretanto é possível a utilização de diversos testes e exames, para se obter o diagnóstico correto (LESSA et al., 2007).

Os testes mais frequentemente utilizados para diagnóstico da leishmaniose são os exames sorológicos (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay* - ELISA e reação de imunofluorescência indireta - RIFI), cultura do parasito, exames parasitológicos (histoquímico - HE, imunohistoquímico - IMIQ e citologia), exame molecular

(*Polymerase Chain Reaction* - PCR) e o xenodiagnóstico. O teste imunocromatográfico que é utilizado apenas para diagnóstico em cães. No entanto mesmo existindo uma gama de exames, nenhum dos testes disponíveis apresenta 100% de sensibilidade e especificidade para o diagnóstico da leishmaniose visceral (CRAIG et al., 1986; ASSIS et al., 2010; GONTIJO & MELO, 2004; PENNISI et al., 2013).

#### 2.9.1. Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI)

É considerada bastante sensível, entretanto não é tida como um teste muito específico, devido a possibilidade de se obter reações cruzadas com cães portadores de doença de Chagas (NEVES, 2000).

#### 2.9.2. *Enzyme-linked Immunosorbent Assay* (ELISA)

Uma preferência crescente pelos ensaios imunoenzimáticos tem sido observada nos laboratórios de diagnóstico em todo o mundo, por permitirem testar um grande número de amostras, com elevada sensibilidade e especificidade, utilizando antígeno recombinante ou mesmo antígenos totais do parasito (ROSÁRIO et al., 2005). O ELISA apresenta uma sensibilidade muito boa na detecção de casos de leishmaniose, contudo, com os antígenos utilizados, pode ocorrer reações cruzadas, ou seja, falsos-positivos (NEVES, 2000).

#### 2.9.3. *Western Blot*

Consiste em um método sorológico com alta sensibilidade e especificidade bastante utilizado para identificação de animais portadores assintomáticos da doença, pois tal exame é capaz de detectar baixos níveis de anticorpos circulantes (BRITO et al., 2000; DE PAULA., et al., 2003; ZANINI et al., 2010).

#### 2.9.4. *Polymerase Chain Reaction* (PCR)

O PCR é um teste molecular bastante utilizado em pesquisas, possui elevada sensibilidade no diagnóstico (GOMES et al., 2008). Entretanto devido ao alto custo e a necessidade de um laboratório especializado, tal técnica ainda não faz parte da rotina de diagnósticos de leishmaniose (BENSOUSSAN et al., 2006).

#### 2.9.5. Citologia



A citologia por Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) é indicada como método de diagnóstico para cães e gatos, principalmente quando são observadas lesões cutâneas e aumento de linfonodos superficiais. Este material serve para o diagnóstico de leishmaniose através da observação das formas amastigotas (GONTIJO & MELO, 2004).

#### 2.9.6. Teste Imunocromatográfico

É um dos testes mais utilizados na rotina clínica para detecção da leishmaniose (BERN et al., 2000; GRADONI, 2002; REITHINGER et al., 2002; SUNDAR et al., 2002; CARVALHO et al., 2003). Este teste é bastante aceito devido à simplicidade e rápida resposta (GRADONI, 2002). Segundo Laurenti et al. (2005), o teste possui sensibilidade entre 84 e 92,1% e de especificidade entre 99 e 100%. O teste imunocromatográfico DPP® (Bio-Manguinhos®) é um teste qualitativo para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* que utiliza a proteína recombinante K39 (rK39) como antígeno. Essa proteína é derivada de um antígeno específico produzido pelo complexo *Leishmania donovani*, responsável pela LVC (MARCELINO & SOUZA FILHO, 2015).

### 2.9.7. Xenodiagnóstico

É considerada uma técnica de diagnóstico de forma direta, cujo flebótomo se alimenta do sangue do animal anestesiado ou de forma indireta, quando não é necessária a sedação do animal, posteriormente o inseto é analisado e verificado a presença da forma promastigota (GRADONI, 2002).

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1. Local**

Para a realização da pesquisa foram acompanhados os atendimentos clínicos do HV/IFPB, durante o período de dois anos, sendo de janeiro e dezembro de 2015 acompanhados apenas os cães e no ano seguinte, entre janeiro e dezembro de 2016, os gatos.

#### **3.2. Amostra**

Entraram na casuística os animais que apresentaram um ou mais dos seguintes sinais clínicos; aumento do tamanho dos linfonodos, escore corporal baixo, seborreia, lesões ulceradas, bem delimitadas, comumente de bordas elevadas, acometendo pele e mucosas, ou que cheguem com exames positivos do teste rápido DPP® (*Dual Path Platform*, Bio-Manguinhos/FIOCRUZ), este exclusivo para cães. Para o diagnóstico em gatos foi realizado a citologia.

#### **3.3. Procedimentos e exames**

Nesses animais foram realizados os seguintes procedimentos; exame clínico, colheita de sangue e aspirado de linfonodo. Para o diagnóstico da leishmaniose os materiais coletados foram encaminhados para o Laboratório de Citologia e Histopatologia Animal, que realizou a pesquisa direta do parasito, através da citologia, e Parasitologia Animal do HV/IFPB, a fim de realizar respectivamente os exames complementares de pesquisa de ácaros e fungos e o TRI para os cães.

#### **3.4. Colheita de sangue**

Foi colhido aproximadamente 1–3 ml de sangue para realização do TRI, através da venopunção de jugular ou cefálica com seringas estéreis e reservados em tubos contendo *Ethylenediamin etetraacetic acid* (EDTA).

#### **3.5. Exame citológico**

A técnica citológica foi realizada através da PAAF dos linfonodos aumentados de tamanho e lesões nodulares. O material foi coletado de mais de uma lesão, e foram confeccionadas no mínimo três lâminas. O animal foi contido fisicamente e assim, foi procedida a assepsia do local de escolha para a coleta. Para realizar a PAAF, a agulha

foi acoplada a uma seringa de três mL que possibilite pressão. Após a introdução da seringa, a mesma foi movimentada em várias direções, com movimentos de sobe e desce, sem que houvesse perda da pressão até a retirada da agulha do local (MEYER, 1987). O aspirado foi ejetado em lâminas para microscopia, em seguida foi realizado o *squash*, posteriormente foram coradas com o Panótico Rápido LB®. Através do uso do microscópio óptico, nas objetivas de 40x e de 100x, com óleo de imersão foi realizada a leitura da lâmina para pesquisa da forma amastigota do parasito (PORTELA et al. 2014).

### **3.6. Teste rápido imunocromatográfico**

O teste rápido utilizado neste estudo foi o TRI para Leishmaniose Visceral Canina da empresa Alere®. Para realização do teste rápido, foi adicionado 10µl de sangue total no local marcado com a letra “S” no cassete do teste, em seguida foram adicionadas duas gotas de solução tampão. Os resultados foram interpretados em 20 minutos. Foi considerado positivo para leishmaniose, o teste que apresentaram as duas linhas coloridas, uma linha referente ao controle do teste e a outra referente à amostra estudada, independente de qual apareceu primeiro, como recomendado pelo fabricante.

### **3.7. Diagnóstico**

Para a confirmação do diagnóstico da leishmaniose em cães foi utilizado o teste rápido imunocromatográfico e o exame citológico e, para os gatos a utilização apenas do exame citológico. Diante de dois resultados positivos um no teste rápido e outro no citológico, o cão era diagnosticado com leishmaniose. O tutor era informado e esclarecido sobre a doença, os riscos de transmissão e a indicação da eutanásia.

### **3.8. Método de análise**

Foi realizada uma análise comparativa e descritiva dos aspectos clínicos, do resultado da citologia e TRI da leishmaniose em cães e gatos atendidos no HV/ IFPB, com os casos já relatados no Brasil.

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram acompanhados 363 animais, sendo 292 atendimentos de cães e 71 de gatos (Tabela 1).

Tabela 1 – Comparativo do número de atendimentos entre cães e gatos atendidos no HV/IFPB.

Diagnósticos	Cães	Gatos
Leishmaniose	09	01
Outros diagnósticos	198	49
Sem diagnóstico	85	21
Total	292	71

##### 4.1. Cães

Dos 292 cães atendidos, nove (3,08 %) foram diagnosticados com leishmaniose (Tabela 2). Os nove cães eram provenientes dos municípios do Sertão Paraibano, sendo cinco cães da cidade de Sousa e quatro cães da cidade de Cajazeiras. Os cães variavam de sem raça definidas à raças puras, com idade entre seis meses e quatro anos, sendo um animal errante e os demais domiciliados.

Tabela 2 - Números de cães atendidos entre janeiro e dezembro de 2015 no HV/IFPB.

Diagnósticos	Cães	%
Leishmaniose	09	3,08
Outros diagnósticos	198	67,80
Sem diagnóstico	85	29,10
Total	292	100

Dos cães diagnosticados com leishmaniose, 77,8% (7/9) eram sintomáticos e 22,3% (2/9) animais eram assintomáticos. Os dois animais assintomáticos vieram com o teste DPP® positivo do Centro de Zoonoses.

Os sinais clínicos observados foram: linfadenomegalia, febre, onicogribose, lesões ulceradas ou nodulares na pele, não cicatrização de feridas, seborreia, hiperqueratose, alopecia e caquexia (Tabela 3).

Tabela 3 - Principais sinais clínicos apresentados nos nove cães diagnosticados com leishmaniose.

Animais	Apatia	L.Ulcerativa*	↑LN*	ALP*	HQ*
A	Presente	Presente	Presente	-	Presente
B	-	Presente	Presente	Presente	Presente
C	-	Presente	Presente	-	-
D	-	-	Presente	-	-
E	-	-	-	-	-
F	Presente	-	Presente	Presente	Presente
G	-	-	Presente	-	-
H	Presente	-	Presente	Presente	-
I	-	-	-	-	-
Total	03	03	07	03	03

Legenda: ↑LN- Aumento de um ou mais linfonodos. / ALP – Alopecia. / HQ – Hiperqueratose. / L.Ulcerativa – Lesões Ulcerativas/ (-) – Ausente.

Os animais A, B e C apresentaram lesões ulceradas (Imagem 1). O animal B, apresentou ainda lacrimejamento purulento, hepatomegalia e esplenomegalia. O animal G apresentou hipotricose e os animais C e H apresentaram caquexia.



Imagem 1 – Cão. Lesão ulcerada arredondada no membro torácico direito e onicogrifose.

Clinicamente os casos apresentados eram semelhantes aos resultados encontrados por Ramos (2009), o qual em sua pesquisa encontrou como manifestações clínicas mais frequentes a linfadenomegalia, dermatite, alopecia, emagrecimento,

conjuntivite e hiperqueratose. Magalhães (2012) relacionou ainda à hepatomegalia, esplenomegalia, apatia, hipertermia, alterações oftálmicas e mucosas hipocoradas.

Nessa pesquisa o número de animais sem sinais específicos da doença foi inferior aos sintomáticos, discordando com Tafuri et al. (2004) que relatou o número de animais assintomáticos muito maior do que o número de animais portadores de infecções sintomáticas. Os cães assintomáticos são infectantes para os flebótomos numa proporção similar aos sintomáticos (MOLINA et al., 1994 e TRAVI et al., 2001).

Em nove cães diagnosticados com leishmaniose em que se realizaram a citologia dos linfonodos, foram encontradas as formas amastigotas no interior dos macrófagos e extracelularmente da *Leishmania spp.* (Imagem 2). Os linfonodos mais acometidos pela hipertrofia em ordem decrescente foram os linfonodos poplíteos, submandibulares e pré-escapulares que estavam aumentados.

No TRI da marca Alere® todos os animais foram constatados positivos (Imagem 3), mesmo em cães sem sinais clínicos específicos para a enfermidade e no animal negativo na pesquisa através citologia (Tabela 4).

O teste rápido imunocromatográfico da empresa Alere® confere 97,2% de sensibilidade e 99,8% de especificidade (MARCELINO & SOUZA FILHO, 2015).

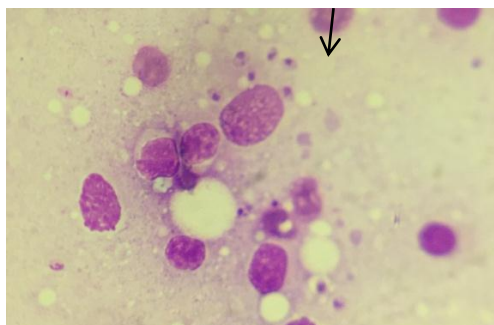


Imagem 2 - Cão. Linfonodo. Forma amastigota de *Leishmania* intracelular (seta) no macrófago e extracelular. Panótico Rápido, 100x Obj. com óleo de imersão.



Imagem 3 -Teste rápido imunocromatográfico Alere®, apresentando a linha de controle e a linha com o reagente. Resultado positivo para Leishmaniose.

Tabela 4- Resultado do exame parasitológico, teste rápido e sinais clínicos dos nove casos de leishmaniose em cães.

Animal	Parasitológico	Teste rápido	Oligossintomáticos	Assintomáticos
A	+	+	+	-
B	+	+	+	-
C	+	+	+	-
D	+	+	+	-
E	+	+	-	+
F	+	+	+	-
G	+	+	+	-
H	+	+	+	-
I	+	+	-	+
Total	09	09	07	02

Legenda: (+) positivo; (-) negativo

De acordo com Portela (2014), é possível com uso do microscópio óptico, nas objetivas de 40x e de 100x, observar as formas amastigotas, em macrófagos, ou, extracelularmente, porém considera-se que a citologia só poderá ser conclusiva diante da presença de formas amastigotas, contudo se essas formas não forem observadas, torna-se necessário a realização de outros exames para o diagnóstico definitivo, como PCR, sorologia e/ou histopatologia. Santos (2010) em Bom Jesus-PI realizou uma pesquisa de formas amastigotas de leishmania pela citologia, sendo positivo no exame parasitológico em 40,7% dos animais testados, discordando com os encontrados nessa pesquisa. De acordo com Laurenti (2009) o exame citológico apresenta alta especificidade, porém sua sensibilidade dependerá do grau do parasitismo, da técnica utilizada, do observador e do material coletado.



Os resultados obtidos nessa pesquisa, em que o TRI e a citologia foram totalmente compatíveis, discorda com DE SANTIS et al. (2013) que obteve como resultado que o TRI apresentou 76% de eficácia nos animais sintomáticos.

Com base a Resolução n.º 714, de 20 de junho de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária, a eutanásia de cães é recomendada a todos os animais sororreagentes e/ou parasitológico positivo (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). O Ministério da Saúde do Brasil preconiza a eutanásia de cães soropositivos, o controle do vetor, diagnóstico precoce e o tratamento de casos humanos na busca do controle da leishmaniose (BRASIL, 2006).

A leishmaniose é considerada como um problema de saúde pública, portanto, o médico veterinário deverá sempre notificar os casos e esclarecer o tutor sobre os riscos de transmissão da doença para os seres humanos e outros animais, enfatizando que a prevenção é a melhor forma de combatê-la em cães, gatos e humanos.

#### **4.2 Gatos**

Durante o período de janeiro a dezembro de 2016, foram atendidos 71 gatos sendo que um foi diagnosticado com leishmaniose (Tabela 5).

O animal era proveniente do município de Sousa – PB, adulto, fêmea, sem raça definida, domiciliado e que convivia com outros gatos.

Tabela 5 – Número de gatos atendidos entre janeiro e dezembro de 2016, no HV/IFPB.

Diagnósticos	Gatos	%
Leishmaniose	01	1,40
Outros diagnósticos	49	60,01
Sem diagnóstico	21	29,5
Total	71	100

O animal apresentava lesões crostosas nas orelhas, face (região frontal, nasal e todo o focinho), apresentava também obstrução do canal auricular com coágulos, crostas e laceração na orelha direita (Imagem 4). Foi confirmada a infestação por sarna *Notoédrica*, e endoparasitas através de exames parasitológicos realizados no Laboratório de Parasitologia Animal do IFPB.



Imagem 4 – Gato. Lesões crostosas na região da face e orelha direita lacerada.

Através da citologia da escarificação da pele, foram encontradas estruturas semelhantes à *Malassezia* spp. e o diagnóstico da leishmaniose foi através do exame citológico do linfonodo poplíteo, cujo foram visualizadas grande quantidade de formas amastigotas de *Leishmania* spp., no interior de macrófagos (Imagem 5) e extracelularmente. A presença de formas amastigotas foi considerada como conclusiva para diagnóstico de leishmaniose nesse animal. Não foi possível a coleta de material para exames sorológicos devido a não autorização do seu tutor.

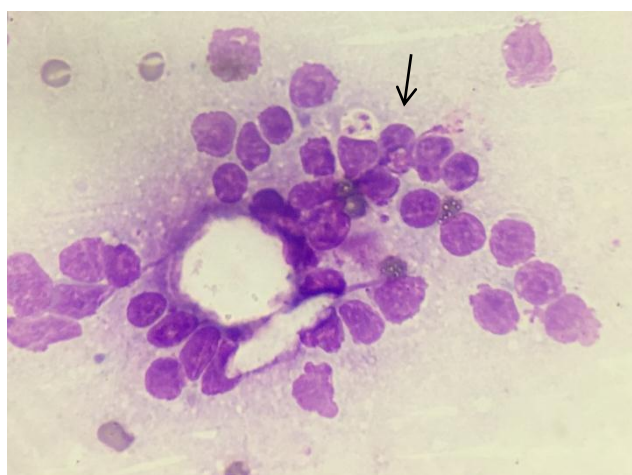


Imagem 5: Gato. Linfonodo. Forma amastigota intracelular (seta) de *Leishmania*. Panótico Rápido. Obj. 100x com óleo de imersão.

O animal não apresentava as mesmas características clínicas e dermatológicas encontradas em outros relatos de leishmaniose em gatos como as lesões cutâneas nodulares e/ou ulcerativas nas bordas das orelhas e nariz (BONFANTE - GARRIDO et al. 1996; SOUZA et al. 2010; PORTELA, 2013<sup>2</sup>). Sugere-se que essa característica seja devido às infecções concomitantes apresentadas.

As lesões observadas na orelha do animal possivelmente foram agravadas devido à infestação por ectoparasitas, assim como Grevot et al. (2005), comprovaram que os gatos acometidos por leishmaniose e/ou doenças virais, sofrem danos na resposta imunológica mediada por células.

Atualmente, para os gatos, ainda não há uma padronização de testes sorológicos, rápidos. Sendo realizado como alternativa para diagnóstico, o exame citológico, através da PAAF, principalmente dos linfonodos aumentados e *imprint* de lesões da pele (PORTELA, 2014). Em outros relatos as técnicas para diagnóstico mais utilizadas foram PCR, ELISA e RIFI (MORAIS, 2014).

---

<sup>2</sup> Dados não publicados.

## **5. CONCLUSÃO**

Em áreas endêmicas a leishmaniose deve compor o quadro de diagnóstico diferencial quando os cães e gatos apresentarem um ou mais dos sinais clínicos específicos da doença ou sinais clínicos de doenças sistêmicas ou crônicas. Cães que tiveram resultados positivos no TRI da Alere® ou no DPP® podem fazer uso da citologia a partir do PAAF dos linfonodos, para ratificar o resultado positivo desses testes de triagem. Porém a citologia só é determinante para a leishmaniose, quando as formas amastigostas de *Leishmania sp.* são encontradas. Em felinos, os sinais clínicos podem ser agravados e confusos pela associação com outras doenças. A citologia para este caso foi o único meio de diagnóstico e mostrou fácil visualização das formas amastigostas pelo grande número. Sugere-se fazer uso desta técnica, especialmente em gatos que apresentem coinfeções. Ressalta-se aqui a importância da utilização de diferentes técnicas para se melhorar a precisão diagnóstica nas leishmanioses, devido aos critérios de especificidade e sensibilidade não serem 100%.

## 6. REFERÊNCIAS

- ALVARENGA, D.G.; ESCALDA, P.M.F.; COSTA, A.S.V. et al. Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados a letalidade. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.43, n.2, p. 194-197, 2010.
- AMORA, S.S.A.; SANTOS, M.J.P.; ALVES, N.D. et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.36, n.6, p.1854-1859, 2006.
- ARAÚJO, C.R.A.; SOUSA, M.G. Avaliação da função renal em cães com leishmaniose visceral. In: – 9º SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO TOCANTINS, Palmas. **Anais...** 2013.
- ARRUDA, L.F.B.; ARRUDA, L.B.; ARAÚJO, A.L. et al. Report of a clinical case of leishmaniasis in a feline in Sousa city, Paraíba – Brazil. In 38º Congresso Brasileiro da Anclivepa. **Anais...** Recife-PE, 2017.
- ASHFORD, R.W.; DAVID, J.R.; FREIRE, M. et al. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dog control on canine and human visceral leishmaniasis, Jacobina, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.59,n.1, p.53-57, 1998.
- ASHFORD, R.W. The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. **International Journal for Parasitology**, v. 30, p. 269-1281, 2000.
- ASSIS, J.; QUEIROZ, N. M. G. P.; SILVEIRA, R. C. V.; et al. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para Leishmaniose Visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p. 17-25, 2010.
- BADARÓ, R.; DUARTE, M.I.S. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: VERONESE, R.; FOCACCI, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Atheneu, 1996. v. 2, p.1234- 1259.
- BAVIA M.E.; CARNEIRO D.D.; GURGEL H.C. et al. Remote sensing and geographic information systems and risk of American visceral leishmaniasis in Bahia, Brazil. **Parasitology Research**, v.47, p. 165-169, 2005.
- BENSOUSSAN, E.; NASEREDDIN, A.; JONAS, F. et al. Comparison of PCR assays for diagnosis of cutaneous leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 44, n.4, p.1435-1439, 2006.
- BERN, C.; JHA, S.N.; JOSHI, A.B.; THAKUR, G.D.; BISTA, M.B. Use of the recombinant k39 dipstick test and the direct agglutination test in a setting endemic for visceral leishmaniasis in Nepal. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.63, n.3-4, p.153-157, 2000.
- BILDIK, A.; KARGIN, F.; SEYREK, K. et al. Oxidative stress and non-enzymatic antioxidante status in dogs with visceral Leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v.77, p.63-66, 2004.

BOGGIATTO, P.M.; GIBSON-CORLEY, K.N.; METZ, K., et al. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in north america. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.5, n.4, p.109 2011.

BONFANTE-GARRIDO, R.; VALDIVIA, O.; TORREALBA, J. et al. Cutaneous leishmaniasis in cats (*Felis domesticus*) caused by *Leishmania* (*Leishmania venezuelensis*). **Revista Científica – Facultad de Ciencias Veterinárias**, v.6, n.3, p.187-190, 1996.

BRASIL, Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**, 7ª edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2010, p.813.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006, p.120.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Serie A. Normas Técnicas. Brasília: Ministério da Saúde, 2004, p. 120.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003, p.120.

BRESCIANI, K.D.S.; SERRANO, A.C.M.; MATOS, L.V.S. et al. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. **Brazilian Journal of Veterinary**, v.19, n.2, p.127-129, 2010.

BRITO, M.E.F.; MENDONÇA, M.G.; GOMES, Y. et al. Identification of potentially diagnostic *Leishmania braziliensis* antigens in human cutaneous leishmaniasis by immunoblot analysis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.7, n.2, p. 318-321, 2000.

BRUM, L. C.; CONCEIÇÃO, L.G.; RIBEIRO, V.M. et al. Principais dermatoses zoonóticas de cães e gatos. **Revista Clínica Veterinária**, n. 69, p. 29-46, 2007.

CAMPOS-PONCE, M.; PONCE, C.; PONCE, E. et al. *Leishmania chagasi/infantum*: further investigations on *Leishmania* tropism in atypical cutaneous and visceral leishmaniasis foci in Central America. **Experimental Parasitology**, New York, v. 109, p. 209–219, 2005.

CARVALHO, S.F.G.; LEMOS, E.M.; COREY, R.; DIETZE, R. Performance of recombinant k39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.68, n.3, p.321-324, 2003.

CORTES, S.; VAZ, Y.; NEVES, R. et al. Risk factors for canine leishmaniasis. In an endemic Mediterranean region. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 189, n. 2-4, p. 189-196, 2012.

COSTA C. H. N. How effective is dog culling in controlling zoonotic visceral leishmaniasis? A critical evaluation of the science, politics and ethics behind this public health policy. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. Uberaba, v.44, n.2, p. 232-242, 2011.

COSTA, J. M. L. Epidemiologia das leishmanioses no Brasil. **Gazeta Médica da Bahia**, 2005.

COURA-VITAL, W.; BARBOSA REIS, A.; SOARES REIS, L.E. et al., Canine visceral leishmaniasis: Incidence and risk factors for infection in a cohort study in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.197, p.411-417, 2013.

COUTINHO, M. T. Z.; BUENO, L. L.; STERZIK, A. et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 128, n. 1-2, p. 149-155, 2005.

CRAIG, T.M.; BARTON, C.L.; MERCER, S.H. et al. Dermal leishmaniasis in a Texas cat. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.35, p. 1100-1102, 1986.

DANTAS, M.O.; BEZERRA, H.M.F.; ROCHA, V.C.F. et al. Aspectos Epidemiológicos da Leishmaniose Visceral Canina no Sertão da Paraíba. In 38º Congresso Brasileiro da Anclivepa. **Anais...** Recife-PE, 2017

DA SILVA, S. M.; RABELLO, P. F.; GONTIJO, N. F. et al. First report of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, n. 174, p. 150-154, 2010.

DA SILVA, A.V.; SOUZA, C.C.D.; PITA, P.D. et al. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**. v.105, n.1, p.92-94, 2008.

DEANE, L. M. **Leishmaniose visceral no Brasil: estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará**. 1956, 162f. Tese Doutorado - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo-SP.

DEGRAVE, W.; FERNANDES, O.; CAMPBELL, D. et al. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania* - a mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, p. 463-469, 1994.

DE PAULA, A. A.; DA SILVA, A.M. V.; FERNANDES, O. et al. The use of immunoblot analysis in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in an endemic area of Rio de Janeiro. **The Journal of Parasitology**, v. 89, n. 4, p. 832 – 836, 2003.

DE SANTIS, B.; SANTOS, E.G.B.; SOUZA, C.S.F. et al. Performance of DPP™ immunochromatographic rapid test (IRT) for canine visceral leishmaniasis: comparison with other serological methods in suspected dogs from Cuiabá, Mato Grosso State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**., São Paulo, v. 50, n. 3, p. 198-205, 2013

DIAS, F. O. P. et al. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (*Psychodidae*, *Phlebotominae*). **Caderno de Saúde Pública**, v.2 p.1373-1380, 2003.

ETTINGER, S. J.; FELDMAN, E. C. **Tratado de Medicina Interna Veterinária – Doenças do Cão e do Gato**. 5 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

FABIANA KELLY ALVES DA SILVA. **LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA**. Monografia. Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA. RECIFE – PE. 2009

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A.; LUVIZOTTO, M. C. R.; PERRI, S. H. V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, n.28, p.36-44, 2000.

FERRER, L.; FONDEVILA, D.; MARCO, A. et al. Atypical nodular Leishmaniasis in two dogs. **Veterinary Record**, v. 126, n. 4, p. 90, 1990.

FIGUEIRA, L.P.; ZANOTTI, M.; PINHEIRO, F.G. et al. Caracterização isoenzimática de isolados humanos de *Leishmania* sp. (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) dos municípios de Rio Preto da Eva, Estado do Amazonas. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.41, p. 512-514, 2008.

FIGUEIREDO, F.B.; PEREIRA, S.A.; GREMIÃO, I.D.F. et al. Leishmaniose tegumentar americana em felino doméstico no município do Rio de Janeiro, Brasil – relato de caso. **Clínica Veterinária**, n.74, p.58-60, 2008.

FREITAS, J. C. C. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, p. 24-29, 2012.

FUNDAÇÃO NACIONAL DE SAÚDE (FUNASA). **Guia de vigilância epidemiológica**. Fundação Nacional de Saúde. 5 ed, Brasília: FUNASA, 2002, 842p.

GENARO, O. Leishmaniose visceral canina experimental. Belo Horizonte. 1993. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

GERÊNCIA DE VIGILÂNCIA DE ZONÓSES E ENTOMOLOGIA. **Guia de Orientação para Vigilância de Leishmaniose Visceral Canina (LVC)**, 24p, Santa Catarina, 2015.

GOMES, Y.M.; CAVALCANTI, M.P.; LIRA, R. A. et al. C. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances. **The Veterinary Journal**, n.175, p. 45-52, 2008.

GONTIJO C.M.; MELO M.N.; Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira Epidemiologia**. v.7, n.3, p. 338-49, 2004.

GRADONI, L. The diagnosis of canine leishmaniasis. In: Canine leishmaniasis: moving towards a solution. **Proceeding...Sevilha**, Espanha, p. 7-14, 2002.



GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary Parasitology**, v. 18, p.123-30, 2011.

GREVOT, A.; JAUSSAUD HUGUES, P.; MARTY, P. et al. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeIV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v.12, n.3, p. 271-275, 2005.

HOOGSTRAAL, H.; DIETLEIN, D.R. Leishmaniasis in the Sudan Republic: recent results. **Bulletin of the World Health Organization**, v.31, p.137-143, 1964.

IRWIN, P.J. Companion animal parasitology: a clinical perspective. **International Journal for Parasitology**, v.32, p.581-593, 2002.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v.6, n. 67, p.13-23, 2009.

LAURENTI, M.D.; LEMOS, E.M.; REIS, A.B.; et al. Evaluation of Kalazar detect rapid test for serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil. In: World Congress on Leishmaniasis, 2005. **Abstract book...Italy**, 2005. p.160.

LEISHMAN, W .B. On the possibility of the occurs of trypanosomiasis in India. **British Medical Journal**, v.1, p.1252-1254, 1903.

LESSA, M.M.; LESSA, H.A.; CASTRO, T.W.N. et al. Leishmaniose mucosa: aspectos clínicos e epidemiológicos. **Revista Brasileira de Otorrinolaringologia**, v.73, n.6, p. 843-847, 2007.

LONGONI, S.S.; LÓPEZ-CESPEDES, A.; SÁNCHEZ-MORENO, M .; BOLIO-GONZALEZ ME et al. Detection of different *Leishmania* spp and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.35, n.5, p.469-76, 2012.

MACHADO, J.G; HOFFMANN, J.L; LANGONI, H. Imunopatologia da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, v.19, n.71, p.50-58, 2007.

MAGALHÃES, L.F.; WILSON, T.M.; MEDEIROS, A.A. Quadro clínico de cães com leishmaniose visceral e sua correlação com a sensibilidade do teste parasitológico. **Veterinária Notícias**, Uberlândia, v.18. n. 2 (supl.), p. 67-72, jul-dez. 2012.

MANCIANTI, F. Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat. **Parassitologia**, v.46, n.1, p.203-206, 2004.

MARCELINO, A.P.; FILHO, J.A.S. **Instruções para a realização do teste rápido imunocromatográfico Alere para diagnóstico sorológico da leishmaniose visceral**

**canina.** Serviço de Doenças Parasitárias Laboratório de Referência Nacional em Diagnóstico da Doença de Chagas e Leishmaniose Visceral IOM – FUNED. Belo Horizonte. 2015, p.68.

MARCOS, R.; SANTOS, M.; MALHÃO, F. et al. Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 2, p. 201-205, 2009.

MAROLI, M.; PENNISI, M.G.; DI MUCCIO, T.; et al. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3, p.357-60, 2007.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W .J. et al. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 41, n. 5, p. 61-84, 1981.

MEYER, D.J. The management of cytology specimens. **Compend Contin Educ Pract Vet**, n. 9, p. 10-17, 1987.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**, ed Atheneu, 2004, v.11, p.41-46.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual da vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. 1ª edição 5ª reimpressão, Brasília – DF, 2014, p.122.

MOLINA, R.; AMELA, C.; NIETO, J.; et al. Infectivity of dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 88, n. 4, p. 491-493, 1994.

MORAIS, C.S.F.M. Leishmaniose Felina: Revisão de Literatura. **Monografia**. Centro de Estudos Superiores de Maceió da Fundação Educacional Jayme de Altavila. 26f. São Paulo/SP, 2014.

NAUCKE, T. J., LORENTZ, S. First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & Vectors**, v.5, n.67, p.77-81, 2012.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. 10 ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2000, p.616.

NOHARA, S.J. Canine epidemiologic survey on human cutaneous leishmaniasis outbreak braçanan da serra district. (Rio Bonito Municipality, Rio de Janeiro State – Brazil). In: 43º annual meeting of the american society of tropical medicine and hyfiene. **Anais...** 1994.

OLIVEIRA, L.S.; JULIÃO, F.S.; SOUZA, V.M.M. et al. A utilização da imunofluorescência indireta no diagnóstico de rotina da leishmaniose visceral canina e suas implicações no controle da doença. **Ciência Animal Brasileira**, v.6, n.1, p.41-47, 2005.

PASSOS, V.M.A; LASMAR, E.B.; GONTIJO, C.M.F. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.91, n.1, p.19-20, 1996.

PENNISI, M.G. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. In: KILLICK-KENDRICK, R. (Ed.). Canine Leishmaniasis: moving towards a solution. Boxmeer: **Intervet International**, 2002. p. 39-48.

PENNISI, M. G.; HARTMANN, K.; LLORET, A. et al. Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery: SAGE Journals**. v. 15, n. 7, p. 638-642, 2013.

PESSOA, S. B.; MARTINS, A. V. **Parasitologia médica**. 11ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988, p. 872.

PINTO, N.F.S.; MELO, M.A. Levantamento Epidemiológico da Leishmaniose Visceral Canina na Mesorregião do Sertão Paraibano. **In IX Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande**. PIBIC/CNPQ/UFCG. 2011

POCHOLLE, E.; REYES-GOMEZ, E.; GIACOMO, A. et al. A case of feline leishmaniasis in the south of France. **Parasite**, n.19, p.77-80, 2012.

POLI, A.; ABRAMO, F.; BARSOTTI, P. et al. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy. **Veterinary Parasitology**, v.26, n.106, p.181-191, 2002.

PORTELA, R.A.; ARRUDA, L. F.B.; COSTA, V. et al. Dermatologia Em Felinos - Citologia como ferramenta de diagnóstico na busca da Leishmaniose. In: 41º CONBRAVET, 2014, Gramado/RS. **Anais...** Gramado, 2014.

RAMOS, J. K. M. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínicos e de diagnóstico. 2009. 71f. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

REBÊLO, J.M. Frequência horária e sazonalidade de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: *Phlebotominae*) na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Caderno Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 17, n.1, p.221-227, 2001.

REITHINGER, R.; QUINNELL, R.J.; ALEXANDER, B. et al. Rapid detection of *Leishmania infantum* infection in dogs: comparative study using an immunochromatographic dipstick test, enzyme-linked immunosorbent assay, and PCR. **Journal of Clinical Microbiology**. v.40, n.7, p.2352-6, 2002.

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

ROCHA, A.G. **Leishmaniose visceral canina no Rio Grande do Sul: Revisão Bibliográfica**. (Monografia) - 2012 Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

ROSÁRIO E.Y.; GENARO O.; FRANÇA-SILVA J.C., et al. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n. 2, p.197-203, 2005.

SALZO, P.S. Aspectos dermatológicos da leishmaniose canina. **Nosso clínico**, São Paulo. Ano 11, n.63, p.30-34, 2008.

SANTA ROSA I. C. A.; OLIVEIRA, I. C. S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, n.11, p.24-28, 1997.

SANTOS, R. S. ; MACHADO, L.P ; OLIVEIRA, F.L.L. et al. Pesquisa de formas amastigota de *Leishmania (Leishmania) chagasi* pela citologia de linfonodo, medula óssea e pele lesionada em cães com diagnóstico sorológico de leishmaniose visceral canina no município de Bom Jesus-PI. In: XIX Seminário de iniciação científica da Universidade Federal do Piauí (UFPI), 2010, Teresina. Sessão de painéis do XIX seminário de iniciação científica da Universidade Federal do Piauí-UFPI, 2010.

SAVANI, E. S. M. M.; CAMARGO, M. C. G. O; CARVALHO, M. R.. et al. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania infantum chagasi)* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. Short communication. **Veterinary Parasitology**, v.120, n.3, p.229- 233, 2004.

SCHIMMING, B.C.; PINTO E SILVA, J.R.C. Leishmaniose visceral canina– revisão de Literatura. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, v.1, n.19, 2012.

SERRANO, A.C.M.; NUNES, C.M.; SAVANI, E.S.M. et al. Leishmaniose em felino na zona urbana de Araçatuba - SP - relato de caso. **Clinica Veterinária**. v.76, p.36-40, 2008.

SERGENT E.; LOMBAARD J.; QUILICHINI M. La Leishmaniose à Alger. Infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même habitation. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v. 5, p. 93-8, 1912.

SHAW, J. J.; LAINSON, R.; MCMAHON-PRATT, D. et al. Serodemes of the *Leishmania braziliensis* complex. In: *Leishmania Taxonomie et Phylogenese. Applications eco-epidemiologiques* (Coll Intern CNRS/INSERM, 1984). France: IMEEE, Montpellier, p. 179-183, 1986.

SOARES, I.R.; SILVA, S.O.; MOREIRA, F.M. et al. 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, p.665-669, 2013.

SHERDING, R. G. Toxoplasmosis and other systemic protozoal infections. In: SILVA, A.V.; de SOUZA CÂNDIDO, C.D.; PITA, D.P. et al. The first record of american visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, 2008. v.105, n.1, p.92-94.

SILVA, A.V.M. ; PAULA, A.A.; CABRERA, M.A.A. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n.1, p.324-328, 2005.

SILVA, R.B.S.; MENDES, R.S.; SANTANA, V.L. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina na zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 36, n.7, p.625-629, 2016.

SIMÕES-MATTOS, L.; MATTOS, M. R. F.; TEIXEIRA, M. J. et al. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 127, p. 199–208, 2005.

SOBRINHO, L, S. Leishmaniose felina e sua associação com imunodeficiência viral e toxoplasmose em gatos provenientes de área endêmica para leishmaniose visceral. 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Araçatuba, 2010.

SOLANO-GALEGO L.; RODRÍGUEZ-CORTÉZ A.; INIESTA L. et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.6, n.4, p. 676-80, 2007.

SOUSA, V.R.F.; ALMEIDA, A.B.P.F.; BARROS, L.A. et al. Avaliação Clínica e molecular de cães com erliquiose. **Ciência Rural**, v.40, n.6, p.1309-1313, 2010.

SOUZA, A.I.; NUNES, V.L.B.; BORRALHO, V.M et al. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do rio pardo, Mato Grosso Do Sul State, Brazil: A Case Report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, v.15, n.2, p.359-365, 2009.

SPICKLER, A. R. Leishmaniasis (Cutaneous and Visceral). The Center for Food Security and Public Health. **College of Veterinary Medicine Iowa State University**, v.29, n.1 p.2-6, 2009.

SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.

TAFURI, W. L.; SANTOS, R. L.; ARANTES, R. M. E. et al. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, v. 292(1-2), p. 17-23, 2004.

TRAINOR, K.E.; PORTER, B.F.; LOGAN, K.S et al. Eight cases of feline cutaneous leishmaniasis in Texas. **Veterinary Pathology Online**, v.47, n.6, p.1076-1081, 2010.

TRAVI, B.L.; TABARES, C.J.; CADENA, H. et al. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v. 64 p. 19- 24, 2001.

URQUHART, G. M.; ARMAOUR, J.; DUNGAM, J. L. et al. **Parasitologia Veterinária**. 2<sup>a</sup> ed, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 190-192, 1998.

VICENTE SOBRINHO L.S.; ROSSI C.N.; VIDES J.P. et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n. 1, p. 302-6, 2012.

VIDES, J.P.; SCHWARDT, T.F.; SOBRINHO, L.S.V. et al. *Leishmania chagasi* in cats with dermatologic lesions from an endemic area of Visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 178, n.1, p.22-8, 2011.

WHO. World Health organization. Division of Control of Tropical Diseases. Leishmaniasis  
Centro de prensa. Nota descriptive. Abril de 2017.

ZANINI, M.S.; VIANA, K.F.; REIS, A.B. et al. *Leishmania (Viannia) braziliensis*: Immunoblotting analysis for the detection of IgG subclasses in the diagnosis of symptomatic and asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**. v. 173 p.143-146, 2010.

ZORZETTO, R. Uma doença anunciada. Infecção letal causada por parasita de uma só célula, a leishmaniose visceral avança sobre as cidades brasileiras. **Pesquisa Fapesp**, São Paulo, v.151, p.47-51, 2008.