



CISNE FACULDADE DE QUIXADÁ
MEDICINA VETERINÁRIA

ELAINE DE SENA BARROSO

**ESTUDO RETROSPECTIVO DA PREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL
CANINA NA CIDADE DE QUIXADÁ E IMEDIAÇÕES**

QUIXADÁ

2020

ELAINE DE SENA BARROSO

ESTUDO RETROSPECTIVO DA PREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL
CANINA NA CIDADE DE QUIXADÁ E IMEDIAÇÕES

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da CISNE - Faculdade de Quixadá, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Maria Rociene Abrantes.
Coorientador: Prof. Dr. João Alison de Moraes Silveira.

QUIXADÁ

2020

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
CISNE Faculdade de Quixadá
Biblioteca Universitária Rachel de Queiroz

B285e Barroso, Elaine de Sena.

Estudo Retrospectivo da Prevalência de Leishmaniose Visceral Canina na Cidade de Quixadá e Imediações / Elaine de Sena Barroso. – 2020.

39 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (especialização) – CISNE, Faculdade de Quixadá, Faculdade de Medicina, Curso de Medicina Veterinária, Quixadá, 2020.

Orientação: Profa. Dra. Maria Rociene Abrantes.

1. Leishmania. 2. Cão doméstico. 3. Punção de medula. 4. Lutzomyia longipalpis.

I. Título.

ELAINE DE SENA BARROSO

ESTUDO RETROSPECTIVO DA PREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE VICERAL
CANINA NA CIDADE DE QUIXADÁ E IMEDIAÇÕES

Monografia apresentada ao Curso de Medicina
Veterinária da CISNE - Faculdade de Quixadá,
como requisito parcial para obtenção do título
de Bacharel em Medicina Veterinária.

Aprovada em: 04 / 07 / 2020 .

BANCA EXAMINADORA

Maria Rociene Abrantes

Prof.^a. Dra. Maria Rociene Abrantes
CISNE – Faculdade de Quixadá

Maurício Francisco Vieira Neto

Prof. Me. Maurício Francisco Vieira Neto
UFC

Francisco das Chagas R. Nunes

Esp. Francisco das Chagas Rodrigues Nunes
Médico Veterinário

DEDICATÓRIA

A todos os cães positivos desse trabalho, aos que não conseguiram vencer a doença, a todos os que lutam diariamente para conviver com a leishmaniose e as famílias que não desistiram de seus cães.

AGRADECIMENTOS

À minha família que sempre me apoiou e ajudou em todos os passos dessa jornada, em especial os meus pais que sempre foram minha razão para não desistir.

À minha vó que não está mais aqui comigo, mais que vai ficar orgulhosa de mim no céu.

Aos meus pets e todos que passaram por minha vida e me fizeram seguir esse caminho.

À minha orientadora e coorientadores que foram essenciais na construção do projeto e execução desse trabalho.

A todos que contribuíram de alguma forma para a realização desse trabalho.

A todos os professores por toda a paciência e por todo conhecimento que me foi passado durante todo esse caminho.

Aos amigos de turma que enfrentaram comigo todas as dificuldades, altos e baixos, com quem dividi meus medos e alegrias.

Aos amigos que a vida me deu e que me deram apoio nos momentos em que precisei.

À Clínica Veterinária Colosso pela oportunidade.

“Tente
E não diga que a vitória está perdida
Se é de batalhas que se vive a vida
Tente outra vez.”

Raul Seixas

RESUMO

As leishmanioses são enfermidades causadas por parasitas protozoários do gênero *Leishmania*, se dividem em três síndromes nomeadas de leishmaniose visceral, cutânea e mucosa. No Brasil a leishmaniose visceral canina (LVC) é causada pela *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* transmitida pelo vetor *Lutzomyia longipalpis*, e tem o cão doméstico como principal reservatório no ambiente urbano. O diagnóstico da LVC pode ser feito de três formas: clínico, parasitológico e imunológico, porém, se faz necessário o uso testes laboratoriais específicos para confirmação. O diagnóstico parasitológico é um método de certeza se baseando na demonstração direta do parasita, a técnica de pesquisa por punção de medula óssea é uma forma de diagnóstico rápido e eficaz. Objetivou-se, com o presente estudo retrospectivo, levantar dados sobre a prevalência dos casos de LVC na cidade de Quixadá-CE e imediações. Para isso foram avaliados exames parasitológicos de pesquisa direta por punção de medula óssea, através da análise de exames de cães provenientes de clínicas particulares, que foram separados em grupos por sexo, faixa etária, tipo de pelagem, raça e carga parasitária. Na estatística descritiva, os resultados foram apresentados como média +- desvio padrão para as variáveis quantitativas ou mediana +- desvio padrão para as variáveis qualitativas. Na estatística analítica o coeficiente de correlação de postos de Spearman foi usado para correlacionar a relação entre as cruces do teste parasitológico e os fatores individuais dos animais. Dos 42 animais analisados, 17 animais foram negativos (40,48%) e 25 animais positivos (59,52%). Dentre os positivos, observou-se que no subgrupo sexo foram 14 animais (56%) fêmeas e 11 animais (44%) machos; quanto ao subgrupo de acordo com a idade: foram 3 filhotes (12%) e 22 adultos (88%); já no subgrupo de acordo com o tipo de pelagem: foram 14 animais de pelo curto (56%) e 11 animais de pelo longo (44%); e em relação ao subgrupo de acordo com o padrão racial: 20 animais (80%) com raça definida e 5 animais (20%) SRD. A distribuição dos casos positivos, alcançou 12 bairros da cidade de Quixadá e 4 cidades vizinhas. Obteve-se que não há evidenciada correlação positiva ou negativa estatisticamente significativa entre a gravidade da doença avaliada pela quantidade de cruces e o animal ser do sexo feminino ($r = 0,211$ e $p = 0,155$), ser adulto ($r = -0,009$ e $p = 0,482$), ter pelo longo ($r = 0,049$ e $p = 0,406$) ou ter um padrão racial definido ($r = 0,015$ e $p = 0,470$). Assim, a técnica de pesquisa direta através da punção de medula óssea utilizada para a confirmação dos casos de leishmaniose se mostrou eficaz mostrando uma maior uma prevalência em animais fêmeas, adultos, pelo curto e com raça definida.

Palavras-chave: *Leishmania*. *Lutzomyia longipalpis*. Cão doméstico. Punção de medula.

ABSTRACT

Leishmaniasis is a disease caused by protozoan parasites of the *Leishmania* type, they are divided into three syndromes named visceral, cutaneous and mucous leishmaniasis. In Brazil, canine visceral leishmaniasis (CVL) is caused by *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* transmitted by the sand fly *Lutzomyia longipalpis*, and it uses the domestic dog as the main reservoir in the urban environment. The diagnosis of CVL can be made in three ways: clinical, parasitological and immunological, however, it is necessary to use specific laboratory tests for confirmation. Parasitological diagnosis is a safety method based on the direct demonstration of the parasite, the research technique by bone marrow puncture is a quick and effective diagnosis. The objective of this retrospective study was to gather data on the prevalence of cases of CVL in the city of Quixadá-CE and its surroundings. For that, parasitological exams of direct research by bone marrow puncture were evaluated, through the analysis of exams of dogs from private clinics, which were separated into groups by sex, age group, coat type, breed and parasitic load. In descriptive statistics, the results were presented as mean + - standard deviation for quantitative variables or median + - standard deviation for qualitative variables. In analytical statistics, the Spearman rank correlation coefficient was used to correlate the relationship between the parasitological test crosses and the individual factors of the animals. Of the 42 animals analyzed, 17 animals were negative (40.48%) and 25 animals were positive (59.52%). Among the positives, it was observed that in the sex subgroup there were 14 animals (56%) females and 11 animals (44%) males; regarding the subgroup according to age: there were 3 puppies (12%) and 22 adults (88%); in the subgroup according to the type of coat: there were 14 animals with short hair (56%) and 11 animals with long hair (44%); in relation to the subgroup according to the racial pattern: 20 animals (80%) with defined breed and 5 animals (20%) SRD. The distribution of positive cases reached 12 neighborhoods in the city of Quixadá and 4 cities nearby. Based on data collection, there is no statistically relevant positive or negative correlated evidence between the severity of the disease assessed by the amount of cross-fertilization and if the animal is female ($r = 0.211$ and $p = 0.155$), it is adult ($r = -0.009$ and $p = 0.482$), has long hair ($r = 0.049$ and $p = 0.406$) or it has a defined racial pattern ($r = 0.015$ and $p = 0.470$). Therefore, the technique of direct research through bone marrow puncture used to confirm cases of leishmaniasis was effective and still showed a prevalence in female, adult, short-haired and defined-breed animals.

Keywords: *Leishmania*. *Lutzomyia longipalpis*. Domestic dog. Marrow puncture.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A. Forma flagelada ou promastigota. B. Forma aflagelada ou amastigota.....	18
Figura 2: Ciclo de Vida da leishmaniose.....	20
Figura 3: Formas amastigotas de amostra de linfonodo.....	24

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Percentual de animais positivos e negativos para leishmaniose visceral canina.....	29
Gráfico 2 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com o sexo.....	30
Gráfico 3 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com a idade.....	30
Gráfico 4 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com a pelagem.....	31
Gráfico 5 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com o padrão racial.....	32
Gráfico 6 – Percentual de acordo com os bairros.....	32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Carga parasitária.....	33
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CCZ	Centro de Controle de Zoonoses
CRMV	Conselho Regional de Medicina Veterinária
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, Ensaio Imunoenzimático
IgG	Imunoglobulina G
LACEN	Laboratório Central de Saúde Pública
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MS	Mato Grosso do Sul
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
PCVLV	Programa de Controle e Vigilância da Leishmaniose Visceral
RIFI	Reação de Imunofluorescência Direta
SRD	Sem raça definida
TR DPP	Teste rápido Dual Path Platform

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 Geral	17
2.2 Específicos.....	17
3 REFERENCIAL TEÓRICO	18
3.1 Agente Etiológico.....	18
3.2 Vetor.....	18
3.3 Reservatórios.....	19
3.4 Ciclo Biológico.....	19
3.5 Epidemiologia.....	20
3.6 Sintomatologia.....	21
3.7 Diagnóstico.....	21
3.7.1 Diagnóstico Sorológico.....	22
3.7.2 Diagnóstico Molecular.....	23
3.7.3 Diagnóstico Parasitológico.....	23
3.8 Tratamento.....	24
3.9 Controle e Prevenção.....	25
4 METODOLOGIA.....	27
4.1 Local de estudo e obtenção de dados.....	27
4.2 Estatística.....	27
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	29
6 CONCLUSÃO.....	34
REFERÊNCIAS	35

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses constituem enfermidades causadas por parasitas protozoários, envolvendo mais de 20 espécies do gênero *Leishmania*, a doença se caracteriza por diversas manifestações que geralmente se dividem em de três síndromes distintas nomeadas de leishmaniose visceral, cutânea e mucosa (GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALEKOS, 2015). Mais de uma espécie de *Leishmania* pode circular na mesma área geográfica. No Brasil a leishmaniose visceral (LV) é causada pela *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* (BRASIL, 2014) sendo transmitida pelo vetor *Lutzomyia longipalpis*, tendo o cão doméstico como seu principal reservatório no ambiente urbano (von ZUBEN; DONALÍSIO, 2016).

A LV é considerada um grande problema na saúde pública mundialmente. Na América Latina a doença foi descrita em 11 países, tendo 90% dos casos no Brasil (FIGUEREDO *et al.*, 2017), e 90% desses casos notificados no Nordeste. Era considerada uma zoonose comum principalmente na zona rural, mas tem se expandido desde 1980 para as outras regiões, principalmente por conta dos processos de urbanização e desmatamento (COSTA *et al.*, 2018).

Em cães naturalmente infectados, os sinais clínicos são variáveis e vão depender da sua imunocompetência, entre as alterações que ocorrem com mais frequência estão as dermatológicas, oftalmopatias, lifadenopatia, hepatomegalia, esplenomegalia, emagrecimento, palidez nas mucosas, onicogribose entre outros. Contudo os cães podem permanecer de forma assintomática por bastante tempo (LARSSON; LUCAS, 2016).

O diagnóstico da leishmaniose visceral para os serviços de saúde pública tem se apresentado como um problema, principalmente pelo grande percentual de cães que são assintomáticos ou oligossintomáticos, pelos sinais clínicos que são semelhantes aos apresentados em outras doenças infecciosas, pelas alterações histopatológicas que são inespecíficas e por não existir um diagnóstico com 100% de especificidade e sensibilidade (BRASIL, 2006).

Ele pode ser feito de três formas: clínico, parasitológico e imunológico, porém, se faz necessário o uso testes laboratoriais específicos para confirmação. O diagnóstico parasitológico é um método de certeza se baseando na demonstração direta do parasita obtida por punções de baço, fígado, linfonodo e medula óssea, sendo o último um sítio seguro de coleta quando comparado a outros (BRASIL, 2006; GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALEKOS, 2015).

Casos de leishmaniose visceral canina (LVC) tem se tornado cada dia mais frequentes na rotina das clínicas de cidades do interior do sertão central, apresentando grande dificuldade na confirmação do diagnóstico devido a forma utilizada ser o uso do Dual Path Platform (TR

– DPP®) como triagem e exames sorológicos como confirmatório, sendo o último terceirizado, o que leva a demora para se receber os resultados e tendo a possibilidade de se obter um resultado inconclusivo.

Diante da urgência em diagnosticar os casos precocemente, o exame parasitológico através de pesquisa direta por punção de medula óssea se mostra uma forma de diagnóstico segura (BRASIL, 2014), sendo uma excelente alternativa para cidades que não apresentam laboratórios estruturados para demais exames. Nesse contexto o trabalho mostrará a prevalência dos casos de LVC diagnosticados pelo exame parasitológico de pesquisa direta por punção de medula.

2. OBJETIVOS

2.1 Geral

Realizar um levantamento de dados acerca da prevalência de casos de leishmaniose visceral canina diagnosticados na cidade Quixadá e cidades vizinhas do Sertão central.

2.2 Específicos

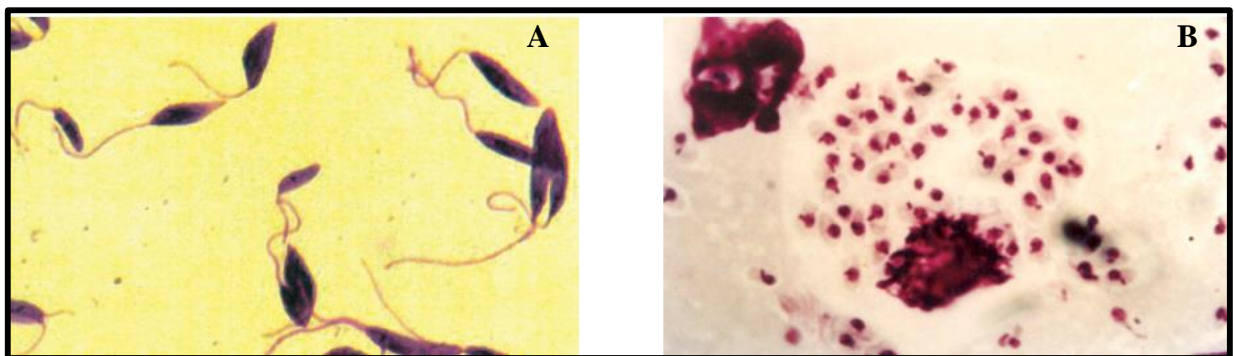
- ✓ Demonstrar a eficiência da utilização da técnica de pesquisa direta por punção de medula;
- ✓ Avaliar a prevalência dos casos de leishmaniose visceral canina de acordo com o sexo, faixa etária, tipos de pelagem e padrão racial;
- ✓ Avaliar a prevalência de leishmaniose visceral canina de acordo com a carga parasitária.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Agente Etiológico

A leishmaniose visceral canina tem por agente etiológico um protozoário tripanossomídeo que pertence ao gênero *Leishmania*, um parasita intracelular obrigatório do sistema fagocítico mononuclear. No tubo digestivo do vetor se encontra a forma flagelada ou promastigota, (Figura 1B) e nos tecidos dos vertebrados a forma aflagelada ou amastigota (Figura 1A) (BRASIL, 2014). A *Leishmania infantum chagasi* é considerada no Brasil o principal agente da leishmaniose visceral canina (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2011).

Figura 1: A. Forma flagelada ou promastigota. B. Forma aflagelada ou amastigota.



Fonte: BRASIL, 2014.

3.2 Vetor

O vetor transmissor das espécies de *Leishmania* que já foram descritas são dípteros fêmeas hematófagas que pertence à família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*, gênero *Lutzomyia*. Já foram descritas cerca de 900 espécies de flebotomíneos no mundo. O vetor pode variar dependendo da espécie de *Leishmania* e da região geográfica (MONTALVO, 2012).

No Brasil são duas as espécies que transmite a doença: *Lutzomyia longipalpis*, sendo essa a principal, e *Lutzomyia cruzi* em áreas específicas do Mato Grosso e Mato Grosso do Sul. Eles também são conhecidos popularmente por nomes como birigui, mosquito palha, taturica entre outros de acordo com a região (BRASIL, 2016). Embora não se saiba se ele pode ser um transmissor da doença, o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* também pode albergar o protozoário (DANTAS-TORRES; LATROFA; OTRANTO, 2011).

3.3 Reservatório

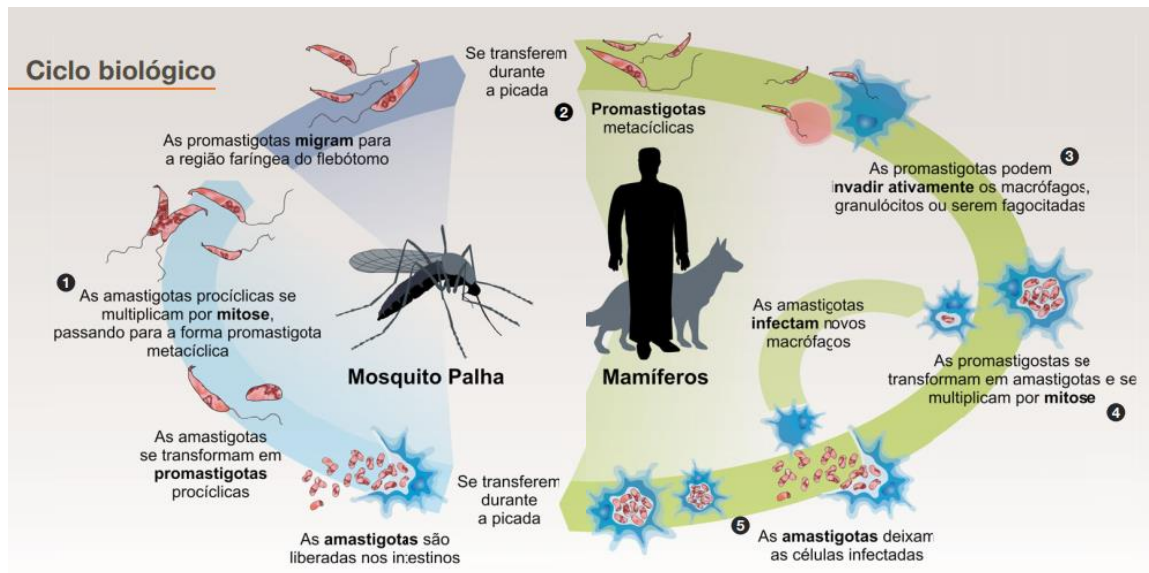
O cão doméstico (*Canis familiaris*) no meio urbano é considerado o principal reservatório do protozoário causador da leishmaniose, devido a sua proximidade com o homem (MENDONÇA *et al.*, 2015). Vides e Lima (2011) descreveram que no meio silvestre marsupiais como o *Didelphis albiventris*, canídeos silvestres como o *Cerdocyon thous* e roedores como o *Cercomys cunicularis* são encontrados naturalmente infectados no Brasil.

Felinos podem ser infectados com a *Leishmania sp.* e desenvolver os sinais clínicos da doença (SOBRINHO *et al.*, 2012). Pesquisas recentes apontam os gatos como possível fonte de infecção, podendo ser considerados como reservatório doméstico adicional e hospedeiros secundários (DA SILVA, 2010; NEMATI, 2015).

3.4 Ciclo Biológico

O ciclo biológico (Figura 2) da Leishmaniose se inicia quando o vetor flebotomíneo faz o repasto sanguíneo em um hospedeiro infectado vertebrado e ingere macrófagos parasitados por formas amastigotas, que se dividem no trato digestivo. Os macrófagos se rompem e liberam as formas amastigotas que se multiplicam e se diferenciam em promastigotas e depois em paramastigota que colonizam esôfago e faringe do vetor, estas se diferenciam na forma infectante promastigotas metacíclicas. Quando o vetor infectado inocula a forma infectante em um novo hospedeiro vertebrado se inicia um novo ciclo de transmissão, onde essas formas vão ser fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário e no interior dos macrófagos se diferenciar em amastigotas, se multiplicam rompendo os macrófagos e liberando as formas que serão novamente fagocitadas em um processo contínuo (MAIA *et al.*, 2009; SOLCÀ *et al.*, 2012).

Figura 2: Ciclo de Vida da leishmaniose.



Fonte: Sociedade Mundial de Proteção Animal, 2011.

3.5 Epidemiologia

A leishmaniose é considerada uma das sete doenças com prioridade de atuação que fazem parte das doenças negligenciadas (BRASIL, 2010). Ela está entre as cinco doenças endêmicas e infectoparasitárias com maior relevância e é considerada uma zoonose endêmica em 98 países e 5 continentes, estando presente em regiões do sul da Europa, América do Sul, América central e Ásia, sendo relatada também nos Estados Unidos da América. Anualmente ocorrem cerca de 200 a 400 mil casos de leishmaniose visceral, 90% desses casos ocorrem no Brasil, Bangladesh, Índia, Etiópia, Sudão e Sudão do Sul (HARHAY *et al.*, 2011; ALVAR *et al.*, 2012).

No Brasil, na década de 80, a doença se expandiu e deixou de ter caráter rural passando a ter caráter urbano, antes era restrita a região nordeste, mais disseminou se pelas outras regiões causando aumento da incidência (MARCONDES; ROSSI, 2013). A LV atinge 21 unidades federais e as cinco regiões, sendo uma enfermidade em rápida expansão geográfica (ROMERO; BOELAERT, 2010). Cerca de 96% dos casos de leishmaniose visceral humana das américas são relatados no Brasil e vem se destacando o aumento nas mortes desde 2012, alcançando em 2016 a taxa de letalidade de 7,9%, sendo considerada a maior em comparação aos demais continentes (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE, 2018).

Os padrões epidemiológicos e o avanço crescente da leishmaniose para as outras regiões do Brasil se dão pelas modificações sócio ambientais principalmente o desmatamento e o

processo de migração que trouxe populações humanas e caninas de áreas rurais e endêmicas para a periferia das cidades (WERNECK, 2010).

3.6 Sintomatologia

A leishmaniose visceral canina é uma doença de caráter sistêmico e grave, sua sintomatologia depende da resposta imune do animal acometido. É classificada de acordo com os sinais clínicos apresentados, dividindo-se em: assintomáticos, nos quais se tem ausência dos sinais clínicos; oligossintomáticos, que apresentam poucos sintomas; e sintomáticos, que apresentam todos ou alguns dos sinais comuns a doença (SANTA CATARINA, 2018).

Na forma clássica da doença, os animais podem apresentar lesões cutâneas como eczema e descamação nas orelhas e planos nasais, pelo opaco, pequenas ulcerações localizadas na cauda, focinho, orelhas e articulações; em fases mais avançadas apresentam onicogribose, linfadenopatia, esplenomegalia, dermatites, úlceras de pele, alopecia, apatia, ceratoconjuntivite, hemorragia intestinal, vômito, hiperqueratose e edema de patas (BRASIL, 2014).

Os animais sintomáticos também podem apresentar anemia, hepatoesplenomegalia, linfadenomegalia generalizada, epistaxe, perda de peso progressiva, lesões renais, oftálmicas e neurológicas (PALTRINIERE *et al.*, 2010).

3.7 Diagnóstico

O diagnóstico de leishmaniose visceral canino é desafiador e complexo, não existindo testes que sejam 100% específicos e sensíveis (LAURENTI *et al.*, 2014). Ele é feito com a associação dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, tendo a confirmação feita laboratorialmente baseados nos exames parasitológicos e sorológicos (SANTA CATARINA 2018). A estratégia do programa de controle da leishmaniose visceral canina do Ministério da Saúde atualmente é o uso do teste imunocromatográfico, teste rápido (TR DPP®) em associação com o ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) sendo o primeiro usado como triagem e o segundo como confirmatório (PINTO; RIBEIRO; TAFURI, 2016).

3.7.1 Diagnóstico Sorológico

O diagnóstico sorológico utiliza técnicas sorodiagnósticas para detectar anticorpos circulantes anti-*Leishmania*, nos animais acometidos, vai haver desenvolvimento de resposta

imune humoral, com produção de títulos elevados de IgG anti-*Leishmania* (IKEDA-GARCIA; MARCONDES, 2007). Os exames sorológicos devem ser realizados em Laboratórios Centrais Estaduais (LACENs) e Centros de Controle de Zoonoses (CZZs) dos municípios. Periodicamente devem ser realizados o controle de qualidade desses exames realizados. Quando a análise é feita na referência nacional as amostras de soro devem ser pontualmente enviadas ao LACEN (BRASIL, 2014).

O RIFI (Reação de Imunofluorescência Direta) possui fácil execução, baixo custo e rapidez, ele possui uma sensibilidade de 68% a 100% e especificidade de 74% a 100%, por ter um tem sensibilidade considerada baixa podem acontecer reações cruzadas com outras enfermidades (AGUIAR, 2010; SOCIEDADE MUNDIAL DE PROTEÇÃO ANIMAL, 2011). O resultado é considerado reagente a partir da diluição 1:80, sendo que quando se tem uma clínica sugestiva e titulação de 1:40 recomenda se a repetição em 30 dias (BRASIL, 2016a).

O ELISA é um teste imunoenzimático, sua sensibilidade é de 71% a 100% e a especificidade de 85% a 100% dependendo do antígeno. Ele consiste em uma reação dos anticorpos do soro com os antígenos solúveis e purificados da *Leishmania* que são obtidos de culturas *in vitro*, para ser considerado sororreagente o valor de densidade ótica deve ser igual ou superior a três desvios padrões do ponto de corte do controle negativo (SOCIEDADE MUNDIAL DE PROTEÇÃO ANIMAL, 2011; SANTA CATARINA, 2018).

O teste rápido (TR - DPP®) é usado para triagem da Leishmaniose visceral canina, além da rapidez no diagnóstico tem por vantagens o fácil armazenamento, a facilidade de uso e a flexibilidade de amostras biológicas que podem ser usadas como sangue, soro e plasma (COURA-VITAL *et al.*, 2013). Ele é um ensaio imunocromático que emprega de um lado antígenos recombinantes rk28 específicos da *Leishmania* que estão ligados a uma membrana de nitrocelulose, e do outro, proteína A conjugada a partículas de ouro coloidal combinados, os anticorpos anti-*Leishmania* existentes na amostra reagem com os antígenos recombinantes, e se ligarão a combinação proteína A/ouro coloidal obtendo o resultado positivo pela reação da cor (SILVA *et al.*, 2014).

3.7.2 Diagnóstico Molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR) é uma técnica de diagnóstico molecular que permite que se identifique o DNA da *Leishmania*, e o contato prévio do animal com ele, mas

não é capaz de confirmar a presença de parasitas viáveis ou de doença. Pode ser realizado com biópsia da medula óssea, aspirados de linfonodos, *swab* de conjuntivas, pele superficial como a do pavilhão auricular, amostra de sangue sendo a última não indicada pela baixa sensibilidade, dependendo da carga parasitária pode ocorrer falso negativo (SOCIEDADE MUNDIAL DE PROTEÇÃO ANIMAL, 2011).

3.7.3 Diagnóstico Parasitológico

O exame parasitológico é o diagnóstico de certeza, que é realizado pelo encontro do parasito na forma amastigota, em material biológico adquirido de preferência de punções de medula óssea, podendo ser também do linfonodo (Figura 3), fígado, baço, e escarificação ou biópsia da pele sendo que as punções de fígado e baço tem que ser realizado em condições cirúrgicas no ambiente hospitalar. O material aspirado pode ser examinado por exame direto, isolamentos em meio de cultura e isolamento em animais suscetíveis (BRASIL, 2014; BRASIL, 2016a).

No exame direto, pega-se uma lâmina e coloca-se uma gota do material que foi aspirado na sua extremidade, e se dispersa o material na direção contrária. Após a secagem, é feita a fixação em álcool metílico, e ela deve ser corada, pelas colorações de Leishman ou Panótico, Giemsa ou Wright, é recomendado que se faça pelo menos quatro lâminas, podem ser observadas nas lâminas formas amastigotas do parasita e para diagnóstico negativo é necessário que se examine 200 campos (BRASIL, 2006).

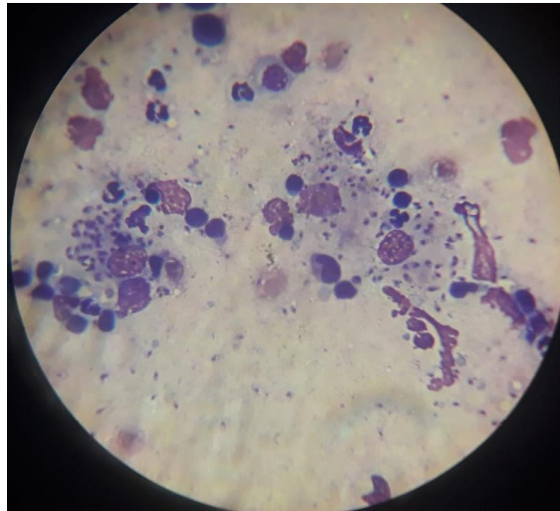
O cultivo é feito com as mesmas amostras, normalmente em meio bifásico, ele facilita a identificação da espécie por método isoenzimático ou molecular em condições de laboratório (REITHINGER, 2007), facilmente se observa as formas promastigotas móveis no meio de cultura na sua fase líquida produto da transformação de amastigotas existentes na amostra, constituem o resultado positivo (BOGGILD, 2007).

O método do diagnóstico parasitológico tem especificidade de aproximadamente 100%, e a sensibilidade em torno de 80% dependendo do grau de parasitemia, do tipo de material coletado e do tempo até a leitura da lâmina, tendo esse valor em cães sintomáticos e valor menor em assintomáticos (BRASIL, 2016b).

Por ser altamente específico e pelo fato do tecido medular apresenta características comportamentais mediante a infecção pela *Leishmania*, a avaliação de medula é utilizada tanto para o diagnóstico definitivo quanto para o monitoramento da leishmaniose. A medula óssea é

um sítio seguro para coleta oferecendo um risco menor de episódios de hemorragias se comparado com a aspiração esplênica (GEORGIADOU; MAKARITSIS; DALECOS, 2015)

Figura 3– Formas amastigotas de amostra de linfonodo.



Fonte: Arquivo pessoal, 2020.

3.8 Tratamento

Em julho de 2008 foi publicado a Portaria Interministerial nº1.426 do Ministério da Saúde e do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento –MAPA, que proíbe o tratamento da leishmaniose visceral canina com medicamentos de uso humano ou que não sejam registrados pelo MAPA (LARSSON; LUCAS, 2016). Uma nova medicação tendo como princípio a miltefosina, teve registro autorizado na nota técnica conjunta nº001/2016 - MAPA/MS para uso veterinário no tratamento de LVC (ARAÚJO; COSTA; RISSO, 2018).

Miró *et al.* (2009) relata em seus estudos a eficácia clínica e laboratorial da miltefosina, tendo ela atividade parasitária direta que não depende da funcionalidade do sistema imunológico, fácil administração por via oral e possui uma baixa toxicidade. Segundo Larsson e Lucas (2016) o alopuninol tem ação efetiva se associado a outras medicações pela sua ação leishmaniosstática, já a domperidona de acordo com Gómez-Ochoa *et al.* (2009) tem uma ação imunomoduladora eficaz na redução e controle da sintomatologia mesmo não desempenhando ação direta sobre as leishmanias.

Os animais devem ser acompanhados, é indicada a realização de exames para monitoramento do seu estado de saúde após um mês de tratamento, em seguida a cada três a quatro meses, havendo remissão completa da sintomatologia se recomenda que seja realizado a cada seis meses ou uma vez ao ano (ROURA *et al.*, 2013). O tratamento dos cães positivos não se conforma como medida de controle da doença na saúde pública, tratando-se de escolha individual do tutor do animal (SANTA CATARINA, 2018).

3.9 Controle e Prevenção

Para o controle da propagação de leishmaniose adotam-se medidas de controle recomendadas no Programa de Controle e Vigilância da Leishmaniose Visceral (PCVLV) (BRASIL, 2014). Recomenda-se a realização da eutanásia nos cães com diagnóstico positivo de LVC, baseada na Resolução nº1000 de 11 de maio de 2010 do Conselho Federal de Medicina Veterinária, com a realização exclusiva do médico veterinário seguindo a legislação municipal, estadual e federal, e os procedimentos mal-empregados, estarão sujeitos a legislação federal de crimes ambientais (BRASIL, 2016b).

Se a eutanásia não for autorizada pelo tutor, este deverá seguir as recomendações do Ministério da Saúde e ser acompanhado pela Secretaria Municipal de Saúde e CRMV, cumpridos os seguintes requisitos: apresentar o médico veterinário responsável pelo tratamento em até 15 dias; assinar os termos de responsabilidade para recusa da eutanásia e compromisso para tratamento do cão com LV; realizar o tratamento preconizado com medicação autorizada pelo MAPA, realizar exames regulamentados em protocolo específico; apresentar atestado de saúde e manutenção da redução de carga parasitária; utilizar no cão coleiras com Deltametrina 4%; afastar o cão 500 metros da área silvestre; informar caso haja mudança de domicílio (SANTA CATARINA, 2018)

O encoleiramento dos cães com coleiras de Deltametrina 4% e a vacinação de cães é recomendada como medida de controle individual nas áreas com transmissão da doença, não tendo eficácia comprovada como controle na saúde pública (BRASIL, 2016a).

As medidas de controle para o vetor se baseiam no manejo ambiental, em ações que buscam reduzir as condições propícias ao estabelecimento de criadouros, como locais com sombra e presença de matéria orgânica (von ZUBEN; FONALÍSIO, 2016). Para mosquitos adultos se preconiza o uso de piretróide que deve ser borrifado nas residências em todas as extensões das paredes intradomicílio e peridomicílio, o que dificulta essa forma de controle é a descontinuidade dessa ação pela falta dos recursos materiais ou humanos, a recusa da comunidade, a extensão territorial e o maior número de imóveis que devem ser borrifados, o valor e a complexidade (FILHO *et al.*, 2012).

As ações de vigilância epidemiológica incluem alertas epidemiológicos para os serviços de saúde e serviços veterinários particulares após confirmação de casos humanos ou caninos, aprimoramento dos serviços de saúde para casos com clínica compatível na área, capacitar os

agentes comunitários da saúde para informar a população sobre a leishmaniose visceral (SANTA CATARINA, 2018).

Atividades de educação em saúde também são uma forma de controle e prevenção. Estas incluem a divulgação da ocorrência da LV na região a população, capacitação de equipes com conhecimentos técnicos sobre a prática profissional relacionada a doença e doentes, adotar medidas preventivas levando em consideração o conhecimento da doença, práticas e atitudes da população de acordo com a condição de vida e de trabalho dessas pessoas, incorporar atividades de educação em saúde voltadas para a leishmaniose nas comunidades e em processos de educação continuada (BRASIL, 2014).

4 METODOLOGIA

4.1 Local de estudo e obtenção de dados

Para este trabalho foram utilizados laudos de exames parasitológicos de pesquisa direta por punção de medula óssea para pesquisa de *Leishmania sp* provenientes de cães da cidade de Quixadá-CE e cidades vizinhas: Banabuiú, Quixeramobim e Solonópole, que foram atendidos em clínicas particulares localizadas em Quixadá, totalizando 42 laudos.

Os exames foram realizados através da colheita de material obtido por punção aspirativa com agulha fina, foram coletados da crista ilíaca, região epifisária proximal do úmero ou extremidade proximal do fêmur para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania sp.*, de cada animal foram confeccionadas 3 lâminas e coradas com corante Panótico rápido, a análise parasitológica foi feita com a observação das lâminas em microscópio de luz nas objetivas de 4, 10, 40x e na confirmação a objetiva de 100x à imersão, de acordo com a quantidade de formas amastigotas típicas encontradas foi feita a quantificação da carga parasitária, classificando com número de cruces (+) variando no resultado positivo de 1 a 5.

Foram admitidos no trabalho, para composição do n amostral, todos os animais que se encaixaram nos critérios de inclusão e que foram atendidos de março de 2019 a março de 2020. De acordo com os resultados dos exames e o que foi observado nos laudos os animais foram divididos em dois grupos: animais positivos e animais negativos para leishmaniose. O grupo de positivos foi subdividido de acordo com:

- Sexo: machos e fêmeas;
- Faixa etária: sendo dividido em filhotes até um ano de idade e adultos com mais de um ano de idade;
- Tipo de pelagem: sendo dividido em pelo curto e pelo longo;
- Padrão racial: sendo dividido em sem raça definida (SRD) e com raça definida;

- Carga parasitária (cruzes +), de 1 a 5).

4.2 Estatística

Na estatística descritiva, os resultados foram apresentados como média +- desvio padrão (DP) para as variáveis quantitativas ou mediana +- desvio padrão (DP) para as variáveis qualitativas.

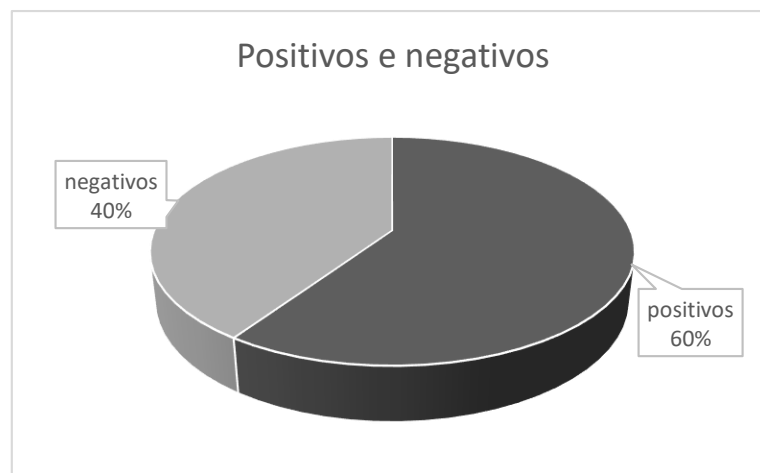
Na estatística analítica foram considerados estatisticamente significantes aqueles que apresentaram $p < 0,05$, o coeficiente de correlação de postos de Speaman foi usado para correlacionar a relação entre as cruzes (+) do teste parasitológico (1 a 5) e os fatores individuais dos animais (sexo, idade, pelagem e raça). Existem duas situações em cada subgrupo, ou se é fêmea ou macho, adulto ou filhote, tem pelo curto ou longo, tem raça ou não, diante disso foi escolhida uma delas para avaliar a correlação com a progressão da doença (a outra deu a resposta inversa, com o sinal negativo ou positivo).

Todos os dados foram organizados em um banco de dados no programa de software Excel 2016 (Microsoft, EUA) que foi utilizado para a análise estatística e elaboração dos gráficos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais dos grupos de positivos e negativos ficaram divididos como apresentado no Gráfico 1. Animais negativos totalizando 17 animais com 40,48% do número total e animais positivos num total de 25 ficando com os 59,52% restantes.

Gráfico 1 – Percentual de animais positivos e negativos para leishmaniose.

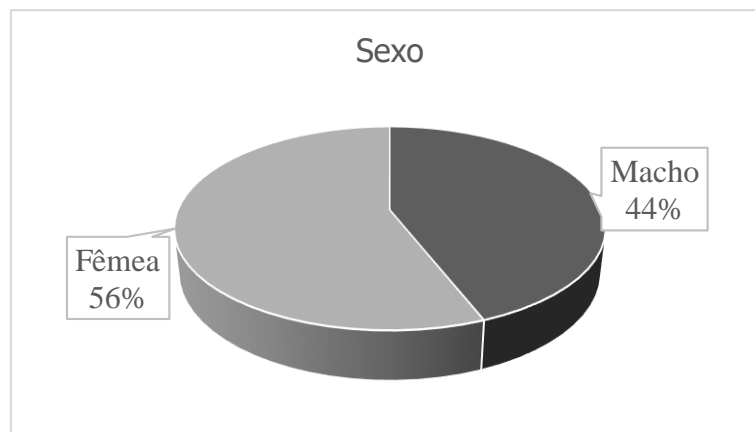


Fonte: Elaborada pelo autor.

Dentro dos positivos o subgrupo de acordo com o sexo mostrou fêmeas totalizando 14 animais com um percentual de 56% e machos 11 animais com o percentual de 44% (Gráfico 2) semelhante ao que Villegas (2015), obteve em seu trabalho mostrando um percentual maior em fêmeas do que em machos. Em contrapartida Chagas (2017), mostra em seu trabalho que machos tiveram 17% mais de chances de se contaminar do que fêmeas, porém o mesmo considerou que o sexo é fator de risco não causal para LVC, pois em outros estudos ser fêmea ou macho não interferiu nas chances de infecção e sim a predileção da população local em criar mais machos ou fêmeas.

Não existe nenhuma predisposição relacionada a sexo para a ocorrência da leishmaniose, podendo ambos os sexos serem acometidos (SILVA; FALAVIGNA; MORALES, 2010). Machos e fêmeas estão expostos igualmente ao risco de infecção por *Leishmania* sp. (FIGUEREDO *et al.*, 2014).

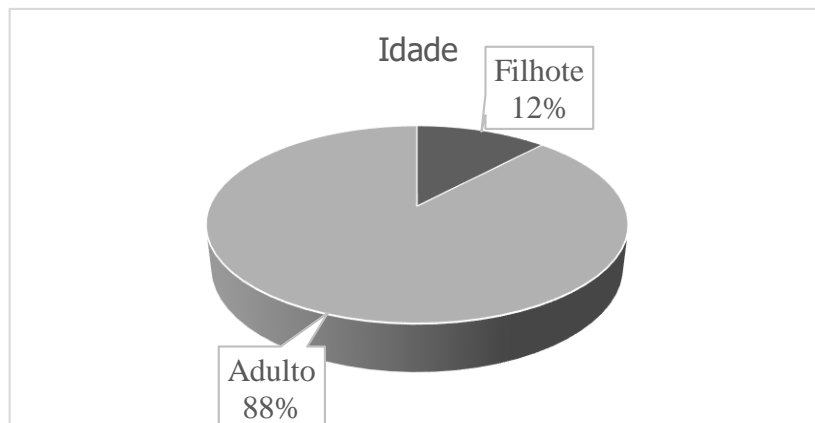
Gráfico 2 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com o sexo.



Fonte: Elaborada pelo autor.

No subgrupo de acordo com a idade: foram 3 filhotes, 12% do total e 22 adultos com 88% (Gráfico 3). Resultado que concorda com os encontrados por Almeida, Mendonça e Souza (2010) que consideram que os animais adultos estão mais expostos a infecção, em contrapartida Dantas-Torres *et al.* (2006) mostraram positividade estatisticamente significativa em cães jovens, que pode estar associada imaturidade imunológica, o que os torna vulneráveis a contrair a infecção podendo levar a evolução da doença, já Santos (2010) relata que quando o fator analisado é a idade não há uma predisposição. A idade é fator de risco não causal, apesar dos cães adultos estarem na faixa etária mais imunocompetente e aumentarem suas chances de infecção por um maior tempo de exposição ao repasto sanguíneo do flebotômico (CHAGAS, 2017).

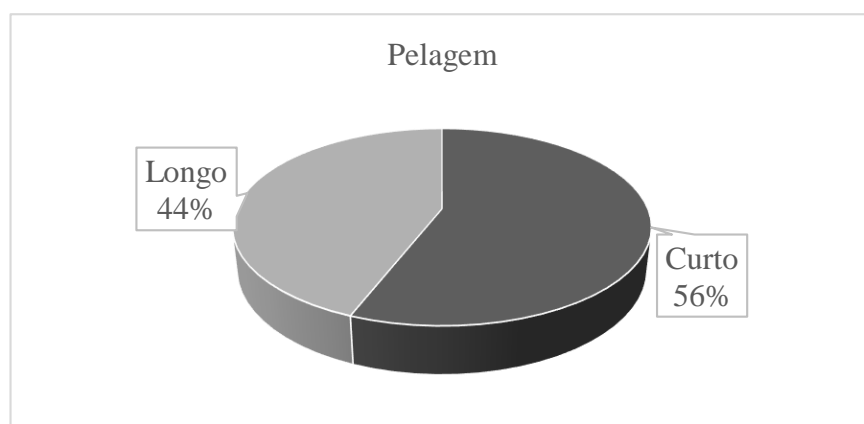
Gráfico 3 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com a idade.



Fonte: Elaborada pelo autor.

No subgrupo de acordo com o tipo de pelagem: foram 14 animais de pelo curto, 56% do total e 11 animais de pelo longo, 44% do total (Gráfico 4). Franke (2013) obteve em seu trabalho resultado semelhante obtendo um maior percentual de animais de pelo curto positivo o que corrobora com Gonçalves (2014) que observou que cães de pelo curto tem maior risco de se infectar do que animais de pelo médio e longo. O fato de um animal pelo curto ser mais infectado do que o pelo longo pode ser explicado pela maior facilidade que o mosquito tem de atingir a pele de um pelo curto (COURA-VITAL, 2011).

Gráfico 4 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com a pelagem.



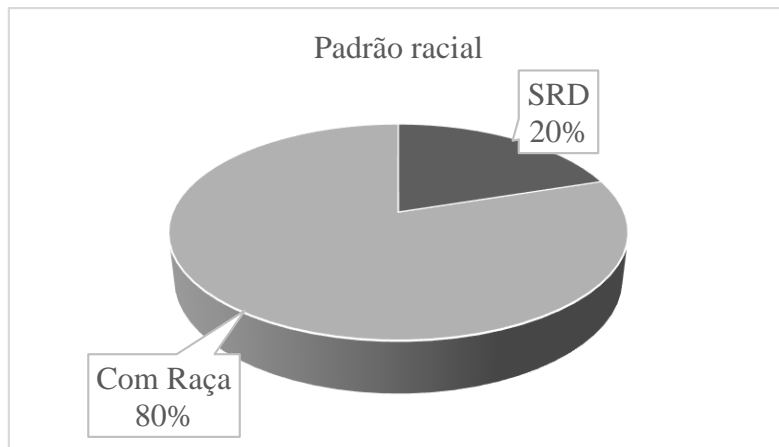
Fonte: Elaborada pelo autor.

No subgrupo de acordo com o padrão racial: com raça definida com 20 animais e SRD com 5 animais, 80% e 20% do total respectivamente (Gráfico 5). Silva *et al.* (2010) analisaram este mesmo fator e não observaram significância estatística quanto a soropositividade. Os resultados do fator raça estão diretamente ligados a quantidade de animais com e sem raça definida utilizados para os trabalhos. Almeida *et al.* (2012),

relatam não haver predisposição quanto a fatores como raça, sexo ou idade que se tenham relação direta com a infecção de cães por leishmaniose.

Algumas raças como ibizan hound, podengo canário e pharaoh hound que não são comumente encontradas no Brasil possuem uma resposta a infecção predominantemente do tipo celular, como consequência tem uma resistência natural, já outras raças como rottweiler, pastor alemão e cocker spaniel parecem ter uma maior suscetibilidade, no fator idade vão apresentar maior predisposição a doença cães com até 2 anos ou mais de 8 ano, quanto ao sexo alguns estudos mostram uma maior predisposição em animais machos (JERICÒ, 2015)

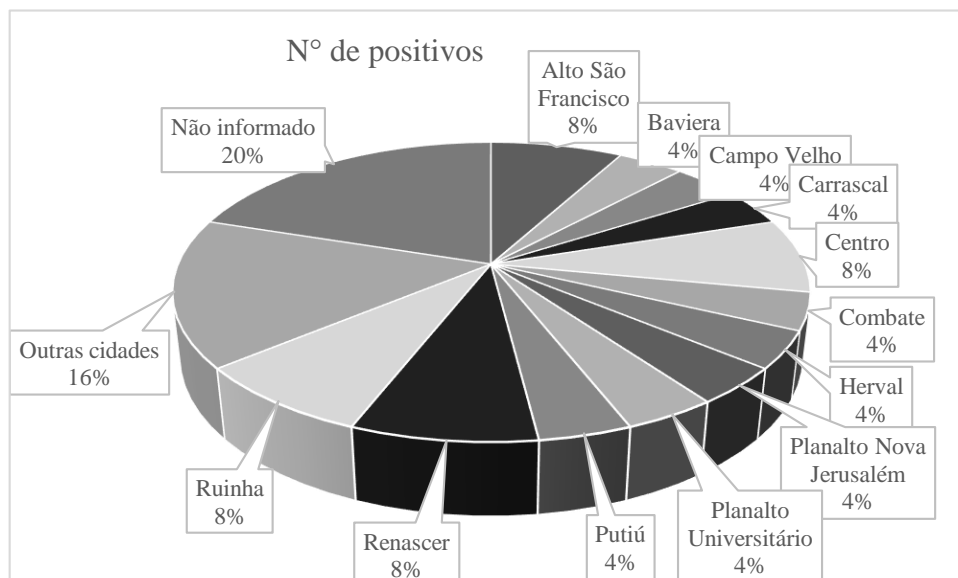
Gráfico 5 – Percentual do subgrupo dividido de acordo com o padrão racial.



Fonte: Elaborada pelo autor.

O gráfico 6 mostra a distribuição dos casos positivos, que alcançam 12 bairros da cidade de Quixadá e 3 em cidades vizinhas.

Gráfico 6 – Percentual de acordo com os bairros em Quixadá.



Fonte: Elaborada pelo autor.

Obteve-se que não foi evidenciada correlação positiva ou negativa estatisticamente significativa entre a gravidade da doença (maior carga parasitária) avaliada pela quantidade de cruzes (Tabela 1) e o animal ser do sexo feminino ($r = 0,211$ e $p = 0,155$), ser adulto ($r = -0,009$ e $p = 0,482$), ter pelo longo ($r = 0,049$ e $p = 0,406$) ou ter um padrão racial definido ($r = 0,015$ e $p = 0,470$).

Tabela 1 – Carga parasitária.

CARGA	+	++	+++	++++	+++++	TOTAL
PARASITÁRIA	3	5	15	-	2	25

Fonte: Elaborada pelo autor.

Souza (2012) relacionou a carga parasitária a sintomatologia, verificando que é mais provável encontrar uma maior carga parasitária com maior número de cruzes em animais sintomáticos e oligossintomáticos, quando comparados aos animais assintomáticos que em sua maioria vão apresentar uma carga parasitária menor, no entanto isso não foi evidenciado nesse trabalho por não ser objetivo do mesmo.

6 CONCLUSÃO

A técnica de pesquisa direta através da punção de medula óssea utilizada para a confirmação dos casos de leishmaniose se mostrou eficaz, garantindo um diagnóstico seguro e rápido quando comparado a outras técnicas. Se teve uma maior prevalência em animais fêmeas, adultos, pelo curto e com raça definida sendo que não há predisposição comprovada relacionando os fatores sexo, raça e idade e uma maior chance de infecção e desenvolvimento da doença; no fator pelagem os animais de pelo curto se mostram mais propensos que animais de pelagem média a grande devido a uma maior facilidade do flebótomo de realizar o repasto nos animais pelo curto.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D. M. *et al.* Seroprevalence of antiLeishmania spp. antibodies in rural dogs from the city of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.19, n.1, p.73-74, 2010.
- ALMEIDA, A. B. P. F.; MENDONÇA, A. J.; SOUZA, V. R. F. Prevalência e epidemiologia da leishmaniose visceral em cães e humanos, na cidade de Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Ciência Rural**, v.40, p.1610-1615, 2010.
- ALMEIDA, A. B. P. F. *et al.* Leishmaniose visceral canina: soro prevalência e fatores de risco em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.21, n.4, 2012.
- ALVAR, J. *et al.* Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, Public Library of Science.v.7, n.5, maio de 2012.
- ALVARENGA, D. G. *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.
- ARAÚJO, C. M. C.; COSTA, A. S.; RISSO, J. M. R. Uso da Miltefosina como terapia combinada em leishmaniose visceral canina – relato de caso. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.15, n.27, p.106, 2018.
- BOGGILD, A. K. *et al.* Evaluation of a microculture method for isolation of *Leishmania* parasites from cutaneous lesions of patients in Peru. **Journal of Clinical Microbiology**, v.7, p.3680-3684, 2007.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1ª edição, 3ª reimpressão, Série A, Normas e Manuais Técnicos. Brasília, 2006.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas: estratégias do Ministério da Saúde. **Revista de Saúde Pública**, V.44, n.1, p.200-202, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. 1ª edição, 5ª reimpressão, Brasília, 2014.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância em saúde**, volume único. 1ª edição atualizada, Brasília-DF, 2016a.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de Vigilância, Prevenção e Controle de Zoonoses: Normas Técnicas e Operacionais**, 1ª edição, Brasília-DF, 2016b.
- CHAGAS, R. L. A. **Leishmaniose visceral canina: Perfil epidemiológico do distrito federal, 2013 a 2017**. Trabalho de conclusão de curso, Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

COSTA, D. N. C. C. *et al.* Leishmaniose visceral em humanos e relação com medidas de controle vetorial e canino. **Revista de Saúde Pública**, v.52, n.92, 2018.

COURA-VITAL, W. **Estudo epidemiológico prospectivo em cães assintomáticos infectados por Leishmania (Leishmania) infantum e identificação de biomarcadores de infecção**, Tese (Doutorado em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011.

COURA-VITAL, W. *et al.* Evaluation of change in canine diagnosis protocol adopted by the visceral leishmaniasis control program in Brazil and a new proposal for diagnosis. **PLoS ONE**, v.9, n.3, 2013.

DANTAS-TORRES, F.; LATROFA, S. M.; OTRANTO, D. Quantification of Leishmania infantum DNA in females, eggs and larvae of Rhipicephalus sanguineus. **Parasites & Vectors**, v.4, n.56, 2011.

DA SILVA, S. M. *et al.* First report of infection of Lutzomyia longipalpis by Leishmania (Leishmania) infantum from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.174, n.1-2, p.150-4, 2010.

FIGUEIREDO, M. J. F. M. *et al.* Fatores de risco e classificação clínica associados à soropositividade para leishmaniose visceral canina. **Ciência Animal Brasileira**, v.15, p.102-106, 2014.

FIGUEREDO, A. B. F. *et al.* Uso e cobertura do solo e prevalência de leishmaniose visceral canina em Terezina, Piauí, Brasil: uma abordagem utilizando sensoriamento remoto orbital. **Caderno de Saúde Pública**, v.33, n.10, 2017.

FILHO, F. C. S. *et al.* Refusal of spraying of buildings and the occurrence of cases of visceral leishmaniasis in North West region of Belo Horizonte, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.64, p.899-908, 2012.

GEORGIADOU, S.P.; MAKARITSIS, K.P.; DALEKOS, G.N. Leishmaniasis revisited: current aspects on epidemiology, diagnosis and treatment. **Journal of Translational Internal Medicine**, v.3, p.43-50, 2015.

GÓMEZ-OCHOA, P. *et al.* Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: A clinical trial. **Veterinary Journal**, v.179, n.2, p. 259-263, 2009.

GONÇALVEZ, M. B. **Prevalência, distribuição e identificação de prováveis fatores de risco para leishmaniose visceral canina em Camaçari-BA**, Dissertação (Mestrado em biotecnologia em saúde), Fundação Oswaldo Cruz, Centro de pesquisa Gonçalo Monis, Salvador, 2014.

HARHAY, M. O. *et al.* Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. **Trends in Parasitology**, v.27, n.9, 2011.

IKEDA-GARCIA, F.A.; MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, ano 12, n.71, p.34-42, São Paulo, 2007.

JERICO, M. M.; NETO, J. P. A.; KOGIKA, M. M. Tratado de medicina interna de cães e gatos, 1ª Edição, Rio de Janeiro, Roca, 2015.

LARSSON, C. E.; LUCAS, R. Tratado de Medicina Externa: Dermatologia Veterinária. Edição: 1º, ISBN: 8589450104, ISBN13: 9788589450102. Interbook, p. 313-344. São Caetano do Sul, 2016.

LAURENTI, M. D. *et al.* Comparative evaluation of the DPP® CVL rapid test for canine serodiagnosis in area of visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.205, n.3-4, p.444-450, 2014.

MAIA, C. *et al.* Diagnosis of canine leishmaniasis: conventional and molecular techniques using different tissues. **The Veterinary Journal**, v.179, n.1, p.142-144, 2009.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, n.5, p.341-522, São Paulo, 2013.

MENDONÇA, I. L. *et al.* Alterações bioquímicas e hematológicas em cães naturalmente infectados por *Leishmania (infantum) chagasi*. **Clínica veterinária**, ano XX, n.116, p.78- 84, 2015.

MIRÓ, G. *et al.* Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. **Veterinary Dermatology**, v.20, n.5-6, p.397-404, 2009.

MONTOALVO, A. M. *et al.* Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección el ADN. **Revista cubana de medicina tropical**, v.64, n.2, p.108-131, 2012.

NEMATI T. *et al.* Study on Leishmania infection in cats from Ahar, East Azerbaijan Province and North West Iran by parasitological, serological and molecular methods. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v.5, n.1, p.40-3, 2015.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Leishmanioses: Informe Epidemiológico nas Américas**. Washington: OPAS/OMS, n.6, 2018.

PALTRINIERI, S. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.36, n.11, p.1184-1191, 2010.

PINTO, A. J. W; RIBEIRO, V. M; TAFURI, W. L. Análise do diagnóstico de leishmaniose visceral canina no Brasil, com ênfase no uso dos métodos sorológicos: teste imunocromatográfico, ELISA e reação de imunofluorescência indireta – revisão de literatura. **Clínica Veterinária**, ano XX, n.123, p.80-86, 2016.

REITHINGER, R. *et al.* Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet, Infectious Diseases**, v.7, edição.9, p.581-596, setembro de 2007.

ROMERO, G. A.; BOELAERT, M. Control of visceral leishmaniasis in latin America - A systematic review. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.4, n.1, 2010.

ROURA, X. *et al.* Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. **Veterinary Journal**, v.198, n.1, p.43–47, 2013.

SANTA CATARINA, Diretoria de Vigilância Epidemiológica da Secretaria de Estado da Saúde. **Guia de Orientação da Vigilância da Leishmaniose Visceral Canina**, p.40, 2018.

SANTOS, J. M. L. *et al.* Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp em cães de Garanhuns, Agreste de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.1, p.41-45, 2010.

SILVA, D. T. *et al.* Comparative evaluation of several methods for Canine Visceral Leishmaniasis diagnosis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.23, n.2, p.179-186, 2014.

SILVA, F. T. S. *et al.* Aspectos clínicos da Leishmaniose Visceral canina no Distrito de Monte Gordo, Camaçari (BA). **Revista Baiana de Saúde Pública**, v.34, n.4, p.783-795, 2010.

SILVA, E. J.; FALAVIGNA, F. C.; MORALES, L. H. A ocorrência de leishmaniose visceral canina no município de espírito santo do pinhal (sp) em 2010. **Revista Intellectus**, Ano IX, n .25, p.115-134, 2010.

SOBRINHO, L. S. V. *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.1-2, p.302-306, 2012.

SOCIEDADE MUNDIAL DE PROTEÇÃO ANIMAL, WSPA. **Leishmaniose Visceral Canina - Um manual para o clínico veterinário**. Rio de Janeiro, 2011.

SOLANO-GALLEGO, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. **Parasit. Vectors**, v.4, p.1-16, 2011.

SOLCÀ, M. D. S. *et al.* Qualitative and quantitative polymerase chain reaction (PCR) for detection of *Leishmania* in spleen samples from naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v.184, n.2-4, p.133-140, 2012.

SOUSA, M. V. C. **Fatores que interferem na sensibilidade do teste parasitológico no diagnóstico de leishmaniose visceral canina**. Dissertação (Mestrado em ciências veterinárias), Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, 2012.

von ZUBEN, A. P. B.; DONALÍSIO, M. R. Dificuldades na execução das diretrizes do Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral em grandes municípios brasileiros. **Caderno de Saúde Pública**, v.32, n.6, Rio de Janeiro, junho de 2016.

VIDES, N. A.; LIMA, G. B. M. Distribuição espacial de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) e *Lutzomyia cruzi* (Mangabeira, 1938) no Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.39, n.4. p.337-340, 2011.

VILLEGAS, T. J. **Fatores de Risco de Leishmaniose Visceral em cães no município de Panorama, estado de São Paulo, SP, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Epidemiologia Veterinária), Universidade de São Paulo, São Paulo, 2015.

WERNECK, L. G. Geographic spread of visceral leishmaniasis in Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v.26, n.4, p.644-645, Rio de Janeiro, abril de 2010.