



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Leishmania* spp. EM
FELINOS DOMÉSTICOS EM ÁREAS ENDÊMICAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

LAÍS KELLY AMÂNCIO RIBEIRO BERENGUER

RECIFE
2019



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIA ANIMAL

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Leishmania* spp. EM
FELINOS DOMÉSTICOS EM ÁREAS ENDÊMICAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

LAÍS KELLY AMÂNCIO RIBEIRO BERENGUER

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como pré-requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

RECIFE
2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

B488i Berenguer, Laís Kelly Amâncio Ribeiro.
 Identificação e caracterização molecular de *Leishmania spp.* em felinos
 domésticos em áreas endêmicas do Estado de Pernambuco / Laís Kelly Amâncio
 Ribeiro. – Recife, 2019.
 58 f.: il.

 Orientador(a): Leucio Câmara Alves.
 Coorientador(a): Jaqueline Bianque de Oliveira.
 Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa
de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Recife, BR-PE, 2019.
 Inclui referências.

 1. Leishmaniose 2. Zoonose 3. Diagnóstico molecular 4. Medicina felina
I. Alves, Leucio Câmara Alves, orient. II. Oliveira, Jaqueline Bianque de, coorient.
III. Título

CDD 636.089



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE MORFOLOGIA E FISIOLOGIA ANIMAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL

**IDENTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE *Leishmania* spp. EM
FELINOS DOMÉSTICOS EM ÁREAS ENDÊMICAS DO ESTADO DE
PERNAMBUCO**

LAÍS KELLY AMÂNCIO RIBEIRO BERENGUER

Aprovada em ____ de fevereiro de 2019.

ORIENTADOR:

Profº Dr. Leucio Câmara Alves
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

EXAMINADORES:

Profª Dra. Edna Michelly de Sá Santos
Departamento de Medicina Veterinária - UFRPE

Profª Dra. Jaqueline Bianque de Oliveira
Departamento de Biologia - UFRPE

Profº Dr. Rafael Antonio do Nascimento Ramos
Unidade Acadêmica de Garanhuns - UFRPE

*A Maristela Amâncio, mãe, pelo
apoio e amor incondicional, com
amor dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador do universo por me permitir viver o melhor desta terra, por me proporcionar grandes experiências e novos aprendizados. Por se revelar a mim em cada detalhe da pesquisa, me permitindo chegar até onde Ele sabe que eu suportaria.

Aos meus pais, minha base, meus heróis, Joselito e Maristela, por terem me orientado a buscar o que desejo, por terem me dado apoio e por me fazerem enxergar que sou o reflexo do que planto.

A minha irmã Priscila Aksa, por ser fonte de inspiração na minha vida, por me mostrar que sempre dá para seguir em frente, ao meu sobrinho Francisco Gabriel que me ajuda a enxergar a pureza das coisas.

Ao meu esposo Williams Berenguer, pelo empenho dedicado a mim, pela paciência, compreensão, pelo amor em fazer o que não gosta só para me ajudar. Por estar presente nos momentos bons e principalmente nos ruins, por sonhar junto comigo.

A todos os meus familiares que sempre acreditaram que eu conseguiria e por terem depositado a mim toda a força que precisei para continuar.

Aos amigos do Laboratório de Doenças Parasitárias - LDP, em especial Janilene Oliveira, Jéssica Bernardi e Caio Felipe, que me ajudaram a superar medos e me auxiliaram de forma proveitosa no direcionamento da pesquisa.

Aos amigos do Laboratório de Parasitologia Veterinária – LAPAR, que mesmo não estando diretamente ligados a pesquisa sempre estiveram prontos para meus pedidos de socorro. A todos os amigos que, direta ou indiretamente, contribuíram para essa fase e torceram por mim.

Agradeço à Prefeitura de Cupira, Lagoa dos Gatos, Caruaru e Pombos que de certa forma nos apoiaram nas coletas, em especial aos amigos de profissão que se empenharam na coleta dos materiais.

A Rita de Cássia, excelente médica veterinária, dedicada em sua profissão, que não hesitou em contribuir de forma especial para a coleta dos materiais biológicos.

Agradeço ao professor Victor Fernando pelo carinho em passar todo o conhecimento que possui, por não hesitar em ajudar nas horas em que precisei, pelas dúvidas tiradas e por ter me permitido pensar não apenas como médica veterinária, mas também como cientista.

Agradeço ao professor Rafael Ramos que, sempre paciente, não se limitou em ajudar, me permitindo solucionar dúvidas e enxergar a pesquisa por outros ângulos.

A professora Edna Michelly, que me direcionou nos momentos em que me senti perdida e me impulsionou com seu exemplo de conquistas. Pelo amor em ensinar seus conhecimentos e experiências profissionais e por ter abraçado o projeto como se fosse seu.

A professora Jaqueline Bianque de Oliveira, exemplo de médica veterinária, professora, parasitologista, amiga, companheira e co-orientadora, se mostrou cada vez mais cativante com o passar dos anos. Pelo suporte, correções, incentivos, por não me deixar desistir, por ouvir meus choros, por me dizer que eu conseguiria e que estaria sempre comigo, por ter me proposto estar nessa pesquisa que sempre foi meu sonho e por acreditar que sou capaz. Serei eternamente grata a ela, por sempre ter acreditado em mim, não apenas como aluna, mas como médica veterinária.

Ao professor Lêucio Câmara Alves, por me proporcionar o conhecimento não apenas racional, mas a manifestação do caráter e afetividade da educação no processo de formação profissional, pelo tanto que tem se dedicado a mim, não somente por me ensinar, mas por me fazer aprender. Por compreender minhas falhas mesmo quando essas falhas não deveriam ter ocorrido, por me permitir pensar como pesquisadora, pelos desafios que me foram permitidos ao longo da pesquisa e por me fazer entender muitas vezes que sempre dará para fazer melhor.

A todos os animais que contribuíram para o meu aprendizado, principalmente pelos tutores que confiaram na pesquisa e permitiram que novos horizontes fossem descobertos. Agradeço a todos que direta ou indiretamente me motivam a não parar de estudar.

*“O gigante não impede o
propósito.”*

Pr. Deive Leonardo

RESUMO

As leishmanioses são zoonoses e atualmente encontram-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo. A leishmaniose em felinos já vem sendo relatada em alguns países, mas ainda existem poucos estudos sobre o assunto em regiões endêmicas para a doença. A região Nordeste do Brasil é considerada como uma região endêmica e não existem estudos que relatem a infecção por *Leishmania* sp. em felinos no estado de Pernambuco. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo identificar e realizar a caracterização molecular de *Leishmania* spp. em felinos domésticos em regiões endêmicas no estado de Pernambuco. Para tanto, foram avaliados 128 animais, nos quais foram coletadas e analisadas 347 amostras biológicas, sendo 256 amostras de swab conjuntival, 91 amostras de sangue e três amostras de linfonodos. As amostras de sangue e swab foram submetidas ao diagnóstico molecular por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) para os primers MC1/MC2 (*Leishmania infantum*) e B1/ B2 (*Leishmania brasiliensis*) e, a partir das amostras de linfonodo poplíteo, foi realizado o diagnóstico parasitológico direto. Da citologia de linfonodo, 33,33% (1/3) foram positivas, onde foram identificadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. Na PCR, todas as amostras de swab conjuntival foram negativas para os primers B1/B2 e MC1/MC2. As amostras de sangue foram negativas para os primers B1/B2 e 1,10% (01/91) foi positiva para os primers MC1/MC2. Após o sequenciamento genético foi constatado que o DNA da amostra era compatível com DNA de *Leishmania infantum*. Desta forma, este estudo é um passo importante na determinação da ocorrência e epidemiologia da infecção de felinos domésticos por *L. Infantum* na região Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: leishmaniose, zoonose, diagnóstico molecular, medicina felina.

ABSTRACT

Leishmaniasis are considered zoonosis and are currently among the six endemics considered to be a priority in the world. Leishmaniasis in felines has been reported in some countries, but there are still few studies on the subject in regions endemic to the disease. Northeast Brazil is considered an endemic region and there are no studies that report visceral leishmaniasis in felines in the state of Pernambuco. Therefore, the present study aimed to investigate the frequency of infection by *Leishmania* spp. in *Felis catus domesticus* in the state of Pernambuco. For this purpose, 128 animals were evaluated, in which 347 biological samples were collected and analyzed, with 256 samples of conjunctival swabs, 91 blood samples and three lymph node samples. Samples of blood and swabs were submitted to Polymerase Chain Reaction (PCR) for primers MC1, MC2 and B1, B2 and, from the popliteal lymph node samples, stretches were made on glass slides. Of the lymph node cytology, 33.33% were positive through parasitological examination, where amastigote forms of *Leishmania* sp. In PCR, all samples of conjunctival swabs were negative and 1.10% of the blood samples were positive for the primers MC1, MC2. Thus, this study is an important step in determining the frequency of infection of domestic felines by *L. infantum* in the Northeast region of Brazil.

Key words: leishmaniasis, zoonosis, molecular diagnosis, feline medicine

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo do agente, destacando ambas as fases do parasito dentro do vetor transmissor e no hospedeiro. Adaptado de Frezard (2016).....	18
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela	1.	Ocorrência de leishmaniose felina no Brasil.....	47
Tabela 2.		Métodos de diagnóstico utilizados no Brasil nos últimos 10 anos.....	52

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Revisão de literatura	15
2.1 Epidemiologia da leishmaniose felina e ciclo de transmissão	15
2.2 Resposta imunológica dos felinos domésticos na leishmaniose	18
2.3 Patogênese e sinais clínicos	19
2.4 Métodos de diagnóstico	21
2.5 Tratamento e profilaxia	23
3. Referências	25
4. Objetivos	32
4.1 Objetivo geral	32
4.2 Objetivos específicos	32
CAPÍTULO I	33
Resumo	34
Abstract	34
Introdução	35
Material e métodos	35
Área estudada	36
Animais	36
Coleta e processamento de amostras biológicas	36
Resultados	37
Discussão	38
Referências	41
CAPÍTULO II	44
Introdução	45
Histórico da leishmaniose felina no Brasil, distribuição geográfica e agentes etiológicos	45
Fatores de risco associados a infecção por <i>Leishmania</i> spp. em felinos	48
Sinais clínicos	49
Métodos de diagnóstico	50
Tratamento e profilaxia	52
Referências	53

1. INTRODUÇÃO

Em mais de 80 países do mundo a leishmaniose é uma zoonose endêmica de grande importância, ocupando o terceiro lugar entre as doenças vetoriais mais importantes em regiões tropicais e subtropicais do Velho e Novo Mundo (OTRANTO, 2013). Estima-se que, aproximadamente, 350 milhões de pessoas no mundo vivem em áreas com risco de transmissão e que 12 milhões de pessoas estão infectadas por alguma das espécies de *Leishmania* (TERREROS & GALVIS, 2009; FLEURI et al., 2011; MARODIN, 2011).

As leishmanioses são doenças que acometem diversas espécies de animais domésticos e silvestres (GUSHI, 2008), sendo consideradas endêmicas na África, na Ásia, no sul da Europa e nas Américas do Sul e Central (TERREROS & GALVIS, 2009; BASTOS, 2015; BANETH, 2013). Há três formas de apresentação clínica das leishmanioses: cutânea (LC), mucocutânea (LMC) e visceral (LV) (OMS, 2016).

Os parasitos do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903) são protozoários intracelulares da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, os quais estão agrupados e classificados em dois subgêneros: o subgênero *Leishmania* e o subgênero *Viannia* (LAINSON & SHAW, 1987). As principais espécies do subgênero *Viannia* estão distribuídas apenas no Novo Mundo e as espécies do subgênero *Leishmania* em várias partes do globo terrestre (LAINSON, 2010).

Estima-se que, a cada ano, ocorram cerca de 900 mil a 1,3 milhões de novos casos de leishmaniose (LC, LMC e/ou LV), com 20 a 30 mil óbitos em todo o mundo (OMS, 2016). Em se tratando da LV, aproximadamente 90% dos casos ocorrem na Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil.

Como resultado da ação antrópica, a urbanização da LV tem apresentado perfis epidemiológicos diferentes, onde os cães (*Canis lupus familiaris*) têm participado do ciclo de transmissão da LV em zonas urbanas no Brasil (TERREROS & GALVIS, 2009; MARODIN, 2011; BANETH, 2013). Sendo assim, com a expansão da LV nas áreas urbanas brasileiras, o envolvimento de outras espécies animais passou a ser motivo de indagação (MARODIN, 2011; CHATZIS et al, 2013) pela participação de outros hospedeiros suscetíveis no ciclo de transmissão (OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2008).

Apesar da possível resistência natural à infecção por *Leishmania* sp., alguns autores chegaram a sugerir que os felinos domésticos poderiam ser vistos como hospedeiro acidental deste agente (SIMÕES-MATTOS et al., 2005). Os sinais clínicos

da leishmaniose felina independem da espécie do parasito envolvido, como também os felinos podem ser assintomáticos perante a infecção por *Leishmania* sp. Relatos de infecção por *L. infantum* nessa espécie animal tem sido descritos em vários países europeus, Ásia e América do Sul, inclusive no Brasil (OLIVEIRA et al., 2015).

Devido à expansão dos casos notificados de leishmaniose em animais no Brasil e tendo em vista a endemicidade da região Nordeste, particularmente o estado de Pernambuco, este estudo tem por objetivo identificar e caracterizar molecularmente *Leishmania* spp. em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em áreas endêmicas no estado de Pernambuco, Brasil.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Epidemiologia da leishmaniose felina e ciclo de transmissão

As leishmanioses são causadas por protozoários intracelulares da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, gênero *Leishmania* (ROSS, 1903), os quais estão agrupados e classificados em dois subgêneros: o subgênero *Leishmania* e o subgênero *Viannia* (LAINSON & SHAW, 1987). As principais espécies do subgênero *Viannia* estão distribuídas apenas no Novo Mundo e as espécies do subgênero *Leishmania* em várias partes do globo terrestre.

A doença pode se apresentar com aspectos clínicos diferentes, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida na infecção. As formas cutânea, mucocutânea e cutânea difusa, denominadas de leishmaniose tegumentar, são causadas por várias espécies. Sendo as mais importantes: *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (V.) guyanensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) shawi*, *L. (V.) naiffi* e *L. (V.) lindenbergi* (LAINSON & SHAW, 1987; BRASIL, 2010). A forma visceral, que afeta órgãos como fígado, baço, linfonodos e intestinos, denominada leishmaniose visceral, tem como agente etiológico, no Brasil, a espécie *L. infantum* (sinonímia *L. chagasi*) (DANTAS-TORRES & BRANDÃO-FILHO, 2006).

O vetor de *Leishmania* spp. pertence ao gênero *Lutzomyia*, subfamília Phlebotominae, que apresenta ampla distribuição no Brasil, em regiões do sul até o norte do país (BRASIL, 2007). A falta de saneamento básico, o acúmulo de lixo e de matéria orgânica proporcionam um ambiente favorável ao ciclo reprodutivo do inseto (PIRAJÁ, 2013). Diferentes espécies de mamíferos são consideradas hospedeiros primários, incluindo o homem e animais de estimação, particularmente canídeos e felídeos (OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2008; COLOMBO, 2012).

Existem relatos de ocorrência de leishmaniose felina em diversos locais no mundo, mas o papel do felino doméstico no ciclo de transmissão ainda não foi esclarecido completamente (LONGONI et al., 2012).

A primeira descrição da doença nessa espécie animal foi em 1912, na Argélia, sendo relatada em um felino doméstico de quatro meses de idade que convivia com um cão e uma criança infectados por *Leishmania*. Apesar do diagnóstico parasitológico ter se baseado na presença de formas amastigotas do parasito em medula óssea, não foi realizada a identificação da espécie (SERGENT et al., 1912).

Somente depois de uma década, foi registrado em 1927 outro caso em felino doméstico na Argentina (BRUMPT, 1949).

A partir daí outros casos de leishmaniose felina foram registrados em diversos países, como Venezuela (BONFANTE & GARRIDO et al., 1991), Brasil (SAVANI et al., 2004), Suíça (RÜFENACHT et al., 2005), em países asiáticos como Vietnã, Iraque, Israel, Palestina (TERREROS & GALVIS, 2009), países da costa mediterrânea (TERREROS & GALVIS, 2009), Estados Unidos (TRAINOR et al., 2010) e México (LONGONI et al., 2012).

Entre os agentes etiológicos envolvidos na infecção felina no mundo, cinco espécies de *Leishmania* já foram descritas, sendo elas *L. infantum* (MOSALLANEJAD et al., 2013; OLIVEIRA et al., 2015; GODOI et al., 2016), *L. amazonensis* (DUARTE et al., 2010), *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004), *L. mexicana* (TRAINOR et al., 2010) e *L. venezuelensis* (BONFANTE-GARRIDO et al., 1991).

O primeiro relato de leishmaniose felina no Brasil foi descrito por CHAGAS et al. (1938), onde foi realizado um estudo epidemiológico das leishmanioses no estado de São Paulo (CHAGAS et al., 1938). Após Savani et al. (2004) registrar um caso de leishmaniose felina em Cotia- SP, área não endêmica para leishmaniose visceral, onde nenhum caso autóctone de leishmaniose humana ou canina havia sido relatado, os estudos sobre felinos domésticos infectados por *Leishmania* sp. no Brasil se intensificaram (COSTA et al., 2010).

No Brasil, os agentes etiológicos envolvidos na infecção de felinos domésticos são *L. infantum* (OLIVEIRA et al., 2015), *L. amazonensis* (DUARTE et al., 2010) e *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004). Portanto, pode-se afirmar que os felinos domésticos estão susceptíveis à infecção pelas mesmas espécies de *Leishmania* encontradas em outras espécies animais na mesma área geográfica (PENNISI et al., 2015).

Até o momento a leishmaniose felina já foi relatada em oito estados brasileiros, sendo eles: São Paulo (CHAGAS et al., 1938; SAVANI et al., 2004; SERRANO et al., 2008; COELHO et al., 2010; COSTA et al., 2010; BENASSI, 2015; ALVES, 2016), Bahia (SHERLOCK, 1996), Rio de Janeiro (SCHUBACH et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 2009), Mato Grosso do Sul (DE SOUZA et al., 2005; DUARTE et al., 2010; NOÉ et al., 2015), Minas Gerais (SILVA et al., 2010), Distrito Federal (MARODIN, 2011), Tocantins (SOUSA, 2017) e Paraíba (ARRUDA et al., 2017).

Em Pernambuco, um estudo com 153 amostras de soro de gatos das cidades de Recife e Petrolina, foram detectados anticorpos IgG anti-*L. infantum* em 3,9% dos animais, sendo todos os animais sororeagentes oriundos de Petrolina, área endêmica com condições favoráveis para o desenvolvimento dos vetores (SILVA et al., 2014).

O ciclo biológico de *Leishmania* spp. no felino doméstico é idêntico ao ciclo canino, onde há a participação do agente etiológico (*Leishmania* spp.), dos vetores (insetos do gênero *Lutzomyia*) e dos hospedeiros (mamíferos) (MARODIN, 2011).

Fêmeas de *Lutzomyia*, naturalmente infectadas com *Leishmania* spp, ao realizarem repasto sanguíneo em um hospedeiro vertebrado, inoculam formas promastigotas metacíclicas juntamente com a saliva (CAMPOS & PONCE, 2005). Na epiderme do hospedeiro, estas formas sobrevivem ao ataque do sistema imunológico e ainda invadem macrófagos através da manipulação de receptores celulares (CAMPOS & PONCE et al., 2005). No interior dos macrófagos diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se até o rompimento dos mesmos, ocorrendo a liberação destas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo (BRASIL, 2014). Uma vez infectado o hospedeiro torna-se reservatório de *Leishmania* (BASTOS et al., 2015).

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas se alimentam do sangue de mamíferos infectados, vindo a ingerir macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania*. O ciclo do parasito no inseto se completa em torno de 72 horas (BRASIL, 2014). (Figura 1).

A transmissão do protozoário para o felino doméstico não difere da transmissão ao cão e ocorre principalmente através da picada dos vetores fêmeas (flebotomos) (SVS, 2004). Outras formas de transmissão em cães têm sido discutidas (COUTINHO et al., 2005; DUBEY et al., 2005; DE FREITAS et al., 2006; SILVA et al., 2009), no entanto outras rotas de transmissão, vertical (durante a gestação, parto ou amamentação) ou horizontal (de um animal para o outro), ainda não foram descritas em felinos domésticos.

Alguns estudos já demonstraram que o felino doméstico é fonte de sangue para os flebotomíneos (MAROLI et al., 2007; DA SILVA et al., 2010), mas ainda existem divergências quanto ao papel dessa espécie no ciclo de transmissão de *Leishmania* spp. Estudos realizados através de xenodiagnóstico, sugerem que, em locais endêmicos, os gatos participam do ciclo de transmissão de *L. infantum* (MAROLI et

al., 2007; DA SILVA et al., 2010). Esta evidência de transmissibilidade dos parasitos de felinos a um vetor sugere que essa espécie animal pode participar de forma ativa no ciclo de transmissão de leishmaniose (MAROLI et al., 2007).

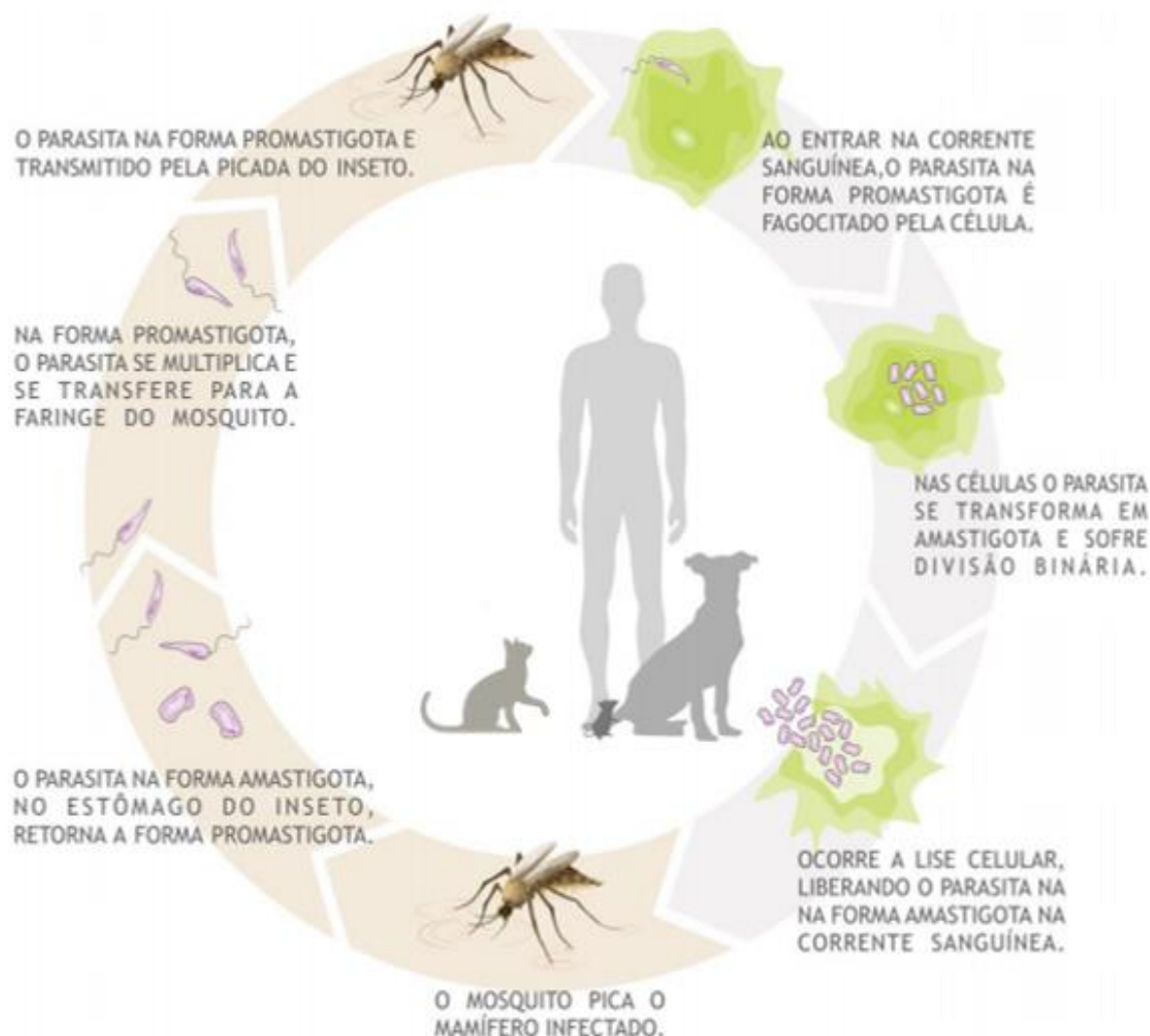


Figura 1. Ciclo do agente, destacando ambas as fases do parasito dentro do vetor transmissor e no hospedeiro. Adaptado de Frezard (2016).

2.2 Resposta imunológica dos felinos domésticos na leishmaniose

A resposta da infecção por *Leishmania* spp. em felinos parece envolver a imunidade mediada por células, ocorrendo ativação de macrófagos para a destruição de formas amastigotas de *Leishmania* spp. (SOARES et al., 2016). Por outro lado, a hipergamaglobulinemia detectadas em alguns felinos domésticos à semelhança dos caninos, não confere imunidade contra a doença (BARBIÉRI, 2006).

Entretanto, alguns estudos demonstraram que animais com maior título de anticorpos anti-*Leishmania* não foram positivos na PCR, enquanto que a maior positividade através da PCR ocorreu com maior frequência nos animais com baixos títulos de anticorpos (MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007; COSTA et al., 2010).

2.3 Patogênese e sinais clínicos

O quadro clínico da leishmaniose felina é inespecífico (PIRAJÁ & LUCHEIS, 2011), e a doença pode assumir eventualmente uma forma aguda típica, com evolução em algumas semanas para o óbito (OZON et al., 1998) como também o animal pode ser assintomático (PIRAJÁ et al., 2013), o que reforça a hipótese de que os felinos domésticos possam ser classificados como resistentes à infecção (SOLANO-GALLEGO et al., 2007; NASEREDDIN et al., 2008; MAIA et al., 2010).

Em um estudo realizado com 200 felinos domésticos provenientes do estado de São Paulo, apenas dois animais revelaram sinais clínicos, especificamente lesões crostosas da região dorso cervical, juntamente com hepatoesplenomegalia (COSTA et al., 2010).

Vale salientar que os primeiros relatos de leishmaniose felina foram caracterizados por manifestação cutânea, sem envolvimento visceral (BONFANTE-GARRIDO et al., 1996; OZON et al., 1998; HERVÁS et al., 1999; PENNISI, 2002; BOURDOISEAU, 2011) com lesões locais secas na forma de pápulas e nódulos e lesões exsudativas na forma de crostas e úlceras (MAROLI et al., 2007; GRAMICCIA, 2011).

A importância do rastreamento de felinos domésticos com dermatite, nodular ou ulcerativa, foi demonstrada em 15 felinos infectados com *Leishmania* sp. apresentando lesões de pele na junção mucocutânea (nariz, lábios e orelhas), bem como lesões oculares (NAVARRO et al., 2010). Também foram descritos perifoliculite granulomatosa, dermatite liquenóide e pododermatite (COELHO et al., 2011).

Da mesma forma, um caso clínico de um felino doméstico de 14 anos, diagnosticado com o vírus da imunodeficiência felina (FIV), 3 anos de pododermatite recorrente, não responsiva a antibióticos e caracterizados por lesões exsudativa e eritematosa, foi relatado. Além de uma perda de peso de 20%, o animal apresentou três lesões cutâneas circunscritas, sendo elas na base da orelha, cabeça e região

interescapular, todos com pápulas ulceradas ou hemorrágicas (POCHOLLE et al., 2012).

O exame histopatológico dessas lesões cutâneas revelou a presença de macrófagos, com corpos de inclusão citoplasmáticos, consistente com as formas de espécies de *Leishmania*. Após exame parasitológico de biópsia da pele detectou espécies de *Leishmania*. Uma quarta lesão no pavilhão auricular foi consistente com carcinoma de células escamosas (POCHOLLE et al., 2012).

A linfadenomegalia é o sinal clínico mais frequente e, portanto, o mais importante, mas pode ser observado hipertermia, anorexia, depressão, diarreia, êmese, desidratação, emaciação, icterícia, lesões da mucosa oral com gengivite (OZON et al., 1998; POLI et al., 2002; LEIVA et al., 2005; MAROLI et al., 2007; MARCOS et al., 2009; VIDES et al., 2011; PIRAJÁ et al., 2013), descamação e alopecia da cabeça e abdome, úlceras em proeminências ósseas, histórico de aborto (HERVÁS et al., 1999), estomatite, gengivite, periodontite leve (MAROLI et al., 2007), onicogribose, caquexia com atrofia muscular e fraqueza (DA SILVA et al., 2010).

Também foram descritas alterações oculares (POLI et al., 2002), como edema de córnea, uveíte purulenta, úlceras exsudativas da córnea, nódulos de pálpebras, panuveíte e pan-oftalmite (LEIVA et al., 2005; NAVARRO et al., 2010). As alterações bioquímicas e hematológicas encontradas em gatos se assemelham às descritas para a espécie canina, como trombocitopenia e leucocitose ou leucopenia (OZON et al., 1998; HERVÁS et al., 2001; TERREROS & GALVIS, 2009).

Embora seja menos evidente do que em cães a insuficiência renal também já foi descrita, associada à leishmaniose felina (NAVARRO et al., 2010).

Por outro lado, também tem sido proposto um sinergismo entre o carcinoma de células escamosas e leishmaniose felina, dado que enquanto o carcinoma poderia aproveitar a proliferação do protozoário, o parasita poderia iniciar o desenvolvimento da neoplasia, ou ambos (SOARES et al., 2015). Lesões compatíveis com carcinoma de células escamosas foram descritos na região temporal esquerda (GREVOT et al., 2005) e no pavilhão auricular (POCHOLLE et al., 2012) de dois gatos positivos para Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV).

A Imunodeficiência felina (FIV) e / ou vírus da leucemia felina (FeLV) têm sido apontadas como fatores predisponentes da leishmaniose felina explicado pela imunossupressão resultante (PENNISI et al., 2002; SIMÕES-MATTOS et al., 2005; COSTA et al., 2010).

Em alguns estudos uma alta positividade (~70%) de leishmaniose felina e FIV (PENNISI et al., 2002) ou mesmo uma correlação significativa com leishmaniose e FIV (SOBRINHO et al., 2012) e FeLV (SHERRY et al., 2011) foram detectadas. Em contrapartida, outros estudos contradizem essa correlação entre FIV e / ou FeLV e leishmaniose (OZON et al., 1998; SAVANI et al., 2004; VITA et al., 2005; MAROLI et al., 2007; SOLANO-GALLEGU et al., 2007; MARCOS et al., 2009; DA SILVA et al., 2010; MAIA et al., 2010; BOURDOISEAU, 2011; COELHO et al., 2011).

Em relação a infecção por *Toxoplasma gondii*, dos quais os felinos domésticos são hospedeiros definitivos, na maioria dos estudos não foi observada uma correlação positiva entre as duas enfermidades (NASEREDDIN et al., 2008; CARDOSO et al., 2010; COELHO et al., 2011; SHERRY et al., 2011).

2.4 Métodos de diagnóstico

O diagnóstico laboratorial das leishmanioses é comumente realizado através de exames parasitológicos (cultivo do parasito e/ou detecção do parasito em lesão), imunológicos (Reação de Imunofluorescência Indireta - RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e moleculares (Reação de Cadeia em Polimerase - PCR) (BRASIL, 2007).

Na leishmaniose felina clinicamente manifestada, o hemograma e a análise bioquímica frequentemente mostram leucocitose com neutrofilia, bem como ureia e aspartato aminotransferase acima dos intervalos de referência. Creatinina, alanina aminotransferase e alcalina fosfatase pode apresentar valores normais (DA SILVA et al., 2010). Neutrofilia com monocitose e hiperglobulinemia com policlonal gamopatia também foi relatada (LEIVA et al., 2005).

Exames parasitológicos permitem a observação direta do parasita através de citologia e/ou biópsia de pele, de lesões cutâneas, linfonodos ou medula óssea (OZON et al., 1998; COSTA et al., 2010). A citologia por aspiração ou impressão pode ser realizada nos órgãos afetados, como baço, fígado e rim (GREVOT et al., 2005; BRESCIANI et al., 2010; MARCOS et al., 2009).

O exame parasitológico direto do linfonodo poplíteo por citologia aspirativa tem se demonstrado como mais sensível em comparação com a citologia de outros órgãos, como a medula óssea, baço ou fígado (COSTA et al., 2010). Formas amastigotas de *L. infantum* foram encontradas no citoplasma de neutrófilos em sangue de esfregaços de *buffy coat* (4% dos neutrófilos), bem como no parênquima esplênico e nos centros foliculares dos gânglios linfáticos (MARCOS et al., 2009). A histopatologia tem mostrado sensibilidade e especificidade, especialmente para o diagnóstico de felinos com lesões (POCHOLLE et al., 2012).

A cultura de promastigotas de *Leishmania* spp é um método direto adicional, mas com algumas desvantagens, pois apresenta baixa sensibilidade e por se tratar de um teste demorado, leva muito tempo para obter resultados (POCHOLLE et al., 2012). Devido à baixa parasitemia nessa espécie animal alguns autores não consideram o sangue uma amostra sensível para cultura, podendo ser usadas amostras de medula óssea ou linfonodo (MARTÍN-SANCHÉZ et al., 2007).

Os métodos sorológicos convencionais para detectar infecção ativa em gatos nem sempre são confiáveis (MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007), visto que os títulos de anticorpos anti-*Leishmania* em gatos permanecem baixos, o que pode ser resultado da resposta imune celular potencialmente predominante nessa espécie animal (VITA et al., 2005; MARCOS et al., 2009; MAIA et al., 2010; LONGONI et al., 2012; SOBRINHO et al., 2012).

A resistência natural de felinos domésticos frente à infecção por *Leishmania* é amplamente sugerida pela cura espontânea da lesão, que muitas vezes é caracterizada pelo mínimo ou limitadas alterações patológicas (NAVARRO et al., 2010; SIMÕES-MATTOS et al., 2005).

As técnicas moleculares apresentam uma maior sensibilidade para o diagnóstico de leishmaniose felina, como PCR, que permite ainda a confirmação de *L. infantum* (SOLANO-GALLEGO et al., 2006; GRAMICCIA, 2011; PENNISI et al., 2013). É também uma boa opção para confirmar o diagnóstico e para detecção do parasita em pacientes assintomáticos (GRAMICCIA, 2011). Porém, a detecção de DNA de *L. infantum* pode não significar necessariamente a existência de uma infecção ativa, visto que alguns estudos demonstraram que felinos domésticos infectados por *L. infantum* não se mostraram com manifestações clínicas, ou seja, não desenvolveram a doença (PIRAJÁ et al., 2013).

Para o diagnóstico molecular pode-se utilizar fragmentos de pele, mucosas, sangue periférico, medula óssea, órgãos do sistema fagocítico-mononuclear (BRASIL, 2010) ou swab de conjuntiva ocular que tem se mostrado capaz de detectar felinos infectados com *Leishmania*. A coleta de amostras da conjuntiva tem se mostrado um método simples, menos invasivo e pouco estressante para os felinos domésticos (OLIVEIRA et al., 2015).

2.5 Tratamento e profilaxia

No Brasil não existem protocolos para o tratamento da leishmaniose felina. As informações sobre o tratamento nessa espécie animal são extremamente limitadas, pois existem poucos relatos de caso no mundo, dentre esses relatos descritos poucos foram seguidos (PENNISI et al., 2015). A eficácia terapêutica em casos de leishmaniose felina ainda é questionável, visto que a maioria dos medicamentos anti-*Leishmania* foram estudados apenas para a espécie canina, ainda assim as opções de tratamento para cães não são consideradas capazes de cura completa (SOLANO-GALLEGO et al., 2006).

Felinos naturalmente infectados não parecem se recuperar sem terapia anti-*Leishmania* específica (SOLANO-GALLEGO et al., 2007). No entanto, um estudo de monitoramento na Espanha, em um período de 12 meses, relatou que 11/27 gatos diagnosticados por IFI e/ou PCR com leishmaniose evidenciou evolução na melhora clínica sem qualquer tratamento para espécies de *Leishmania* (MARTÍN-SANCHÉZ et al., 2007).

Pentamidina, administrada por via intramuscular na mesma dose recomendada para cães, permitiu que um gato obtivesse cura clínica (PENNISI, 2002). O alopurinol é geralmente bem tolerado pelos gatos, no entanto, já foi relatada a elevação das enzimas hepáticas em um animal (RÜFENACHT et al., 2005). A melhora clínica é observada dentro de algumas semanas, na maioria dos casos tratados com alopurinol, após o início do tratamento, mesmo em casos de animais diagnosticados com imunodeficiência viral felina (PENNISI et al., 2004; SANCHES et al., 2011; RICHTER et al., 2014) ou lentamente após 6 meses (RÜFENACHT et al., 2005).

O tratamento com alopurinol (10 mg/kg BID) seguido de antimoniato de N-metilglucamina também se mostrou eficaz, onde foi realizado o monitoramento rigoroso do paciente nos 24 meses seguintes, que indicaram a segurança da terapia combinada e a cura clínica foi alcançada sem mais recidivas ou efeitos colaterais (BASSO et al., 2016).

Algumas outras drogas orais, como o fluconazol, itraconazol, metronidazol e espiramicina, administrados a um gato em momentos diferentes da infecção foram consideradas como não eficazes (PENNISI et al., 2004). A remoção dos nódulos cutâneos através de intervenção cirúrgica foi seguida por recaída de lesões (COSTA-DURÃO et al., 1994; HERVAS et al., 1999).

De forma geral a profilaxia baseia-se na redução da população do mosquito vetor e na promoção de atividades de educação em saúde (MONTEIRO, 2017). Não há na literatura nenhuma informação preventiva específica para a espécie felina, então a profilaxia baseia-se de forma semelhante ao que é estipulado para os cães, com o uso de inseticidas tópicos. Como a maioria dos piretróides é tóxico para os gatos, os colares de fumetrina são, atualmente, a única formulação piretróide licenciada para gatos (Leishvet guidelines, 2016). Estudos em cães sugerem que este colar age tanto para reduzir o risco de infecção em áreas endêmicas tanto para limitar a infecção nos animais já positivos (PENNISI et al., 2015).

3. REFERÊNCIAS

- AVIZEH, R. et al. Antibody detection against *Leishmania infantum* in sera of companion cats in Ahvaz, south west of Iran. **Archives of Razi Institute**, v. 68, n. 2, p. 165-171, 2016.
- BANETH, Gad. A comparison of non-invasive and invasive diagnostic methods for canine leishmaniosis. **International SCIVAC Congresso**, 2013.
- BARBIÉRI, C. L.. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite immunology**, v. 28, n. 7, p. 329-337, 2006.
- BASSO, M. A. et al. Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl-glucamineantimoniate. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 2, n. 1, p. 2055116916630002, 2016.
- BASTOS, T. S. A. et al. Aspectos gerais da leishmaniose visceral. **Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer** - Goiânia, v.11 n.22; p. 293, 2015.
- BENASSI, J. C. Detecção de *Leishmania* spp. por PCR em tempo real em amostras de suabe conjuntival de cães, gatos e equinos. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo. 2015.
- BONFANTE-GARRIDO, R. et al. Natural infection of cats with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 1, p. 53, 1991.
- BONFANTE-GARRIDO, R. et al. Cutaneous leishmaniasis in cats (*Felis domesticus*) caused by *Leishmania (Leishmania) venezuelensis*. **Revista Científica-Facultad de Ciencias Veterinarias**, v. 6, p. 187-190, 1996.
- BOURDOISEAU, G. Leishmaniose féline: actualités. **Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v. 46, n. 1, p. 23-26, 2011.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. p. 1-30.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. In: **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**; Brasília; 2010: 180 p.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília – DF, 2014.
- BRESCIANI, K. D. S. et al. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 127-129, 2010.
- BRUMPT, E. In: *Parasites Animaux, Précis de Parasitologie*: E. Brumpt (Editor), **6ªed. Masson et Cie Boulevard Saint-Germain**: Paris; 1949. p. 248-256.

CARDOSO, L. et al. Low seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on DAT and ELISA. **Veterinary Parasitology**, v.174,p. 37-42, 2010.

CAMPOS-PONCE, M. et al. Leishmania chagasi/infantum: further investigations on Leishmania tropisms in atypical cutaneous and visceral leishmaniasis foci in Central America. **Experimental parasitology**, v. 109, n. 4, p. 209-219, 2005.

CHAGAS, E. et al. Leishmaniose visceral americana. II. Estudos epidemiológicos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 33, n. 1, p. 138-206, 1938.

CHATZIS, M. K. et al. A cross-sectional survey of leishmaniosis in clinically normal and sick cats in Greece with indirect immunofluorescence antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **26th Annual Congress of the ESVD-ECVD**. 2013.

COELHO, W. M. D. et al. Occurrence of *Leishmania (Leishmania) chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 256-258, 2010.

COELHO, W. M. D. et al. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania* spp. infections and risk factors for cats from Brazil. **Parasitology Research**, v. 109, n. 4, p. 1009, 2011.

COLOMBO, F.A. Detecção de RNA de *Leishmania infantum* syn. *L. chagasi* em pulgas e carrapatos coletados de cães naturalmente infectados e 101 padronizações de uma PCR em tempo real para o diagnóstico e diferenciação de espécies de *leishmania*. 2012. **Dissertação (Mestrado)** Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, 2012.

COSTA, T. A. C. et al. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 212-217, 2010.

COSTA-DURÃO, J. F. et al. Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal (Concelho de Sesimbra). Nota preliminar. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 89, n. 511, p. 140-4, 1994.

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

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 352-356, 2006.

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, p. 150-154, 2010.

DE FREITAS, E. et al. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1, p. 159-167, 2006.

DUARTE, I. dos R. M. et al. Comportamento biológico de *Leishmania (L.) amazonensis* isolada de um gato doméstico (*Felis catus*) de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 39, n. 1, p. 33-40, 2010.

DUBEY, J. P. et al. Placentitis associated with leishmaniasis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 227, n. 8, p. 1266-1269, 2005.

FIGUEIREDO, F. B. et al. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 141-5, 2009.

FLEURI, A. K. A. et al. Avaliação da PCR-RFLP para o diagnóstico e identificação de *Leishmania* sp: uma comparação com os métodos parasitológicos e imunológicos. **Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública da Universidade Federal de Goiás**. 2011.

FREZARD, F. J. G. a caminho da cura da leishmaniose visceral canina. Disponível em <http://www.canalciencia.ibict.br/pesquisa/0295_A_caminho_da_cura_da_leishmaniose_visceral_canina.html>. Acessado em: 01 de abril de 2018.

GODOI, N. F. C. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* em felinos domésticos frequentadores das clínicas e hospitais veterinários da cidade de Cascavel, Paraná. Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 1, 2016.

GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary Parasitology**, v. 181, n. 1, p. 23-30, 2011.

GREVOT, A. 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.

HERVÁS, J. et al. Two cases of feline visceral and cutaneous leishmaniosis in Spain. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 1, n. 2, p. 101-105, 1999.

HERVÁS J. et al. Granulomatous (pseudotumoral) iridocyclitis associated with leishmaniasis in a cat. **Veterinary Record**, v. 149, n.20, p. 624-625, 2001

GUSHI, L.T. **Estrutura populacional de *Lutzomyia longipalpis* através da amplificação e sequenciamento do segmento ribossomal 12s de DNA mitocondrial**. 2008. Dissertação (Mestrado) Botucatu: Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, 2008.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters, W., Killick-Kendrick, R. **The leishmaniasis in biology and epidemiology**. Academic Press: London; 1987: p.1-120.

LAINSON, R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. **Revista Pan-Amazônica de Saúde** v.1 n.2. p.13-32. 2010. Disponível em: http://scielo.iec.pa.gov.br/pdf/rpas/v1n2/pt_v1n2a02.pdf. Acesso em: 02.06.2018.

LEIVA, M. et al. Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat. **Veterinary Ophthalmology**, v. 8, n. 1, p. 71-75, 2005.

LONGONI, S. S. 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 and infectious diseases**, v. 35, n. 5, p. 469-476, 2012.

MAIA, C. et al. Feline *Leishmania infection* in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. **Veterinary Parasitology**, v.174, p.336-340, 2010.

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

MARODIN, N. B. Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pela *Leishmania* spp. nos felinos domésticos de uma região periurbana Distrito Federal. 2011. **Dissertação (Mestrado)** Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

MAROLI, M. et al. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 357-360, 2007.

MARTÍN-SÁNCHEZ, J. et al. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 267-273, 2007.

MONTEIRO, Silvia Gonzalez. Parasitologia na medicina veterinária. **São Paulo: Roca**, p. 140-141, 2017.

MOSALLANEJAD, B. et al. Antibody detection against *Leishmania infantum* in sera of companion cats in Ahvaz, south west of Iran. **Archives of Razi Institute**, v. 68, n. 2, p. 165-171, 2013.

NASEREDDIN, A. et al. Feline leishmaniasis in Jerusalem: serological investigation. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 4, p. 364-369, 2008.

NAVARRO, J. A. et al. Histopathological lesions in 15 cats with leishmaniosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, n. 4, p. 297-302, 2010.

NOÉ, P. et al. Detection of *Leishmania chagasi* in cats (*Felis catus*) from viscera leishmaniasis endemic area in Brazil. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4, p. 3-14, 2015.

OLIVEIRA, G. C. et al. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 464-470, 2015.

OLIVEIRA- PEREIRA, Y.N. et al. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, n.9, p.2183-2186, 2008.

OLIVEIRA, T. M. F. S. et al. Conjunctival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 220-222, 2015.

OMS - Organização Mundial da Saúde. Leishmanioses. **Nota descritiva, Setembro, 2016**. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/es/>. Acesso em: 02.06.2018.

Organização Mundial de Saúde – OMS. Disponível em: http://www.who.int/neglected_diseases/news/WHO_and_Gilead_Sciences_extend_collaboration/en/ Acesso em: 13 de outubro de 2016.

OTRANTO D. Canine vector borne disease of human concern. **International SCIVAC Congresso**, 2013.

OZON, C. et al. Disseminated feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Southern France. **Veterinary Parasitology**, v. 75, n. 2, p. 273-277, 1998.

PENNISI, M. G. et al. Case report of leishmaniasis in four cats. **Veterinary research communications**, v. 28, n. 1, p. 363-366, 2004.

PENNISI, M. G. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. **Canine Leishmaniasis: moving towards a solution**, p. 39-48, 2002.

PENNISI, M. G. et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 1, p. 1, 2015.

Pernambuco, Governo do Estado. Disponível em: <http://www.pe.gov.br/conheca/geografia/>. Acesso em 21 de outubro de 2016.

PIRAJÁ, G. V.; LUCHEIS, Simone Baldini. Importância do gato no ciclo da leishmaniose. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária – ISSN 1679-7353**, 2011.

PIRAJÁ, G. V. Necessidade de vigilância epidemiológica para *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania chagasi*) e *Leishmania (Viannia) braziliensis* em flebotomíneos e gatos errantes no Bosque Municipal de Marília-SP. 2013. **Dissertação (Mestrado)** Botucatu: Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2013.1.

PIRAJÁ, G. V. et al. Leishmaniose Felina-Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 203-216, 2013.2.

POCHOLLE, E. et al. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. **Parasite**, v. 19, n. 1, p. 77, 2012.

POLI, A. et al. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 3, p. 181-191, 2002.

RICHTER, M. et al. Ocular signs, diagnosis and long-term treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis. **Schweiz Arch Tierheilkd**, v. 156, p. 289-94, 2014.

RÜFENACHT, S. et al. Two cases of feline leishmaniosis in Switzerland. **The Veterinaryrecord**, v. 156, n. 17, p. 542-545, 2005.

SANCHES, A.; et al. Um caso de leishmaniose felina. **Medicina Veterinária**, v. 63, p. 29-30, 2011.

SAVANI, E. S. M. M. 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. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 3, p. 229-233, 2004.

SCHUBACH, T. M. P. et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 3, p. 165-167, 2004.

SERRANO, A. C. M., et al. Leishmaniose em felino na zona urbana de Araçatuba - SP - relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, v.76, p.36-40, 2008.

SERGEANT, E. D. et al. 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. 93-98, 1912.

SHERRY K. et al. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector Borne Zoonotic Disease**, 2011; 11(3): 239-245.

SILVA, F. L. et al. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 1, p. 55-59, 2009.

SILVA, R. C. N. et al. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 108-109, 2014.

SIMÕES-MATTOS, L. et al. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 127, n. 3, p. 199-208, 2005.

SOARES, C. S. A. et al. What do we know about feline leishmaniosis? **Journal of feline medicine and surgery**, v. 18, n. 6, p. 435-442, 2016.

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, p. 302-306, 2012.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 76, n. 4, p. 676-680, 2007.

SOUSA, S. A. P. Diagnóstico de leishmaniose em *Felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil. 2017. **Dissertação (Mestrado)** Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2017.

SOUZA, Z. C. et al. Leishmaniose visceral canina e humana em Caruaru, Pernambuco, no período de 2005 a 2010. **Revista de Patologia Tropical** v. 43, n. 1, p. 57-68, 2014.

SVS – Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e Controle da leishmaniose visceral**. Editora MS, 1. ed., Brasília, 2004. 120p.

TERREROS, M. J. S.; GALVIS, J. A. D. Papel del gato doméstico (*Felis catus*) en la transmisión de *Leishmania* spp. **Teoría y Praxis Investigativa**, v. 4, n. 2, p. 33-40, 2009.

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

THRUSFIELD, M. Epidemiologia veterinária. **São Paulo: Roca**, 2004.

VASCONCELOS, D. R. B.. Detecção de *Leishmania chagasi* em *Lutzomyia longipalpis* por meio de PCR em tempo real. Triagem de genes e métodos quantitativos. **Universidade Estadual do Ceará**. 2010.

VIDES, J. P. et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 1, p. 22-28, 2011.

VITA, S. et al. Feline leishmaniasis and ehrlichiosis: serological investigation in Abruzzo region. **Veterinary Research Communication**, v. 29, p. 319-321, 2005.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

- Identificar e realizar a caracterização molecular de *Leishmania* spp. em felinos domésticos no estado de Pernambuco.

4.2 Objetivos específicos

- Determinar a frequência da infecção por *Leishmania* sp. em felinos domésticos, no estado de Pernambuco;
- Identificar as espécies de *Leishmania* sp. que acometem os felinos domésticos no estado de Pernambuco;
- Realizar a caracterização molecular das espécies de *Leishmania* spp. em felinos domésticos no estado de Pernambuco;
- Avaliar a sensibilidade das amostras biológicas no diagnóstico de leishmaniose felina;
- Caracterizar os sinais clínicos da leishmaniose felina.

CAPÍTULO I

Infecção por *Leishmania infantum* em *Felis catus domesticus* em áreas endêmicas para leishmaniose visceral no estado de Pernambuco, Brasil

Infecção por *Leishmania infantum* em *Felis catus domesticus* em áreas endêmicas para leishmaniose visceral no estado de Pernambuco, Brasil

RESUMO

A leishmaniose em felinos já vem sendo relatada em alguns países, mas ainda existem poucos estudos em regiões endêmicas para a doença em humanos, como a região nordeste do Brasil. Desta forma, o presente estudo teve por objetivo determinar a frequência de infecção por *Leishmania infantum* em *Felis catus domesticus* no estado de Pernambuco. Para tanto, foram coletadas amostras de sangue, aspirado de linfonodo e swab conjuntival de ambos os olhos. As amostras de sangue e de swab foram submetidas à extração de DNA e posterior Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), e a partir das amostras de linfonodo poplíteo foram confeccionados estiraços para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp. Na PCR, todas as amostras de swab conjuntival foram negativas e 1,10% (1/91) das amostras de sangue foram positivas, permitindo à amplificação de 447 pares de base do DNA. Formas amastigotas de *Leishmania* spp. foram detectadas no estiraço de linfonodo do mesmo animal. Este estudo reporta pela primeira vez a infecção de felino doméstico por *L. infantum* com diagnóstico através de exames parasitológico e molecular no estado de Pernambuco. Este estudo é um passo importante na determinação da frequência da infecção de felinos domésticos por *L. Infantum* na região Nordeste do Brasil.

Palavras-chave: leishmaniose felina, diagnóstico molecular, zoonose.

ABSTRACT

Leishmaniasis in felines has been reported in some countries, but there are still few studies in regions endemic to the disease in humans, such as the northeastern region of Brazil. Therefore, the present study aimed to determine the frequency of infection by *Leishmania infantum* in *Felis catus domesticus* in the state of Pernambuco. Blood samples were collected, aspirated lymph node and conjunctival swab from both eyes. Blood and swab samples were submitted to DNA extraction and subsequent Polymerase Chain Reaction (PCR), and strains were prepared from the popliteal lymph node samples to investigate amastigote forms of *Leishmania* spp. In PCR, all conjunctival swab samples were negative and 1.10% (1/91) of the blood samples were

positive, allowing the amplification of 447 DNA base pairs. Amastigotes forms of *Leishmania* spp. were detected in the lymph node stretch of the same animal. This study reports for the first time the infection of domestic feline by *L. infantum* with diagnosis through parasitological and molecular tests in the state of Pernambuco. This study is an important step in determining the frequency of infection of domestic felines by *L. infantum* in the Northeast region of Brazil

Key words: feline leishmaniasis, molecular diagnosis, zoonosis.

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças vetoriais, causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, de grande importância para a saúde pública devido ao seu caráter antroponozoonótico (MURRAY et al., 2005). Nas Américas, estes protozoários são transmitidos por insetos do gênero *Lutzomyia* (MARODIN, 2011), que se adaptam facilmente ao peridomicílio (MARCONDES & ROSSI, 2013; BRASIL, 2014).

Como resultado da ação antrópica, a urbanização da leishmaniose visceral (LV) no Brasil tem apresentado perfis epidemiológicos diferentes, nos quais os cães (*Canis lupus familiaris*) são considerados os principais reservatórios em áreas urbanas (TERREROS & GALVIS, 2009; MARODIN, 2011; BANETH, 2013). No entanto, o envolvimento de outras espécies animais, como os felinos domésticos, aves, roedores, equinos, entre outros, passou a ser motivo de estudo (OLIVEIRA-PEREIRA et al., 2008; MARODIN, 2011; CHATZIS et al, 2013).

Nos últimos anos, o número de casos clínicos de leishmaniose felina tem aumentado consideravelmente (MANCIANTI, 2004; PENNISI, 2004; COSTA et al., 2010; SOUSA et al., 2017). No Brasil foram identificados três agentes etiológicos que estão envolvidos na infecção de felinos domésticos por *Leishmania*, sendo eles a *L. infantum* (OLIVEIRA et al, 2015), *L. amazonensis* (DUARTE et al., 2010) e *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004).

Tendo em vista que os relatos de leishmaniose felina tem aumentado em todo o Brasil, o objetivo desse estudo foi investigar a infecção por *Leishmania infantum* em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em áreas endêmicas para leishmaniose visceral no estado de Pernambuco, região nordeste do Brasil.

MATERIAL E MÉTODOS

Área estudada

O estudo foi realizado nas mesorregiões: Metropolitana do Recife (Itamaracá, Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Olinda e Paulista), Zona da Mata (Água Preta e Pombos) e Agreste (Caruaru, Cupira e Lagoa dos Gatos), áreas endêmicas para leishmaniose visceral no estado de Pernambuco.

Animais

A população do estudo foi composta por 128 felinos domésticos, de ambos os sexos, idades variadas, sem raça definida. Os animais foram selecionados através de amostragem por conveniência não probabilística (OLIVEIRA et al., 2012) e a coleta de material biológico foi realizada somente após o consentimento do tutor. O estudo recebeu licença da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal Rural de Pernambuco (CEUA/UFRPE) (Nº 52/2017).

Inicialmente os animais foram avaliados clinicamente, sendo realizada a inspeção, palpação e auscultação com base nas condições gerais de saúde e presença de alterações dermatológicas. As informações gerais sobre os tutores e seus animais, foram registradas em folhas de dados individuais. As amostras biológicas foram coletadas de junho a setembro de 2017.

Coleta e processamento de amostras biológicas

Dos animais estudados foram coletadas e analisadas 347 amostras biológicas, sendo, 256 amostras de *swab* conjuntival, 91 amostras de sangue e três amostras de linfonodo poplíteo.

Nos animais que apresentavam linfadenomegalia após a assepsia do local, foi realizada a punção do linfonodo poplíteo, com auxílio de seringa e agulha descartáveis. Com o material coletado, foram confeccionados estirados, os quais foram fixados e corados com o Panótico e examinados em microscópio óptico, para a pesquisa de amastigotas de *Leishmania* spp.

Para a análise do DNA de *L. infantum*, foram coletadas 91 amostras de sangue em microtubos plásticos contendo ácido etilenodiaminotetraacético (EDTA), por meio de venopunção cefálica, jugular ou safena lateral. Também foram coletadas 256 amostras de *swab* conjuntival (de ambos olhos), as quais foram acondicionadas em tubos de polipropileno estéreis.

O DNA genômico foi extraído a partir das amostras de swab conjuntival e de 200 µL de sangue através do kit da PROMEGA, de acordo com as instruções do fabricante. Os primers utilizados foram MC1 (5′ - GTT AGC CGA TGG TGG TCT TG – 3′) e MC2 (5′ CAC CCA TTT TTC CGA TTT TG – 3′), que permitem à amplificação de 447 pares de base do DNA (CORTES et al., 2004). Todas as PCR foram realizadas utilizando controles positivos (DNA extraído a partir de medula óssea de cão naturalmente infectado por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*) e negativos (água ultrapura). As reações de amplificação foram conduzidas em termociclador com ciclos de: 1 ciclo de desnaturação a 94°C – 2 min, 30 ciclos de desnaturação a 94°C – 20 seg, anelamento a 60 °C – 20 seg, extensão a 72°C – 30 seg, extensão final a 72°C – 5 min.

Os produtos amplificados foram analisados por meio de eletroforese horizontal em gel de agarose 2% em um tampão TAE 1X, utilizando o corante BlueGreen® e marcador de peso molecular (100 bp DNA ladder – GibcoBRL-Life Technologies, MD, USA). Posteriormente, os géis foram observados e analisados por meio de um transiluminador ultravioleta acoplado a um computador com software de imagens. As amostras positivas foram isoladas e purificadas a partir das bandas do gel de agarose com o kit comercial de purificação da INVITROGEN, o material foi sequenciado e as sequências foram alinhadas com o banco de dados BLAST e comparadas com outras sequências através do programa BLASTIN 2.8.0+.

RESULTADOS

Dos animais estudados, 59,38% (76/128) eram provenientes da região Metropolitana do Recife (Itamaracá, Jaboatão dos Guararapes, Moreno, Olinda e Paulista), 28,91% (37/128) do Agreste (Caruaru, Cupira e Lagoa dos Gatos) e 11,72% (15/128) da Zona da Mata (Água Preta e Pombos).

Com relação ao sexo, 51,56% (66/128) eram fêmeas e 48,43% (62/128) machos, com idades variando de um mês a 120 meses, todos sem raça definida. Destes, 61,72% (79/128) apresentavam-se clinicamente saudáveis; 22,66% (29/128) com alterações dermatológicas como alopecia, rarefação pilosa, dermatite ulcerativa, dermatite crostosa e dermatite úmida; 15,62% (20/128) com alterações clínicas como secreção ocular e nasal, caquexia, desidratação e mucosas hipocoradas; 3,12%

(04/128) com linfadenomegalia, sendo 2,34% (03/128) de linfonodo poplíteo e 0,78% (01/128) do linfonodo submandibular. Ocasionalmente, um mesmo animal apresentava mais de um sinal clínico.

Das citologias de linfonodo, foram identificadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. em 33,33% (1/3) através do exame parasitológico. Na PCR, todas as amostras de *swab* conjuntival foram negativas e 1,10% (1/91) das amostras de sangue foram positivas e após o sequenciamento genético foi constatado que o DNA da amostra era compatível com o de *L. infantum*.

DISCUSSÃO

O animal positivo em nosso estudo é proveniente da Ilha de Itamaracá, região endêmica para a leishmaniose visceral (DANTAS TORRES et al., 2006), onde no período de maio de 1990 a dezembro de 1992, Alves e colaboradores evidenciaram mudança no padrão de ocorrência dos casos, que predominaram na Zona da Mata e na Região Metropolitana de Recife, destacando-se os municípios de Surubim e Itamaracá, responsáveis por 20% do casos do Estado. O município também apresenta alta positividade de cães para a leishmaniose canina (DANTAS TORRES et al., 2006), mas este é o primeiro registro da doença em felino doméstico.

Os achados clínicos observados no animal positivo para leishmaniose felina foram mucosas oral e ocular hipocoradas e linfadenomegalia de linfonodo poplíteo, que foram semelhantes àqueles relatados anteriormente para gatos infectados com *L. infantum* (VIDES et al., 2011; CHATZIZ et al., 2014;). Porém, como a presença de coinfeções não foi investigada, não se pode afirmar que os sinais clínicos foram causados apenas pela leishmaniose felina. Alguns sinais clínicos, como linfadenomegalia e mucosas hipocoradas, ocorreram tanto em indivíduos infectados quanto não infectados.

O exame parasitológico direto do linfonodo poplíteo por citologia aspirativa (33,33%) mostrou-se eficaz, como descrito por Costa et al., (2010) que considerou amostras de linfonodo como mais sensível em comparação com a citologia de outros órgãos.

Apesar de estudos demonstrarem a eficácia do diagnóstico de leishmaniose canina através de amostras de swab conjuntival por PCR, tendo se mostrado um diagnóstico altamente sensível em cães sintomáticos (STRAUSS-AYALI et al., 2004; FERREIRA et al., 2008; PILATTI et al., 2009) e assintomáticos (ALMEIDA FERREIRA et al., 2012), neste estudo nenhuma amostra de swab conjuntival foi positiva para os primers MC1 e MC2 (*L. infantum*), o que também foi registrado por Oliveira et al. (2015) em felinos no estado de São Paulo. Um estudo realizado por Chatzis e colaboradores em 2014 mostrou a baixa sensibilidade da amostra de swab conjuntival para o diagnóstico de leishmaniose na espécie felina (3,1%).

Apesar do uso de swab conjuntival em felinos domésticos não ter se demonstrado sensível para o diagnóstico de leishmaniose nessa espécie animal ele teve sua eficácia comprovada no diagnóstico de outros agentes etiológicos. A PCR, a partir desse material biológico, tem sido um método diagnóstico usado com sucesso para detectar doenças como herpesvírus (FHV-1), *Chlamydomphila felis* e *Mycoplasma felis* (HILLSTRÖM et al., 2012).

Apesar da hipótese dos felinos domésticos apresentarem baixa parasitemia (COURA et al., 2018), amostras de sangue têm se demonstrado eficazes no diagnóstico, através de PCR, da infecção de felinos domésticos por *Leishmania infantum*. Das amostras de sangue uma foi positiva para estes mesmos primers MC1 e MC2, onde, após sequenciamento, foi compatível com DNA de *L. infantum*.

Os resultados obtidos no presente estudo com a PCR, foram inferiores aos obtidos por Sherry et al. (2011) (8,7%) em análise de prevalência em Ibiza-Espanha, mas foram superiores aos descritos por Vilhena et al. (2013) (0,3%) nas regiões norte e central de Portugal. A frequência encontrada foi muito abaixo do que foi relatado no sul da Espanha (25,7%) (MARTIN-SANCHES et al., 2007), Lisboa (30,4%) (MAIA et al., 2008) e na Grécia (41%) (CHATZIZ et al., 2014), regiões nas quais a leishmaniose é endêmica.

Esta variação nos resultados pode ser devido a diferenças nas amostragens, que foram aleatórias, bem como a variedade de material biológico utilizado para o diagnóstico.

Comparando os resultados obtidos neste estudo foi verificado que Metzdorf et al. (2017) (6%) obteve uma maior prevalência na região Centro-oeste do Brasil, tal fato pode ser devido ao fato do diagnóstico ter sido realizado não apenas com amostras de sangue e swab conjuntival, mas também com amostras de medula óssea e aspirado de linfonodo, considerados mais sensíveis, para os testes moleculares. Em estudos realizados com animais com alterações dermatológicas, como o conduzido por Vides et al. (2011), as prevalências são maiores, quando comparado com amostras aleatórias, como no presente estudo.

Este é o primeiro registro de caracterização molecular de *L. infantum* em felino doméstico em Pernambuco.

Embora a leishmaniose ainda não seja a principal suspeita de enfermidade em felinos domésticos, esse estudo mostra que tal doença precisa ser investigada em animais provenientes de áreas endêmicas. O diagnóstico não deve ser obtido de forma acidental ao investigar outra enfermidade, pois o monitoramento dos hospedeiros de *Leishmania* se faz necessário para que possa ser realizado o controle de forma eficaz da transmissão da doença.

Devido à alta especificidade, praticidade e baixo custo, os exames citológicos podem ser adotados inicialmente para o diagnóstico. Exames complementares, usando técnicas moleculares, podem ser realizados quando a citologia for negativa, mas o animal apresente sinais clínicos (MAIA e CAMPINO, 2011).

Conclui-se que apesar de pouco relatada, a leishmaniose em felinos deve compor o quadro de diagnóstico diferencial das doenças de felinos provenientes de regiões endêmicas. Atualmente a citologia se mostra como um método seguro, de baixo custo, sendo altamente específico, enquanto que a PCR de swab conjuntival se mostrou ineficaz no diagnóstico da doença. A PCR de sangue mostrou-se sensível para diagnosticar felinos com leishmaniose. Este estudo é um passo importante para identificar a frequência da infecção de felinos domésticos por *L. Infantum* na região Nordeste do Brasil, bem como na determinação do ma.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA FERREIRA, S. et al. Canine skin and conjunctival swab samples for the detection and quantification of *Leishmania infantum* DNA in an endemic urban area in Brazil. **PLoS neglected tropical diseases**, v. 6, n. 4, p. e1596, 2012.

Alves JGB, Borba FB, Araújo M. Calazar em crianças hospitalizadas na cidade do Recife. *Rev IMIP*. 1993;7(1):22-4.

BANETH, Gad. A comparison of non-invasive and invasive diagnostic methods for canine leishmaniosis. **International SCIVAC Congress**, 2013.

BRASIL. **Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília – DF, 2014.

CHATZIS, M. K. et al. A cross-sectional survey of leishmaniosis in clinically normal and sick cats in Greece with indirect immunofluorescence antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay. **26th Annual Congress of the ESVD-ECVD**. 2013.

CHATZIZ M. K. et al. Cytological and molecular detection of *Leishmania infantum* in different tissues of clinically normal and sick cats. **Veterinary Parasitology** 2014; 202: 217–225.

CORTES, S. et al. PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* sl-specific kinetoplastid primers. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 1, p. 12-17, 2004.

COSTA, T. A. C. et al. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, p. 213-217, 2010.

DANTAS-TORRES, F. Situação atual da epidemiologia da leishmaniose visceral em Pernambuco. **Revista de Saúde Pública**, v. 40, p. 537-541, 2006.

DUARTE, I. dos R. M. et al. Comportamento biológico de *Leishmania (L.) amazonensis* isolada de um gato doméstico (*Felis catus*) de Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista de Patologia Tropical**, v. 39, n. 1, p. 33-40, 2010.

FERREIRA, S. A. et al. Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR–hybridization in Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary parasitology**, v. 152, n. 3-4, p. 257-263, 2008.

HILLSTRÖM, Anna et al. Evaluation of cytologic findings in feline conjunctivitis. **Veterinary clinical pathology**, v. 41, n. 2, p. 283-290, 2012.

MAIA, C., CAMPINO, L., 2011. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? **Trends Parasitology**. 27, 341–344.

MAIA C. et al. Importance of cats in zoonotic leishmaniasis in Portugal. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases** 2008; 8: 555-559.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 50, n. 5, p. 341-352, 2013.

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

MARODIN, N. B. Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pela *Leishmania* spp. nos felinos domésticos de uma região periurbana Distrito Federal. 2011. **Dissertação (Mestrado)** Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

METZDORF, I. P. et al. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121-125, 2017.

MURRAY H.W. et al. Advances in leishmaniasis. **Lancet**. v.366 (9496), p.1561–1577, 2005.

OLIVEIRA, G. C. et al. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 464-470, 2015.

OLIVEIRA- PEREIRA, Y.N. et al. Preferência alimentar sanguínea de flebotomíneos da Amazônia do Maranhão, Brasil. **Cadernos de Saúde Pública**, v.24, n.9, p.2183-2186, 2008.

OLIVEIRA, K. D. et al. Amostragens probabilística e não probabilística: técnicas e aplicações na determinação de amostras. 2012. 28f. **Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Espírito Santo**, 2012.

OLIVEIRA, T. M. F. S. et al. Conjunctival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 220-222, 2015.

Organização Mundial da Saúde. Control de las leishmaniasis. Informe de una reunión del Comité de Expertos de la OMS sobre el Control de las Leishmaniasis, Ginebra, 22–26 Marzo de 2010. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2010. (OMS, serie de informes técnicos no. 949). Disponível em: <http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/82766/1/WHO_TRS_949_spa.pdf>. Acessado em: 28 de Setembro 2018.

PENNISI, M. G. et al. Case report of leishmaniasis in four cats. **Veterinary Research Communications**, v. 28, n. 1, p. 363-366, 2004.

Pernambuco, Governo do Estado. Disponível em: <<http://www.pe.gov.br/conheca/geografia/>>. Acesso em 21 de outubro de 2016.

PILATTI, M. M. et al. Comparison of PCR methods for diagnosis of canine visceral leishmaniasis in conjunctival swab samples. **Research in veterinary science**, v. 87, n. 2, p. 255-257, 2009.

SCHUBACH, T. M. P. et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v. 98, n. 3, p. 165-167, 2004.

SHERRY K, M. G. et al. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector Borne Zoonotic Diseases** 2011; 11(3): 239-245.

SOUSA, S. A. P. et al. Diagnóstico de leishmaniose em *Felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil. 2017. **Dissertação (Mestrado)** Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2017.

STRAUSS-AYALI, D. et al. Polymerase chain reaction using noninvasively obtained samples, for the detection of *Leishmania infantum* DNA in dogs. **The Journal of infectious diseases**, v. 189, n. 9, p. 1729-1733, 2004.

TERREROS, M. J. S.; GALVIS, Jaime Alberto Díaz. Papel del gato doméstico (*Felis catus*) en la transmisión de *Leishmania* spp. **Teoría y Praxis Investigativa**, v. 4, n. 2, p. 33-40, 2009.

VIDES JP, et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology** 2011; 178: 22–28.

VILHENA H, et al. 2013. Feline vector-borne pathogens in the north and center of Portugal. **Parasites and Vectors** 2013; 6: 99.

CAPÍTULO II

LEISHMANIOSE FELINA NO BRASIL: REVISÃO DE LITERATURA

Leishmaniose felina no Brasil: Revisão de literatura

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças com potencial zoonótico que ocupam o terceiro lugar entre as doenças vetoriais mais importantes em regiões tropicais e subtropicais no Velho e no Novo Mundo (OTRANTO, 2013). Causada por protozoários do gênero *Leishmania*, é comumente classificada em duas formas clínicas: leishmaniose tegumentar (LT) ou leishmaniose visceral (LV), na dependência do agente etiológico (CASTRO, 1996).

No Brasil são reconhecidas pelo menos sete espécies de *Leishmania* responsáveis pela doença em humanos, sendo a forma tegumentar causada principalmente pela *Leishmania (Viannia.) braziliensis*, e a *Leishmania (L.) infantum* sendo responsável pela forma visceral da doença (VALE, 2005).

Em função das alterações no perfil de transmissão, hoje a LV encontra-se urbanizada em várias cidades brasileiras de médio e grande porte com a interação da interface silvestre, sinantrópica e ambiente domiciliar (GÓES et al., 2014), tendo o cão como principal reservatório nos centros urbanos (ALENCAR et al., 1991). Por outro lado, a domiciliação da transmissão da LT tem sido sugerida pela associação observada entre a infecção em humanos e animais domésticos, como cães e equídeos, em ambientes peridomésticos (PITTNER, et al., 2009).

Outras espécies de animais também têm sido incriminadas como reservatórios da LV nos grandes centros urbanos, e neste ponto os gatos têm sido apontados como reservatórios secundários (BENASSI et al., 2015).

O aumento no registro do número de felinos domésticos infectados por *Leishmania* sp. pode ser explicado por três hipóteses: aumento na investigação ativa do protozoário neste hospedeiro, melhora das técnicas de diagnóstico e aumento da taxa de prevalência da doença em felinos domésticos (NETO et al., 2015).

Este estudo teve por objetivo revisar a etiologia, prevalência, sinais clínicos e diagnóstico de leishmaniose felina, e avaliar a melhor forma de abordagem aos felinos domésticos frente à doença no Brasil.

Histórico da leishmaniose felina no Brasil, distribuição geográfica e agentes etiológicos envolvidos

Em 1938 ocorreu o primeiro estudo epidemiológico que registrou o primeiro caso de leishmaniose felina no Brasil, em São Paulo (CHAGAS et al., 1938), porém os estudos sobre felinos domésticos infectados por *Leishmania* sp. no território brasileiro se intensificaram somente cinco décadas após esse primeiro registro. Nos anos 2000, o registro de um caso de LV em um gato da região de Cotia- São Paulo, chamou atenção por ser uma área não endêmica (SAVANI et al., 2004). Essa região se tornou endêmica para leishmaniose canina em 2008 (BEPA, 2008), mas ainda não existem registros de infecção em humanos (CVE, 2018), o que demonstra que o fato de uma área ser endêmica para leishmaniose em cães não torna essa espécie animal responsável pela disseminação da doença em humanos.

Desde então, o Brasil (SAVANI et al., 2004; COSTA et al., 2010) é considerado o país que registra o maior número de casos de leishmaniose felina no mundo (DANTAS-TORRES et al., 2006). A tabela 1 mostra os casos de Leishmaniose Felina (LF) já relatados no Brasil até o presente momento em todo território nacional.

Tabela 1. Ocorrência de leishmaniose felina no Brasil.

Estado	Referência
Piratuba – SP	Chagas et al., 1938
Grotinha – BA	Sherlock, 1996
Belo Horizonte – MG	Passos et al., 1996
Fortaleza – CE	Simões-Mattos et al., 2001
Cotia – SP	Savani et al., 2004
Rio de Janeiro – RJ	Schubach et al., 2004
Campo Grande – MS	De Souza et al., 2005
Araçatuba – SP	Rossi, 2007
Rio de Janeiro – RJ	Da silva et al., 2008
Araçatuba – SP	Serrano et al., 2008
Rio Pardo – MS	De Souza et al., 2009
Barra Mansa – RJ	Figueiredo et al., 2009
Araçatuba – SP	Costa et al., 2010
Andralina – SP	Coelho et al., 2010
Araçatuba – SP	Bresciani et al., 2010
Belo Horizonte – MG	Silva et al., 2010
Araçatuba – SP	da Silveira Neto et al., 2011
Brasília – DF	Marodin et al., 2011
Araçatuba – SP	Vides et al., 2011
Andralina – SP	Coelho et al., 2011
Araçatuba – SP	Sobrinho et al., 2012
Pirassununga e São Lourenço da Serra – SP	Benvença et al., 2013
Araçatuba – SP	Cardia et al., 2013
Araçatuba – SP	Rossi et al., 2013
Teresina – PI	Mendonça et al., 2014
Petrolina – PE	Silva et al., 2014
Pirassununga – SP	Benassi, 2015
Campo Grande – MS	Noé et al., 2015
Campo Grande – MS	Metzdorf et al., 2015
Belém – PA	Oliveira et al., 2015
Ilha Solteira – SP	Alves, 2016
Campo Grande – MS	Antunes et al., 2016
Cascavel – PR	Godoi et al., 2016
Araguaína – TO	Sousa et al., 2017
Sousa – PB	Arruda et al., 2017
Campo Grande – MS	Metzdorf et al., 2017
Belo Horizonte – MG	Coura et al., 2018

Os agentes etiológicos envolvidos na infecção de felinos domésticos no Brasil são *L. amazonensis* (DE SOUZA et al. 2005; SOUZA et al. 2009) *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004; FIGUEIREDO et al. 2008), sendo a *L. infantum* a espécie mais frequentemente encontrada (SAVANI et al. 2004; COELHO et al. 2010;

OLIVEIRA et al, 2015; SOUZA S.A.P. 2017). Portanto, pode-se afirmar que os felinos domésticos estão susceptíveis a serem infectados pelas mesmas espécies de *Leishmania* encontradas em outras espécies animais na mesma área geográfica (PENNISI et al., 2015).

Fatores de risco associados a infecção por *Leishmania* spp. em felinos

Os felinos têm demonstrado uma resistência natural frente à infecção por *Leishmania* que vem sendo sugerida pela cura espontânea da lesão, que muitas vezes é caracterizada pelo mínimo ou limitadas alterações patológicas (NAVARRO et al., 2010; SIMÕES-MATTOS et al., 2005). Por outro lado, tem sido proposto uma associação entre o carcinoma de células escamosas e a multiplicação de *Leishmania* nos tecidos, resultando no desenvolvimento da neoplasia, ou vice-versa (SOARES et al., 2015).

O perfil dos felinos infectados por *Leishmania* spp. parece apresentar uma relação semelhante (SIMÕES-MATTOS et al., 2005; SOBRINHO et al. 2012; PIRAJÁ et al. 2013) ao que tem sido observada em humanos infectados com a síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e a ocorrência de doenças oportunistas, (de SOUSA FILHO et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2014),

Neste sentido a Imunodeficiência Felina (FIV) e / ou vírus da leucemia felina (FeLV) têm sido apontadas como fatores predisponentes da leishmaniose felina devido a imunossupressão resultante (PENNISI et al., 2002; SIMÕES-MATTOS et al., 2005; COSTA et al., 2010). Em alguns estudos uma alta positividade (~70%) de leishmaniose felina e FIV (PENNISI et al., 2002) ou mesmo uma correlação significativa com leishmaniose e FIV (SOBRINHO et al., 2012) e FeLV (SHERRY et al., 2011) foram detectadas.

Em contrapartida, outros estudos contradizem essa correlação entre FIV e/ou FeLV e leishmaniose, pois tais enfermidades não foram observadas como fator promotor para desencadear a leishmaniose felina (OZON et al., 1998; BOURDOISEAU et al., 2011; COELHO et al., 2011).

Em relação a infecção por *Toxoplasma gondii*, dos quais os felinos domésticos são hospedeiros definitivos, na maioria dos estudos não foi observada uma correlação

positiva entre as duas enfermidades (NASEREDDIN et al., 2008; CARDOSO et al., 2010; COELHO et al., 2011; SHERRY et al., 2011).

Sinais clínicos

Os felinos domésticos podem apresentar sinais clínicos variados perante a infecção por *Leishmania* sp. como também podem ser assintomáticos (OLIVEIRA et al., 2015). A apresentação clínica mais comum da doença é o comprometimento cutâneo, caracterizada por lesões ulceradas e nodulares em plano nasal e pavilhão auricular, além de alopecia e descamação (SCHUBACH et al. 2004; SOUZA et al. 2009; SOBRINHO et al. 2012). Também podem ser observados sinais clínicos sistêmicos, como linfadenomegalia, lacrimejamento ocular e úlceras orais (MARONDIN et al. 2011; NOE et al. 2015; METZDORF et al. 2017).

Estudos demonstraram ulcera cutânea no plano nasal (SCHUBACH et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 2008) ou dorso do nariz, lesão vegetativa na mucosa nasal (SCHUBACH et al., 2004), lesões em orelhas e nariz (SIMÕES-MATOS et al., 2005), linfadenomegalia (SIMÕES-MATOS et al., 2005; FIGUEIREDO et al., 2008), nariz e plano nasal edemaciados, apatia, desnutrição, desidratação e mucosas oral e ocular hipocoradas (FIGUEIREDO et al., 2008) em felinos infectados com *L. braziliensis*.

Nas infecções de felinos domésticos por *L. amazonenses* foi observada lesão nodular única no nariz e nódulos de diferentes tamanhos nas orelhas e nas regiões distais de todas as patas (SOUZA et al., 2005), lesões ulceradas e hemorrágicas em focinho e nódulos de tamanhos variados nas bordas de ambas as orelhas (SOUZA et al., 2009).

As alterações dermatológicas (BRESCIANI et al., 2010; SILVA et al., 2014; ALVES et al., 2016; SOUSA, 2017) observadas em infecções por *L. infantum* foram lesão de orelha (ALVES et al., 2016), lesão nodular no nariz (SAVANI et al., 2004), dermatites extensas com formação de crostas, pequenas úlceras na face, e também nas regiões palmar e plantar dos membros posteriores (COELHO et al., 2010), lesões na cabeça, membros, no tronco dorsal, cauda, abdômen, cervical e ponta do nariz (VIDES et al., 2011), descamação e úlceras com crostas hemorrágicas (SOBRINHO

et al., 2008), alopecia (SOBRINHO et al., 2008; ANTUNES et al., 2016; METZDORF et al., 2017).

Em felinos infectados por *L. infantum* também foram observadas úlceras orais (METZDORF et al., 2017), complexo gengivite estomatite, secreção nasal (METZDORF et al., 2017), alterações oftálmicas como lesão ocular (ALVES et al., 2016; SOUSA, 2017), lacrimejamento ocular bilateral (NOÉ et al., 2005), mucosa ocular com secreção mucopurulenta (VIDES et al., 2011; METZDORF et al., 2017), distúrbios sistêmicos como desidratação (SAVANI et al., 2004; SOBRINHO et al., 2008; VIDES et al., 2011), caquexia (MENDONÇA et al., 2014; ALVES et al., 2016), perda de peso (SOBRINHO et al., 2008; VIDES et al., 2011; METZDORF et al., 2017), mucosas hipocoradas (MARODIN et al., 2011; ALVES et al., 2016), diarreia, (VIDES et al., 2011), esplenomegalia, hepatomegalia, (SOUSA, 2017), hiperplasia de linfonodo inguinal (ANTUNES et al., 2016), linfadenomegalia (SAVANI et al., 2004; SOBRINHO et al., 2008; MARODIN et al., 2011; VIDES et al., 2011; SOUSA, 2017), bem como alguns felinos apresentaram-se assintomáticos (SILVA et al., 2008).

Métodos de diagnóstico

O exame parasitológico direto do linfonodo, particularmente poplíteo, por citologia aspirativa tem se demonstrado como mais sensível em comparação com a citologia de outros órgãos, como a medula óssea, baço ou fígado (COSTA et al., 2010).

A cultura de espécies de *Leishmania* é um método direto adicional que pode ser utilizado, mas possui algumas desvantagens, pois apresenta baixa sensibilidade e por se tratar de um teste demorado, leva muito tempo para obter resultados (POCHOLLE et al., 2012). Devido à baixa parasitemia nos felinos domésticos alguns autores não consideram o sangue uma amostra sensível para cultura, podendo ser usadas amostras de medula óssea ou linfonodo (MARTÍN-SANCHÉZ et al., 2007).

Dentre as técnicas sorológicas utilizadas para cães, o exame de triagem recomendado pelo Ministério da Saúde é o Dual Path Platform (DPP®) - BioManguinhos/Fundação, um teste rápido imunocromatográfico que utiliza a proteína recombinante K39 como antígeno, e o ELISA como teste confirmatório (BRASIL, 2006).

Estudos demonstram que na LF os títulos de anticorpos anti-*Leishmania* permanecem baixos, o que pode ser resultado da resposta imune celular

potencialmente predominante nessa espécie animal (VITA et al., 2005; MARCOS et al., 2009; MAIA et al., 2010; LONGONI et al., 2012; SOBRINHO et al., 2012). Portanto, testes sorológicos não são considerados os mais confiáveis para o diagnóstico de leishmaniose na espécie felina (MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007), como demonstrado na tabela 2. Rossi e colaboradores (2013) afirmam que o diagnóstico sorológico deve ser usado com cautela e, se possível, em combinação com o diagnóstico parasitológico.

As técnicas moleculares apresentam uma maior sensibilidade e especificidade para o diagnóstico de infecção natural de felinos domésticos por *Leishmania* sp., permitindo ainda a confirmação da espécie envolvida na infecção através do sequenciamento genético (SOLANO-GALLEGO et al., 2007; GRAMICCIA, 2011; PENNISI et al., 2013). Esse método é uma excelente opção para confirmar o diagnóstico em casos suspeitos e para detecção do parasita em pacientes assintomáticos (GRAMICCIA, 2005).

Para o diagnóstico molecular pode-se utilizar fragmentos de pele, mucosas, sangue periférico, medula óssea, órgãos do sistema fagocítico-mononuclear (BRASIL, 2011) ou swabs de conjuntiva ocular. A coleta de amostras da conjuntiva tem se mostrado um método simples, eficaz, menos invasivo e pouco estressante para os felinos domésticos (OLIVEIRA et al., 2015).

O teste laboratorial que tem se demonstrado mais sensível é a demonstração do parasito em material de biópsia ou punção aspirativa de tecidos, como de baço, sendo mais sensível que de medula óssea (GONTIJO, 2004). A tabela 2 descreve os métodos de diagnóstico utilizados no Brasil nos últimos 10 anos e suas respectivas prevalências.

Tabela 2. Métodos de diagnóstico utilizados no Brasil nos últimos 10 anos.

Técnica	Prevalência (%)	Referência
Citologia	8/200 (4,0)	Rossi, 2007
ELISA	6/200 (3,0)	
RIFI	1/200 (0,5)	
RIFI	2/8 (25,0)	da Silva et al., 2008
PCR	2/8 (25,0)	
RIFI	0/43 (0,0)	Figueiredo et al., 2009
ELISA	1/43 (2,4)	
Citologia	8/200 (4,0)	Costa et al., 2010
ELISA	23/200 (11,5)	
Citologia	2/283 (0,7)	Bresciani et al., 2010
RIFI	0/283 (0,0)	
ELISA-CAG	26/113 (23,0)	da Silveira Neto et al., 2011
ELISA-FML	15/113 (13,3)	
ELISA-rK39	18/113 (15,9)	
ELISA	14/55 (25,4)	Vides et al., 2011
RIFI	6/55 (10,9)	
IH	9/55 (16,4)	
Citologia	10/55 (18,2)	
Citologia	30/302 (9,9)	Sobrinho et al., 2012
ELISA	39/302 (12,9)	
RIFI	14/302 (4,6)	
RIFI	3/7 (42,8)	Benvença et al., 2013
PCR	2/7 (28,6)	
ELISA – IgG	23/200 (11,5%)	Rossi et al., 2013
ELISA A	6/200 (3,0%)	
RIFI	1/200 (0,5%)	
Citologia	8/ 200 (4%)	
PCR	8/ 200 (4%)	
RIFI	18/443 (4,06)	Oliveira et al., 2015
TAD	25/443 (5,64)	
RIFI	22/84 (26,2)	Sousa et al., 2017
PCR	5/113 (4,4)	
Citologia	3/57 (5,3)	
RIFI	54/100 (54)	Coura et al., 2018
Citologia	0/100 (0,0)	
Cultura	0/100 (0,0)	
PCR	0/100 (0,0)	

ELISA: ensaio imunoenzimático, ELISA-CAG: ELISA de antígeno bruto, ELISA-FML: ELISA de antígeno do ligante fucose-manose, ELISA-rK9: ELISA de antígeno K39 recombinante, IH: imunohistoquímica, RIFI: teste de imunofluorescência indireta, PCR: reação em cadeia de polimerase, TAD: teste de aglutinação direta.

Tratamento e profilaxia

Poucos relatos na literatura trazem informações a respeito do tratamento da leishmaniose em felinos, fato esse que pode ser justificado pela falta de estudos sobre o comportamento da doença nestes animais, fazendo com que os felinos domésticos ainda não pertençam a cadeia de transmissão desta enfermidade. Alguns estudos empíricos realizados fora do Brasil mostram que o mesmo tratamento utilizado em cães é seguro e eficaz para o tratamento dos felinos (Leishvet guidelines, 2016).

Dentre os poucos relatos descritos, Basso et al. (2016) demonstraram sucesso no tratamento de um animal em Portugal utilizando alopurinol e antimoniato de meglumina. Porém, como não se tem segurança sobre o uso desses medicamentos em gatos, recomenda-se o monitoramento rigoroso do animal por meio de exames laboratoriais regulares (PENNISI et al., 2015).

Embora a terapia combinada de antimoniato de meglumina e alopurinol seja a primeira opção de protocolo terapêutico em cães na Europa, o uso de N-metil-glucamina (Glucantime®) é proibido no Brasil de acordo com a Portaria Interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008. No entanto, em 2016, o Ministério da Saúde juntamente com o Ministério da Agricultura aprovou para comercialização no Brasil um fármaco para o tratamento da leishmaniose visceral canina, o Milteforan™, porém ainda não há estudos sobre o uso dessa medicação para o tratamento da LF.

Como não há nenhuma informação preventiva específica para gatos, a profilaxia baseia-se de forma semelhante ao que é estipulado para os cães, com o uso de inseticidas tópicos. Como a maioria dos piretróides é tóxico para os gatos, os colares de fumetrina são, atualmente, a única formulação piretróide licenciada para gatos (Leishvet guidelines, 2016). Estudos em cães sugerem que este colar age tanto para reduzir o risco de infecção em áreas endêmicas tanto para limitar a infecção nos animais já positivos (PENNISI et al., 2015).

REFERÊNCIAS

ALENCAR, J. E. et al. **Leishmaniose visceral (Calazar)**. In: VERONEZI, R. **Doenças infecciosas e parasitárias**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. p. 706-717.

BENASSI, J. C. **Detecção de Leishmania spp. por PCR em tempo real em amostras de suabe conjuntival de cães, gatos e equinos**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo. 2015.

BOLETIM EPIDEMIOLÓGICO PAULISTA – BEPA. Classificação epidemiológica dos municípios para a leishmaniose visceral americana. Estado de São Paulo, abril de 2008, v. 5, n. 52, p. 20-26, 2008

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**. 2.ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2007. p. 1-30.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. In: **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana**; Brasília; 2010: 180 p.

CARDIA, D. F. et al. Prevalence of Toxoplasma gondii and Leishmania spp. infection in cats from Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 197, n. 3-4, p. 634-637, 2013.

CASTRO, A. G. **Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (calazar)**. 2. ed. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 1996. 88 p.

CENTRO DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DO ESTADO DE SÃO PAULO – CVE. **Casos confirmados de Leishmaniose Visceral segundo LPI e ano de notificação**. Estado de São Paulo, 2014 a 2018. 2018. Disponível em: <<http://www.cve.saude.sp.gov.br/cve-centro-de-vigilancia-epidemiologica-prof.-alexandre-vranjac/zoonoses/leishmaniose-visceral/dados-estatisticos>>. Acesso em: 09 set. 2018.

CHAGAS, E. et al. Leishmaniose visceral americana. II. Estudos epidemiológicos. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 33, n. 1, p. 138-206, 1938.

COELHO, W. M. D. et al. Occurrence of Leishmania (Leishmania) chagasi in a domestic cat (Felis catus) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 256-258, 2010.

COELHO, W. M. et al. Molecular detection of Leishmania sp. in cats (Felis catus) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 176, n. 2-3, p. 281-282, 2011.

COSTA, T. A. C. et al. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 212-217, 2010.

COURA, F. M. et al. Serological, molecular, and microscopic detection of Leishmania in cats (Felis catus) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 4, p. 570-574, 2018.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 352-356, 2006.

DE SOUSA FILHO, M. P. et al. Pacientes vivendo com HIV/AIDS e coinfeção tuberculose: dificuldades associadas à adesão ou ao abandono do tratamento. **Revista Gaúcha de Enfermagem**, v. 33, n. 2, p. 139-145, 2012.

FIGUEIREDO, F. B. et al. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-Leishmania em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. **Revista Sociedade Brasileira Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, p. 141-5, 2009.

GODOI, N. F. C. et al. Prevalência de anticorpos anti-Leishmania infantum em felinos domésticos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 1, 2016.

GÓES, M. A. O. et al. Urbanização da leishmaniose visceral: aspectos clínicos e epidemiológicos em Aracaju, Sergipe, Brasil. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 9, n. 31, p. 119-126, 2014.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 338-349, 2004.

GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary parasitology**, v. 181, n. 1, p. 23-30, 2011.

LONGONI, S. S. 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 and infectious diseases**, v. 35, n. 5, p. 469-476, 2012.

MAIA, C. et al. Feline *Leishmania infection* in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. **Veterinary Parasitology**, v.174, p.336-340, 2010.

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

MARODIN, N. B. Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pela *Leishmania* spp. nos felinos domésticos de uma região periurbana Distrito Federal. 2011. Dissertação (Mestrado) Brasília: Universidade de Brasília, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2011.

MARTÍN-SÁNCHEZ, J. et al. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. **Veterinary parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 267-273, 2007.

MENDONÇA, I. L. et al. *Leishmania* sp em gatos domésticos (*Felis catus*) no município de Teresina-PI. **35º CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA**. Belo Horizonte, MG 2014.

METZDORF, I. P. et al. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121-125, 2017.

NASEREDDIN, A. et al. Feline leishmaniasis in Jerusalem: serological investigation. **Veterinary Parasitology**, v. 158, n. 4, p. 364-369, 2008.

NAVARRO, J. A. et al. Histopathological lesions in 15 cats with leishmaniosis. **Journal of comparative pathology**, v. 143, n. 4, p. 297-302, 2010.

NETO, L. S. et al. Clinical and epidemiological aspects of feline leishmaniasis in Brazil. **Semina. Ciências Agrárias**, p. 1467-1480, 2015.

NOÉ, P. et al. Detection of *Leishmania chagasi* in cats (*Felis catus*) from viscera leishmaniasis endemic area in Brazil. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4, p. 3-14, 2015.

OLIVEIRA, G. C. et al. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 464-470, 2015.

OLIVEIRA, S. B. de et al. HIV/AIDS coinfection with the hepatitis B and C viruses in Brazil. **Cadernos de saude publica**, v. 30, p. 433-438, 2014.

OTRANTO D.. Canine vector borne disease of human concern. **International scivac congresso**, 2013.

OZON, C. et al. Disseminated feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Southern France. **Veterinary Parasitology**, v. 75, n. 2, p. 273-277, 1998.

PENNISI, M. G. et al. Studio dell'infezione de *Leishmania* mediante PCR in gatti che vivono in zona endemica. **Atti della Società Italiana delle Scienze Veterinarie**, Veneza, v. 54, p. 215-216, 2000.

PENNISI, M. G. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. **Canine Leishmaniasis: moving towards a solution**, p. 39-48, 2002.

PENNISI, M. G. et al. Case report of leishmaniasis in four cats. **Veterinary research communications**, v. 28, n. 1, p. 363-366, 2004.

PENNISI, M. G. et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & vectors**, v. 8, n. 1, p. 1, 2015.

PIRAJÁ, G. V. et al. Leishmaniose Felina-Revisão de Literatura. **Veterinária e Zootecnia**, v. 20, n. 2, p. 203-216, 2013.

PITTNER, E. et al. Ocorrência de leishmaniose tegumentar em cães de área endêmica no Estado do Paraná Occurrence of cutaneous leishmaniasis in dogs of endemic area, Paraná State. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 61, n. 3, p. 561-565, 2009.

POCHOLLE, E. et al. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. **Parasite**, v. 19, n. 1, p. 77, 2012.

ROSSI, C. N. Ocorrência de *Leishmania* sp. em gatos do município de Araçatuba-São Paulo-Brasil. 2007. **Dissertação (Mestrado)** Jaboticabal: Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, UNESP, 2007.

ROSSI, C. N. et al. Comparison among enzyme-linked immunosorbent assay with two distinct conjugates and indirect fluorescent antibody test for the diagnosis of feline visceral leishmaniasis. In: **world congress on leishmaniasis**, 5., 2013, Porto de Galinhas, Pernambuco. Abstract Book... Porto de Galinhas, Pernambuco, Brasil: Wolrd Congress on Leishmaniasis, 2013. p. 565.

SAVANI, E. S. M. M. 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. **Veterinary parasitology**, v. 120, n. 3, p. 229-233, 2004.

SCHUBACH, T. M. P. et al. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, London, v. 98, n. 3, p. 165-167, 2004

SERRANO, A. C. M., et al. Leishmaniose em felino na zona urbana de Araçatuba - SP - relato de caso. **Revista Clínica Veterinária**, v.76, p.36-40, 2008.

SHERLOCK, I. A. Ecological interactions of visceral leishmaniasis in the States of Bahia, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro**, v. 91, n. 6, p. 671-683, 1996.

SILVA, A. V. M. Da et al. The first record of american visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 105, n. 1, p. 92-94, 2008.

SILVA, F. L. et al. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary parasitology**, v. 160, n. 1, p. 55-59, 2009.

SILVA, R. C. N. et al. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the State of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 108-109, 2014.

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, p. 150-154, 2010.

SILVEIRA-NETO, L. et al. Use of crude, FML and rK39 antigens in ELISA to detect anti-*Leishmania* spp. antibodies in *Felis catus*. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 177, n. 3-4, p. 374-377, 2011.

SIMÕES-MATTOS, L. et al. Survey of anti-*Leishmania chagasi* antibodies in stray cats (*Felis catus*) in the city of Fortaleza, Northeast of Brazil. **Revista Ciência Animal, Santa Maria**, v. 11, p. 79- 81, 2001. Supplement 2.

SIMÕES-MATTOS, L. et al. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. **Veterinary parasitology**, v. 127, n. 3, p. 199-208, 2005.

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, p. 302-306, 2012.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 76, n. 4, p. 676-680, 2007.

SOUSA, S. A. P. et al. Diagnóstico de leishmaniose em *Felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil. 2017. Dissertação (Mestrado) Goiânia: Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2017.

SOUZA, A. I. de et al. Feline leishmaniasis due to *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, Amsterdam, v. 128, n. 1-2, p. 41-45, 2005.

SOUZA, A. I. de 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, 2009. Available at: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1678-91992009000200017&lng=en&nrm=iso>. Accessed at: 01 apr. 2014.

VALE, E. C. S.; FURTADO, T. Leishmaniose tegumentar no Brasil: revisão histórica da origem, expansão e etiologia Tegumentary leishmaniasis in Brazil: a historical review related to the origin, expansion and etiology. **Anaia Brasileiros de Dermatologia**, v. 80, n. 4, p. 421-8, 2005.

VITA, S. et al. Feline leishmaniasis and ehrlichiosis: serological investigation in Abruzzo region. **Veterinary research communication**, v. 29, p. 319-321, 2005.