



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

## **Leishmaniose canina**

Joana Carolina Ferreira da Silva

Orientador(es) | Helder Cortes

Sofia Isabel Borrvalho Piteira

Évora 2025

---

---

---

---



**Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia**

**Mestrado Integrado em Medicina Veterinária**

Relatório de Estágio

## **Leishmaniose canina**

Joana Carolina Ferreira da Silva

Orientador(es) | Helder Cortes

Sofia Isabel Borrvalho Piteira

Évora 2025

---

---

---

---

---



O relatório de estágio foi objeto de apreciação e discussão pública pelo seguinte júri nomeado pelo Diretor da Escola de Ciências e Tecnologia:

Presidente | Sónia Lucena (Universidade de Évora)

Vogais | Helder Cortes (Universidade de Évora) (Orientador)  
Jacinto José Carneiro Gomes (Instituto Politécnico de Portalegre - Escola Superior Agrária de Elvas) (Arguente)

## **Agradecimentos**

Ao meu orientador interno, Professor Doutor Helder Cortes, pela paciência, dedicação e orientação. A sua experiência e sabedoria foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho, assim como a sua disponibilidade para discutir ideias e compartilhar conhecimento.

À minha orientadora externa, Dra Sofia Piteira, por tudo o que me ensinou e proporcionou durante o período de estágio. O meu sincero agradecimento.

A toda a equipa da Vetbeirão pelos momentos vividos durante o estágio, repletos de aprendizagem, amizade e companheirismo. Foi um privilégio poder estagiar convosco.

Aos meus pais, por toda a dedicação, amor, apoio, educação e valores que me transmitiram ao longo da vida. Por tudo isso e muito mais serei eternamente grata. À minha irmã, pela paciência, carinho e amizade. És um exemplo e uma inspiração para mim. Ao André, por todo o amor, cumplicidade e apoio. Obrigada por acreditares sempre em mim. À Inês, que foi uma das melhores amigas que fiz em Évora e que vou levar para a vida. Sem o vosso apoio e incentivo nada disto seria possível.

A todos os meus familiares e amigos que, de uma maneira ou de outra, me acompanharam e apoiaram durante este percurso académico. Obrigada por tudo!

## Resumo

O presente relatório surge na sequência do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Évora, realizado na Clínica Veterinária Vetbeirão, na área da clínica e cirurgia de animais de companhia. A primeira parte deste relatório descreve as atividades e casuística acompanhada durante o estágio. A segunda parte consiste na revisão bibliográfica sobre o tema “Leishmaniose Canina”, seguida da descrição e discussão de dois casos clínicos acompanhados no estágio. A Leishmaniose é uma zoonose endémica em Portugal provocada por *Leishmania infantum* e transmitida por flebótomos. O principal hospedeiro é o cão, no qual se pode desenvolver uma doença multissistémica com sintomatologia variada e de diagnóstico complexo. O tratamento tem como objetivo a remissão dos sinais clínicos e controlo da infeção, no entanto não é possível obter uma cura parasitológica. É essencial adotar medidas preventivas e de imunoprofilaxia para reduzir a incidência desta doença.

**Palavras-chave:** Leishmaniose; Flebótomo; Cão; Diagnóstico; Prevenção.

## **Abstract**

### **Canine Leishmaniasis**

The present report follows the curricular internship of the Integrated Master's Degree in Veterinary Medicine at the University of Évora, held at the Vetbeirão Veterinary Clinic, focusing on small animal clinical practice and surgery. The first part of this report describes the activities and caseload followed during the internship. The second part consists of a literature review on "Canine Leishmaniasis" followed by the description and discussion of two clinical cases observed during the internship. Leishmaniasis is a zoonosis endemic in Portugal caused by *Leishmania infantum* and transmitted by sandflies. The main host is the dog, in which a multisystemic disease with varied symptoms and complex diagnosis may develop. The treatment aims to reduce clinical signs and control the infection; however, it is not possible to achieve parasitological cure. It is essential to adopt preventive and immunoprophylactic measures to reduce the incidence of this disease.

**Keywords:** Leishmaniasis; Sandfly; Dog; Diagnosis; Prevention

# Índice Geral

Resumo.....	ii
Abstract .....	iii
Índice de Figuras.....	viii
Índice de Gráficos.....	viii
Índice de Tabelas .....	viii
Lista de Abreviaturas e Símbolos .....	ix
Introdução.....	1
<b>I. RELATÓRIO DA CASUÍSTICA .....</b>	<b>2</b>
1. Distribuição da Casuística por Espécie Animal .....	2
2. Distribuição da Casuística por Área Clínica.....	3
3. Distribuição Casuística da Clínica Médica .....	3
3.1. Gastroenterologia e Glândulas Anexas .....	6
3.2. Urologia e Nefrologia .....	7
3.3. Ortopedia e Traumatologia.....	8
3.4. Doenças Infeciosas, Parasitárias e Micóticas .....	9
3.5. Oncologia .....	10
3.6. Pneumologia .....	10
3.7. Oftalmologia .....	11
3.8. Dermatologia.....	12
3.9. Cardiologia .....	13
3.10. Endocrinologia.....	13
3.11. Neurologia.....	14
3.12. Urgências.....	15
3.13. Otorrinolaringologia .....	16
3.14. Hematologia .....	16

3.15. Odontoestomatologia .....	17
3.16. Reprodução/Ginecologia/Andrologia .....	17
3.17 Procedimentos Médicos .....	17
3.18 Exames Complementares de Diagnóstico .....	18
4. Distribuição Casuística da Clínica Cirúrgica .....	19
4.1. Cirurgia Geral e Tecidos Moles.....	21
4.2. Cirurgia Ortopédica .....	21
5. Distribuição Casuística da Medicina Preventiva .....	22
<b>II. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA SOBRE LEISHMANIOSE CANINA .....</b>	<b>23</b>
1. Introdução.....	23
2. Etiologia .....	24
2.1. Formas parasitárias .....	25
3. Vetor Biológico.....	26
3.1. Morfologia .....	27
3.2. Ciclo de vida .....	28
3.3. Comportamento .....	29
3.4. Distribuição .....	30
4. Hospedeiro Vertebrado .....	31
5. Ciclo de Vida da <i>Leishmania</i> .....	31
5.1. Ciclo de Vida no Vetor .....	32
5.2. Ciclo de Vida no Hospedeiro Vertebrado .....	35
6. Transmissão .....	35
7. Suscetibilidade .....	36
8. Epidemiologia .....	37
8.1. Leishmaniose em Portugal .....	38
9. Resposta Imune.....	40
10. Patogenia .....	44
11. Formas clínicas .....	48

12. Sintomatologia e Lesões.....	49
12.1. Lesões Cutâneas.....	50
12.2. Lesões Nasais .....	52
12.3. Linfadenopatia .....	53
12.4. Lesões Renais .....	53
12.5. Lesões Oculares .....	55
12.6. Lesões Esplênicas .....	57
12.7. Lesões Hepáticas.....	57
12.8. Lesões na Medula Óssea .....	58
12.9. Lesões nos Ossos, Músculos e Articulações .....	59
12.10. Outras lesões.....	60
13. Alterações Laboratoriais.....	60
13.1. Alterações no Hemograma .....	60
13.2. Alterações nas Análises Bioquímicas Séricas .....	62
13.3. Alterações na Urinálise.....	63
13.4. Alterações nos fluídos corporais.....	63
14. Diagnósticos diferenciais .....	64
15. Métodos de diagnóstico.....	64
16. Estadiamento.....	68
17. Tratamento.....	70
17.1. Alopurinol .....	71
17.2. Compostos antimoniais pentavalentes .....	72
17.3. Miltefosina.....	73
17.4. Domperidona .....	75
17.5. Aminosidina .....	75
17.6. Anfotericina B .....	75
17.7. Marbofloxacina.....	76
18. Monitorização .....	77
19. Prognóstico .....	79
20. Prevenção e profilaxia.....	79

20.1. Controlo de vetores .....	79
20.1.1. Coleiras .....	80
20.1.2. Spot-On .....	80
20.1.3. Sprays.....	80
20.1.4. Controlo ambiental de vetores.....	81
20.2. Imunoprofilaxia .....	81
21. Considerações de Saúde Pública.....	83
<b>III. CASOS CLÍNICOS</b> .....	84
Caso Clínico I - Yuri.....	84
1. Identificação .....	84
2. Anamnese .....	84
3. Exame físico.....	85
4. Exames Complementares .....	86
5. Diagnóstico.....	88
6. Prognóstico.....	88
7. Tratamento e Evolução clínica .....	88
Caso Clínico II - Rosinha.....	90
1. Identificação .....	90
2. Anamnese .....	90
3. Exame físico.....	90
4. Exames Complementares .....	91
5. Diagnóstico Definitivo.....	93
6. Prognóstico.....	93
7. Tratamento e Evolução Clínica .....	93
Discussão dos Casos Clínicos .....	94
Conclusão .....	101
Bibliografia.....	103

## Índice de Figuras

<b>Figura 1.</b> Esquema representativo da classificação do género <i>Leishmania</i> e dos seus três subgéneros.....	25
<b>Figura 2.</b> Formas morfológicas da <i>Leishmania</i> .....	26
<b>Figura 3.</b> Flebótomo fêmea sobre a pele de um hospedeiro .....	27
<b>Figura 4.</b> Representação esquemática dos estádios dos flebótomos .....	29
<b>Figura 5.</b> Ciclo de vida da <i>Leishmania</i> no intestino do flebótomo .....	34
<b>Figura 6.</b> Mapa da distribuição mundial da <i>Leishmania</i> em 2022 .....	38
<b>Figura 7.</b> Contraste entre a resposta Th1 e a Th2 na infeção por <i>Leishmania</i> .....	43
<b>Figura 8.</b> Entrada silenciosa da <i>Leishmania</i> nas células hospedeiras .....	46
<b>Figura 9.</b> Lesões cutâneas na região periorbitária de um cão com Leishmaniose .....	51
<b>Figura 10.</b> Hiperqueratose no nariz de um cão com Leishmaniose .....	51
<b>Figura 11.</b> Onicogribose num cão com Leishmaniose .....	51
<b>Figura 12.</b> Alterações hematológicas mais comuns observadas no sangue periférico de cães infetados com <i>L. infantum</i> .....	62
<b>Figura 13.</b> Citologia de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de medula óssea e linfonodo de cães infetados com <i>L. Infantum</i> .....	65
<b>Figura 14.</b> Promastigotas de uma cultura de <i>L. infantum</i> .....	66
<b>Figura 15.</b> IFAT de promastigotas de <i>L. infantum</i> .....	66
<b>Figura 16.</b> Fluxograma da abordagem diagnóstica a cães com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com LCan.....	68
<b>Figura 17.</b> Yuri .....	84
<b>Figura 18.</b> Lesões cutâneas do Yuri na região periorbital e perto da boca.....	86
<b>Figura 19.</b> Lesões cutâneas do Yuri sete dias após o tratamento.....	89
<b>Figura 20.</b> Rosinha.....	90
<b>Figura 21.</b> Alterações observadas no exame físico da Rosinha.....	91

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1.</b> Frequência Relativa da casuística distribuída por espécies .....	2
<b>Gráfico 2.</b> Distribuição da casuística da área da clínica médica por especialidade e por espécie .....	5
<b>Gráfico 3.</b> Distribuição da casuística na área clínica cirúrgica .....	20

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1.</b> Distribuição dos animais exóticos acompanhados .....	3
<b>Tabela 2.</b> Distribuição dos casos acompanhados pela área clínica .....	3
<b>Tabela 3.</b> Distribuição Casuística da área clínica médica por especialidade e por espécie .....	4

<b>Tabela 4.</b> Distribuição da casuística da área de Gastroenterologia e Glândulas Anexas .....	6
<b>Tabela 5.</b> Distribuição da casuística da área de Urologia e Nefrologia .....	7
<b>Tabela 6.</b> Distribuição da casuística da área de Ortopedia e Traumatologia.....	8
<b>Tabela 7.</b> Distribuição da casuística da área de Doenças Infeciosas, Parasitárias e Micóticas ....	9
<b>Tabela 8.</b> Distribuição da casuística da área de Oncologia .....	10
<b>Tabela 9.</b> Distribuição da casuística da área de Pneumologia .....	11
<b>Tabela 10.</b> Distribuição da casuística da área de Oftalmologia.....	12
<b>Tabela 11.</b> Distribuição da casuística da área de Dermatologia.....	12
<b>Tabela 12.</b> Distribuição da casuística da área de Cardiologia .....	13
<b>Tabela 13.</b> Distribuição da casuística da área de Endocrinologia .....	14
<b>Tabela 14.</b> Distribuição da casuística da área de Neurologia .....	15
<b>Tabela 15.</b> Distribuição da casuística da área de Urgências .....	15
<b>Tabela 16.</b> Distribuição da casuística da área de Otorrinolaringologia .....	16
<b>Tabela 17.</b> Distribuição da casuística da área de Hematologia .....	16
<b>Tabela 18.</b> Distribuição da casuística da área de Odontostomatologia .....	17
<b>Tabela 19.</b> Distribuição da casuística da área de Reprodução/Ginecologia/Andrologia .....	17
<b>Tabela 20.</b> Distribuição dos procedimentos médicos assistidos e realizados .....	18
<b>Tabela 21.</b> Distribuição dos exames complementares assistidos e realizados .....	19
<b>Tabela 22.</b> Distribuição da casuística acompanhada na área da clínica cirúrgica .....	19
<b>Tabela 23.</b> Distribuição da casuística da área da cirurgia geral e de tecidos moles.....	21
<b>Tabela 24.</b> Distribuição da casuística da área da Cirurgia Ortopédica .....	22
<b>Tabela 25.</b> Distribuição da casuística da área da Medicina Preventiva.....	22
<b>Tabela 26.</b> Estadiamento clínico da LCan segundo o sistema LeishVet .....	70
<b>Tabela 27.</b> Tratamento e prognóstico para cada estágio da LCan. ....	71
<b>Tabela 28.</b> Fármacos mais utilizados no tratamento da LCan .....	77
<b>Tabela 29.</b> Monitorização recomendada para a Leishmaniose Canina. ....	78
<b>Tabela 30.</b> Hemograma Completo do Yuri.....	86
<b>Tabela 31.</b> Análises bioquímicas séricas do Yuri. ....	87
<b>Tabela 32.</b> Hemograma completo da Rosinha. ....	91
<b>Tabela 33.</b> Análises Bioquímicas séricas da Rosinha. ....	92

## Lista de Abreviaturas e Símbolos

**ACTH** – Hormona adrenocorticotrópica

**A-FAST** – Avaliação Abdominal Focada com Ultrassonografia para Trauma (*Abdominal Focus Assessment with Sonography for Trauma*)

**AHCC** – Composto correlacionado com hexose ativa (*Active hexose correlated compound*)

**ALP** – Fosfatase Alcalina

**ALT** – Alanina Aminotransferase

**BID** – Duas vezes ao dia

**BUN** – Ureia (*Blood Urea Nitrogen*)

**CIC** – Complexos imunes circulantes  
**CLWG** – *Canine Leishmaniasis Working Group*  
**CMH II** – Complexo de histocompatibilidade maior classe II  
**DNA** – Ácido desoxirribonucleico  
**ELISA** – Ensaio imunoenzimático por ligação de enzimas (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)  
**FeLV** – Vírus da Leucemia Felina  
**FIV** – Vírus da Imunodeficiência Felina  
**Fr** – Frequência Relativa  
**GGT** – Gama glutamil transferase  
**GP63** – Glicoproteína maior de superfície  
**HIV** – Vírus da imunodeficiência humana  
**IFAT** – Teste de imunofluorescência indireta (*indirect immunofluorescent antibody test*)  
**IFN- $\gamma$**  – Interferão gama  
**Ig** – Imunoglobulinas  
**IL** – Interleucina  
**IM** – Intramuscular  
**IRIS** – Sociedade Internacional de Interesse Renal (*International Renal Interest Society*)  
**IV** – Endovenoso  
**LPG** – Lipofosfoliglicano Glicoconjugado  
**n<sub>i</sub>** – Frequência absoluta  
**NK** – Células Natural Killer  
**NO** – Óxido nítrico  
**OMS** – Organização Mundial de Saúde  
**PAAF** – Punção aspirativa por agulha fina  
**PAMPs** – *Pathogen-associated molecular pattern*  
**PCR** – Reação em cadeia da polimerase  
**PO** – Via oral (*per os*)  
**PS** – Fosfatidilserina  
**PSG** – Gel Secretório Promastigota  
**ROS** – Espécies reativas de oxigênio  
**RPC** – Rácio proteína-creatinina  
**SC** – Via subcutânea  
**SDMA** – *Symmetric Dimethylarginine*  
**SID** – uma vez ao dia  
**Slc11c1** – *Solute carrier family 11 member a1*

**T4** – Tiroxina

**Th** – *T helper*

**T-FAST** – Avaliação Torácica Focada com Ultrassonografia para Trauma (*Thoracic Focus Assessment with Sonography for Trauma*)

**TGF- $\beta$**  – Fator de transformação do crescimento beta

**TNF- $\alpha$**  – Fator de necrose tumoral alfa

**TPLO** – Osteotomia de Nivelamento do Plateau Tibial (*Tibial Plateau Leveling Osteotomy*)

**Treg** – Células T reguladoras

**TSH** – Hormona estimulante da tiroide

## **Introdução**

O presente relatório foi elaborado no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, sob a orientação interna do Professor Helder Cortes e orientação externa da Dra. Sofia Isabel Borralho Piteira e tem como objetivo descrever as atividades realizadas ao longo do estágio na Clínica Veterinária Vetbeirão.

O estágio foi realizado entre 18 de setembro e 31 de dezembro de 2023, na Clínica Veterinária Vetbeirão, situada na cidade de Castelo Branco, em Portugal. A clínica Vetbeirão, fundada em 1995, apresenta mais de 25 anos de experiência em diversas áreas da Medicina Veterinária. A clínica dispõe de quatro consultórios, sendo um deles exclusivo para gatos e espécies exóticas, um laboratório, uma área de internamento e uma área de banhos e tosquiadas. Adicionalmente, possui um bloco cirúrgico devidamente equipado, uma sala de preparação cirúrgica e um espaço dedicado à limpeza e esterilização do material cirúrgico. A clínica conta também com áreas dedicadas à realização de exames imagiológicos de diagnóstico, como radiografias e ecografias.

O estágio curricular proporcionou o contato próximo com as diversas componentes desenvolvidas na clínica. A estagiária teve oportunidade de alternar entre as áreas de cirurgia, anestesia, internamento, consultas e imagiologia. Os turnos foram realizados semanalmente, das 10h às 20h. Durante os turnos, a estagiária acompanhava os médicos e enfermeiros, observando e participando em vários procedimentos veterinários, nas diversas áreas da clínica, o que permitiu o desenvolvimento de diversas competências e a consolidação de conhecimentos adquiridos durante o curso.

A recolha de informação durante o período de estágio permitiu a realização do presente relatório que se encontra dividido em três componentes. A primeira componente consiste na descrição da casuística acompanhada durante o estágio, nas diversas áreas e especialidades da Medicina Veterinária. A segunda parte é composta por uma revisão bibliográfica pormenorizada sobre a “Leishmaniose Canina”. Por último, na terceira parte, é feita a apresentação e discussão de dois casos clínicos acompanhados pela estagiária durante o período de estágio, que retratam o tema desenvolvido na monografia.

# I. Relatório da casuística

Esta componente do relatório consiste numa análise estatística dos diferentes casos acompanhados ao longo do estágio curricular realizado na Clínica Vetbeirão. A análise estatística reflete a rotação da estagiária, pelo que os valores não são representativos da casuística total da clínica. Para este relatório, foi considerado um “caso” qualquer entidade clínica ou cirúrgica acompanhada pela estagiária. A discrepância entre o número de casos e o número total de animais observados deve-se ao facto de o mesmo animal poder apresentar várias comorbilidades e/ou ter sido acompanhado em diversas áreas. Estas áreas foram divididas em clínica médica, clínica cirúrgica e medicina preventiva. As áreas clínicas foram, ainda, subdivididas em especialidades e procedimentos observados, com a respetiva frequência absoluta ( $n_i$ ) e frequência relativa (Fr) ilustradas através de gráficos e tabelas.

## 1. Distribuição da casuística por espécie animal

Durante o estágio curricular na clínica Vetbeirão, a estagiária acompanhou 489 animais. Como se pode constatar no gráfico 1, a espécie mais observada foi a canina (*Canis lupus familiaris*), com uma frequência relativa de 51,53%. Embora a clínica Vetbeirão seja vocacionada para animais de companhia, ocasionalmente presta cuidados a espécies exóticas. Assim, a estagiária teve a oportunidade de acompanhar 14 animais exóticos, apresentando uma frequência relativa de 2,86%.

### Distribuição dos animais de acordo com a espécie

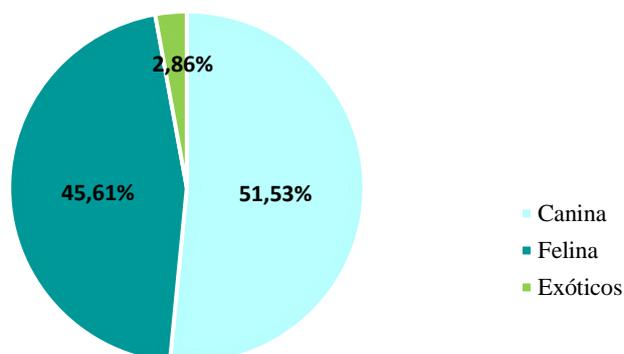


Gráfico 1 - Frequência Relativa da casuística distribuída por espécies

Como se pode observar na tabela 1, o maior número de animais exóticos observados, pertenciam à classe dos mamíferos, representando uma frequência relativa de 71,43%. Entre dos mamíferos, foram acompanhados sete coelhos, dois hamsters e um furão. Nas aves, foram observadas duas galinhas e um periquito, e entre os répteis, apenas um camaleão foi examinado.

**Tabela 1** – Distribuição dos animais exóticos acompanhados

<b>Animais Exóticos</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
Mamíferos	10	71,43 %
Aves	3	21,43 %
Répteis	1	7,14 %

## 2. Distribuição da casuística por área clínica

Durante o estágio curricular, foram acompanhados 489 animais, num total de 617 casos. A Tabela 2 apresenta a distribuição casuística desses casos por área clínica, onde se verifica que a área mais acompanhada foi a clínica médica com uma frequência relativa de 64,01%, seguida pela clínica cirúrgica com 24,96 % e, por último, a medicina preventiva, com 11,03 %.

**Tabela 2** – Distribuição dos casos acompanhados pela área clínica

<b>Área Clínica</b>	<b>Cães (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Gatos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Exóticos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
Clínica Médica	215	166	14	395	64,01 %
Clínica Cirúrgica	72	81	1	154	24,96 %
Medicina Preventiva	45	22	1	68	11,03 %
<b>Total</b>	<b>332</b>	<b>269</b>	<b>16</b>	<b>617</b>	<b>100,00 %</b>

## 3. Distribuição da casuística da clínica médica

No âmbito da casuística da área de clínica médica, foram considerados todos os casos acompanhados em consultas e no internamento. Durante o período de estágio, a estagiária acompanhou diferentes especialidades em primeiras consultas, consultas de referenciação, consultas de seguimento e urgências na Clínica Vetbeirão. Durante as consultas, a estagiária executava tarefas como a recolha de dados da história progressa e

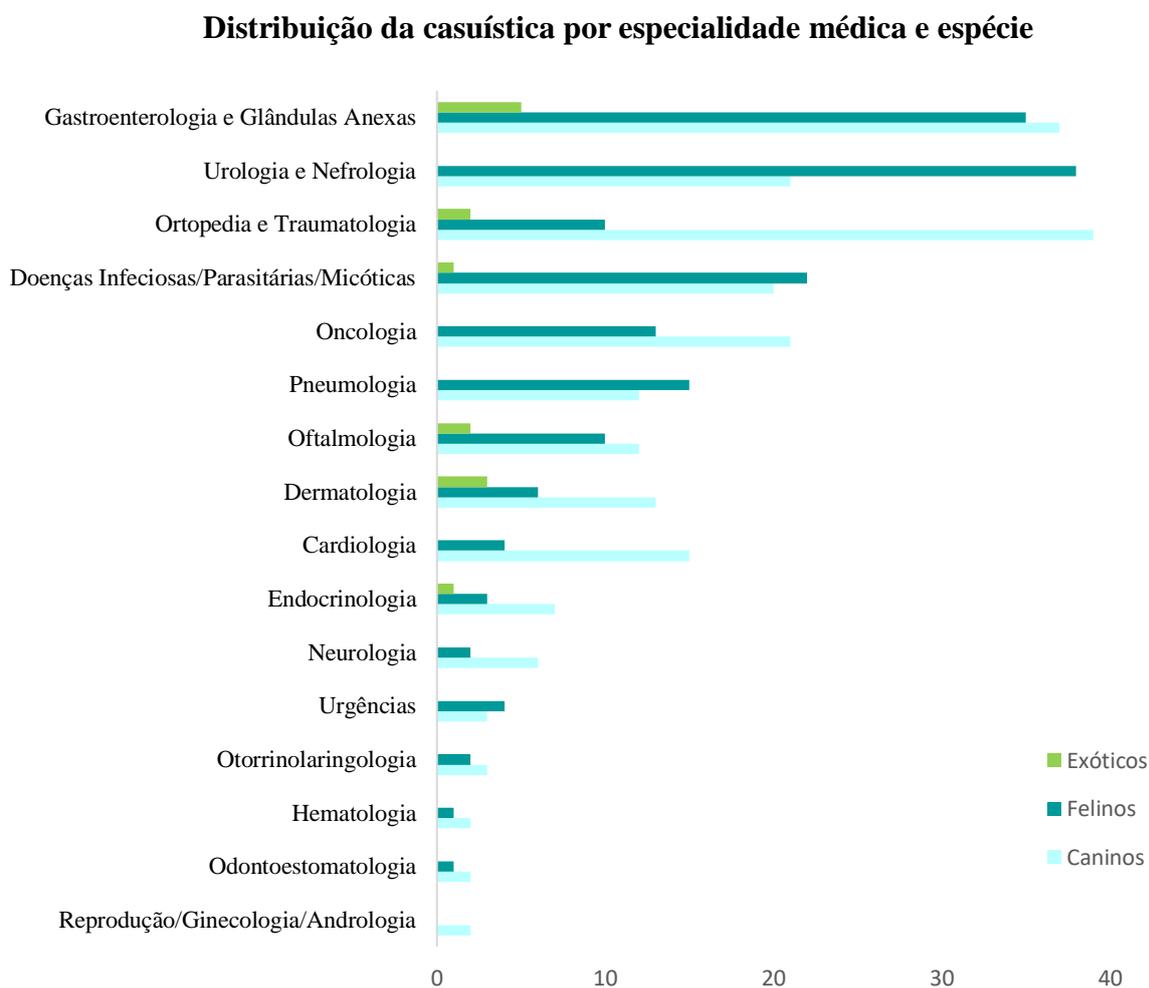
a realização de exames físicos e complementares de diagnóstico. Posteriormente, realizava uma discussão com o médico veterinário sobre os possíveis diagnósticos diferenciais e as diferentes opções de tratamento. No acompanhamento das consultas, foi possível desenvolver o raciocínio clínico e adquirir conhecimentos em várias especialidades. Além disso, foi possível melhorar as capacidades de comunicação com tutores e a abordagem a diferentes pacientes. No internamento, a estagiária acompanhou e monitorizou os animais internados e realizou diversos exames físicos e complementares imagiológicos e laboratoriais. Participou ainda na discussão da evolução clínica de cada paciente e dos respetivos planos terapêuticos. Nesta área, foi possível praticar a realização de exames complementares e aprimorar a sua interpretação, desenvolveu capacidades de gestão de pacientes internados, bem como de reconhecimento e resolução de complicações, e ainda de melhoria da cooperação e trabalho em equipa.

**Tabela 3** – Distribuição Casuística da área clínica médica por especialidade e por espécie

<b>Clínica Médica</b>	<b>Cães (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Gatos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Exóticos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
Gastroenterologia e Glândulas anexas	37	35	5	77	19,49 %
Urologia e Nefrologia	21	38	0	59	14,93 %
Ortopedia e Traumatologia	39	10	2	51	12,91 %
Doenças infecciosas/parasitárias /micóticas	20	22	1	43	10,89 %
Oncologia	21	13	0	34	8,61 %
Pneumologia	12	15	0	27	6,84 %
Oftalmologia	12	10	2	24	6,08 %
Dermatologia	13	6	3	22	5,56 %
Cardiologia	15	4	0	19	4,81 %
Endocrinologia	7	3	1	11	2,78 %
Neurologia	6	2	0	8	2,03 %
Urgências	3	4	0	7	1,77 %
Otorrinolaringologia	3	2	0	5	1,27 %
Hematologia	2	1	0	3	0,76 %
Odontoestomatologia	2	1	0	3	0,76 %
Reprodução/Ginecologia/Andrologia	2	0	0	2	0,51 %
<b>Total</b>	215	166	14	395	100,00 %

Conforme apresentado na Tabela 3, as especialidades com maior número de casos foram Gastroenterologia e Glândulas Anexas, com uma frequência relativa de 19,49 %, seguidas por Urologia e Nefrologia, com 14,93 %, e Ortopedia e Traumatologia com 12,91 %.

O gráfico 2 ilustra a distribuição dos casos por especialidade e espécie. Destaca-se a predominância de casos caninos em quase todas as especialidades, com exceção de Urologia e Nefrologia, Doenças Infeciosas/Parasitárias/Micóticas e Pneumologia.



**Gráfico 2** – Distribuição da casuística da área da clínica médica por especialidade e por espécie

### 3.1. Gastroenterologia e glândulas anexas

A área da gastroenterologia e glândulas anexas refere-se aos casos relacionados com o sistema digestivo, incluindo os órgãos que o compõem e as glândulas anexas ao mesmo, como o fígado, pâncreas, glândulas salivares, sistema biliar e glândulas dos sacos anais. Também foram incluídos os casos relativos à cavidade peritoneal, como a ascite.

A gastroenterologia destacou-se como a especialidade mais observada durante o estágio curricular, com 77 casos, representado uma frequência relativa de 19,49%. O acompanhamento destes casos evidenciou a importância de uma anamnese e exame físico detalhados, bem como da utilização de exames complementares de diagnóstico, considerando que a sintomatologia observada em patologias do trato gastrointestinal pode assemelhar-se à de outras condições em diferentes sistemas. Dentro desta especialidade, a estagiária aprimorou as suas capacidades a nível de palpação abdominal, além de desenvolver competências na interpretação de radiografias e ecografias abdominais.

A Tabela 4 apresenta a distribuição casuística das diferentes afeções do sistema digestivo e glândulas anexas observadas durante o período de estágio curricular. A afeção mais observada foi a Gastroenterite inespecífica, com frequência relativa de 14,29 %, seguida pela Estase Gastrointestinal, com 12,99 %. Entre os animais exóticos observados destacaram-se quatro coelhos – três com estase gastrointestinal e um com parasitismo gastrointestinal – e um hamster com gastroenterite inespecífica.

**Tabela 4** – Distribuição da casuística da área de Gastroenterologia e Glândulas Anexas.

Gastroenterologia e Glândulas Anexas	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Gastroenterite Inespecífica	4	6	1	11	14,29 %
Estase Gastrointestinal	2	5	3	10	12,99 %
Ascite	5	4	0	9	11,69 %
Parasitismo gastrointestinal	3	5	1	9	11,69 %
Pancreatite	3	4	0	7	9,09 %
Ingestão de corpo estranho	5	0	0	5	6,49 %
Hepatopatia	3	2	0	5	6,49 %
Neoplasia Gastrointestinal	2	3	0	5	6,49 %
Doença Inflamatória Intestinal	2	2	0	4	5,19 %

Megaesófago	2	1	0	3	3,90 %
Fecaloma	0	3	0	3	3,90 %
Dilatação Gástrica	3	0	0	3	3,90 %
Impactação dos sacos anais	2	0	0	2	2,60 %
Colelitíase	1	0	0	1	1,30 %
<b>Total</b>	37	35	5	77	100,00 %

### 3.2. Urologia e nefrologia

A Urologia e Nefrologia é uma área clínica médica que se dedica aos cuidados do sistema urinário. O acompanhamento de animais com afeções urinárias permitiu à estagiária praticar a realização de cistocentese ecoguiadas, algalias urinárias e lavagens vesicais. Além disso, proporcionou a consolidação de conhecimentos sobre afeções urinárias e os seus meios de diagnóstico e tratamento.

Conforme demonstrado na Tabela 5, esta especialidade foi mais abordada em felinos, sendo a doença renal crónica a afeção mais comum, com frequência relativa de 28,81 %, seguida pela presença de cálculos vesicais, com 15,25 %.

**Tabela 5** - Distribuição da casuística da área de Urologia e Nefrologia.

Urologia e Nefrologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Doença Renal Crónica	4	13	0	17	28,81 %
Cálculos Vesicais	3	6	0	9	15,25 %
Cálculos Uretrais	3	5	0	8	13,56 %
Infeção do trato urinário	3	4	0	7	11,86 %
Incontinência Urinária	4	3	0	7	11,86 %
Insuficiência renal aguda	2	2	0	4	6,78 %
Doença trato urinário inferior felino	0	2	0	2	3,39 %
Hematúria	1	1	0	2	3,39 %
Cistite	1	1	0	2	3,39 %
Hidronefrose	0	1	0	1	1,69 %
<b>Total</b>	21	38	0	59	100,00 %

### 3.3. Ortopedia e traumatologia

A Ortopedia e Traumatologia são áreas da clínica médica focadas no diagnóstico, tratamento e prevenção de problemas relacionados ao sistema musculoesquelético, que inclui ossos, articulações, músculos, ligamentos, tendões e nervos, além do tratamento de lesões traumáticas. Durante o estágio, foi possível não só desenvolver a capacidade de realização de exames ortopédicos e a interpretação de radiografias, mas também adquirir conhecimentos sobre tratamentos conservadores, como a fisioterapia, e sobre técnicas cirúrgicas adequadas a cada caso.

Na Tabela 6 encontra-se a distribuição casuística dos diferentes casos da área de Ortopedia e Traumatologia, categorizados por espécie. A afeição mais comum foi a osteoartrite, com uma frequência relativa de 25,49%, seguida pela displasia da anca com 13,73%. Entre as espécies exóticas examinadas, destacam-se um periquito com uma fratura numa falange e um camaleão com fratura de rádio e ulna.

**Tabela 6** - Distribuição da casuística da área de Ortopedia e Traumatologia.

<b>Ortopedia e Traumatologia</b>	<b>Cães (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Gatos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Exóticos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
Osteoartrite	10	3	0	13	25,49 %
Displasia da anca	7	0	0	7	13,73 %
Rotura do ligamento cruzado	5	0	0	5	9,80 %
Discoespondilose	5	0	0	5	9,80 %
Fratura de tíbia/fíbula	4	1	0	5	9,80 %
Fratura de radio/ulna	2	2	1	5	9,80 %
Fratura de falanges	1	1	1	3	5,88 %
Displasia do Cotovelo	3	0	0	3	5,88 %
Fratura da mandíbula	0	2	0	2	3,93 %
Luxação patelar	2	0	0	2	3,93 %
Fratura da cauda	0	1	0	1	1,96 %
<b>Total</b>	<b>39</b>	<b>10</b>	<b>2</b>	<b>51</b>	<b>100,00 %</b>

### 3.4. Doenças Infeciosas, Parasitárias e Micóticas

O acompanhamento de animais com doenças infecciosas, parasitárias e micóticas, permitiu à estagiária consolidar conhecimentos sobre prevenção, controle, diagnóstico e tratamento destas doenças. Além disso, possibilitou o desenvolvimento de competências na gestão de casos infecciosos, especialmente no que diz respeito à proteção pessoal, higiene, isolamento e quarentena.

Na área de doenças infecciosas, parasitárias e micóticas, foram observados 43 casos, incluindo um coelho com Coccidiose. A Tabela 7 apresenta a distribuição das afecções encontradas nesta área durante o estágio curricular, destacando-se a predominância de parvovirose na espécie canina (frequência relativa de 18,60%) e do vírus da imunodeficiência felina (FIV) na espécie felina (frequência relativa de 13,95%).

**Tabela 7** - Distribuição da casuística da área de Doenças Infeciosas, Parasitárias e Micóticas.

Doenças Infeciosas, Parasitárias e Micóticas	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Parvovirose	8	0	0	8	18,60 %
Vírus da Imunodeficiência felina (FIV)	0	6	0	6	13,95 %
Leishmaniose	5	0	0	5	11,63 %
Coriza	0	4	0	4	9,30 %
Vírus da Leucemia Felina (FeLV)	0	4	0	4	9,30 %
Traqueobronquite infecciosa	2	0	0	2	4,65 %
Coccidiose	0	1	1	2	4,65 %
Calicivírus	0	2	0	2	4,65 %
Peritonite infecciosa felina (PIF)	0	2	0	2	4,65 %
Dirofilariose	2	0	0	2	4,65 %
Panleucopénia felina	0	2	0	2	4,65 %
Sarna demodécica	1	0	0	1	2,33 %
Giardia	1	0	0	1	2,33 %
Leptospirose	1	0	0	1	2,33 %
Dermatofitose	0	1	0	1	2,33 %
<b>Total</b>	20	22	1	43	100,00 %

### 3.5. Oncologia

A Oncologia é a especialidade médica dedicada ao diagnóstico, tratamento e estadiamento de neoplasias em animais. Durante o período de estágio foram acompanhados 34 casos de neoplasias. Na tabela 8 é apresentada a distribuição casuística da área de oncologia, onde o termo "neoplasias" refere-se a lesões que apresentam aparência tumoral, observadas por meio de exames macroscópicos e/ou imagiológicos (como radiografias e ultrassonografias). A confirmação dessas lesões como neoplásicas foi realizada por meio de uma avaliação citológica ou histopatológica. Estas análises são essenciais para diferenciar tumores benignos de malignos, e determinar o tipo específico de neoplasia. A neoplasia mais observada foi o linfoma, com uma frequência relativa de 35,29%.

Durante o estágio na área de oncologia, a estagiária adquiriu conhecimentos fundamentais para o diagnóstico, estadiamento e planificação de protocolos de quimioterapia de algumas neoplasias diagnosticadas.

**Tabela 8** - Distribuição da casuística da área de Oncologia.

Neoplasias	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Linfoma	7	5	0	12	35,29 %
Carcinoma	5	3	0	8	23,53 %
Mastocitoma	3	3	0	6	17,65 %
Adenoma	2	0	0	2	5,88 %
Fibrossarcoma	0	2	0	2	5,88 %
Lipoma	2	0	0	2	5,88 %
Osteossarcoma	1	0	0	1	2,94 %
Hemangiossarcoma	1	0	0	1	2,94 %
<b>Total</b>	21	13	0	34	100,00 %

### 3.6. Pneumologia

A Pneumologia é a área da medicina veterinária dedicada ao estudo, diagnóstico e tratamento de doenças que afetam o sistema respiratório dos animais, incluindo as vias aéreas, pulmões e estruturas associadas, como a pleura e o diafragma. Conforme

apresentado na Tabela 9, foram acompanhados 27 casos nesta área, sendo a afeição mais frequente a Asma felina, com uma frequência relativa de 18,52 %.

Na área de pneumologia, a estagiária aprimorou as suas capacidades ao nível da auscultação e distinção de ruídos respiratórios e interpretação de alterações pulmonares em exames radiográficos. Além disso, o acompanhamento de alguns casos nesta área permitiu à estagiária praticar a colocação de drenos torácicos e a realização de várias toracocenteses.

**Tabela 9** - Distribuição da casuística da área de pneumologia.

Pneumologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Asma	0	5	0	5	18,52 %
Infeção respiratória superior	2	3	0	5	18,52 %
Efusão pleural	2	2	0	4	14,81 %
Edema pulmonar	2	2	0	4	14,81 %
Pneumonia	2	1	0	3	11,11 %
Bronquite crónica	2	0	0	2	7,41 %
Pneumotórax	1	1	0	2	7,41 %
Colapso da traqueia	1	0	0	1	3,70 %
Piotórax	0	1	0	1	3,70 %
<b>Total</b>	12	15	0	27	100,00 %

### 3.7. Oftalmologia

A oftalmologia é uma especialidade da medicina veterinária que se foca no diagnóstico e tratamento de doenças e problemas relacionados com os olhos dos animais. Foram acompanhados 24 casos de afeções oftalmológicas, dos quais dois envolviam coelhos. A Tabela 10 apresenta a distribuição casuística das afeções observadas na área da Oftalmologia, sendo a mais frequente a conjuntivite, com uma frequência relativa de 33,33%. O acompanhamento de casos nesta área permitiu à estagiária realizar vários exames oftalmológicos, como o teste de Schirmer e o teste de fluoresceína.

**Tabela 10** - Distribuição da casuística da área de Oftalmologia

Oftalmologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Conjuntivite	2	5	1	8	33,33 %
Úlcera da córnea	3	2	1	6	25,00 %
Entrópion	2	1	0	3	12,50 %
Catarata ocular	3	0	0	3	12,50 %
Perfuração ocular	0	2	0	2	8,33 %
Protusão ocular	1	0	0	1	4,17 %
Protrusão da glândula da 3ª pálpebra	1	0	0	1	4,17 %
<b>Total</b>	12	10	2	24	100,00 %

### 3.8. Dermatologia

A Dermatologia é a especialidade da área clínica médica que se concentra no diagnóstico, tratamento e prevenção de afeções de pele. Como observado na Tabela 11, na casuística de Dermatologia, a afeção mais comum foi a presença de nódulos cutâneos com uma frequência relativa de 22,72 %, seguida de alopecia, com 18,18%. Nesta área, foram assistidos três animais de espécies exóticas com pododermatite: duas galinhas e um coelho.

**Tabela 11** - Distribuição da casuística da área de Dermatologia.

Dermatologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Nódulos cutâneos	4	1	0	5	22,72 %
Alopecia	3	1	0	4	18,18 %
Pododermatite	0	0	3	3	13,63 %
Lacerações cutâneas	2	1	0	3	13,63 %
Eritema auricular	1	1	0	2	9,09 %
Dermatite atópica	2	0	0	2	9,09 %
Abcessos subcutâneos	0	2	0	2	9,09 %
Dermatite alérgica	1	0	0	1	4,55 %
<b>Total</b>	13	6	3	22	100,00 %

O acompanhamento dos casos na área de dermatologia, permitiu à estagiária aprofundar conhecimentos em relação a doenças dermatológicas, sobretudo no que diz

respeito ao diagnóstico de afeções cutâneas, visto que existiu a oportunidade de realizar diversos exames específicos, como biópsias de pele, punções aspirativas por agulha fina (PAAF) e citologias. Além disso, foi possível realizar suturas de pele em casos de lacerações cutâneas e remoção de nódulos cutâneos, sempre sob supervisão de um médico veterinário.

### 3.9. Cardiologia

A cardiologia é uma especialidade da clínica médica dedicada ao diagnóstico e tratamento de doenças cardíacas e circulatórias. Durante o estágio curricular, foram acompanhados 19 casos. Conforme apresentado na Tabela 12, a afeção mais frequentemente observada foi a doença degenerativa valvular, com uma frequência relativa de 52,63 %. O acompanhamento de casos na área de cardiologia permitiu a consolidação de conhecimentos sobre auscultação cardíaca, ecocardiografia, eletrocardiograma e radiografia torácica. Além disso, foi possível assistir a uma pericardiocentese ecoguiada.

**Tabela 12** - Distribuição da casuística da área de Cardiologia

Cardiologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Doença Degenerativa Valvular	8	2	0	10	52,63 %
Cardiomiopatia dilatada	4	0	0	4	21,05 %
Cardiomiopatia hipertrófica	0	2	0	2	10,53 %
Efusão pericárdica	2	0	0	2	10,53 %
Tromboembolismo	1	0	0	1	5,26 %
<b>Total</b>	15	4	0	19	100,00 %

### 3.10. Endocrinologia

A Endocrinologia é a especialidade que se dedica ao diagnóstico e tratamento de doenças hormonais. Durante o período de estágio curricular, foram acompanhados 11 casos nesta área, incluindo o caso de um furão com doença adrenal. Na Tabela 13 está representada a distribuição casuística dos casos, verificando-se que a afeção mais observada foi diabetes *mellitus*, com uma frequência relativa de 54,55 %.

**Tabela 13** - Distribuição da casuística da área de Endocrinologia

Endocrinologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Diabetes <i>Mellitus</i>	4	2	0	6	54,55 %
Hiperadrenocorticismo	2	0	0	2	18,18 %
Doença Adrenal	0	0	1	1	9,09 %
Hipertiroidismo	0	1	0	1	9,09 %
Hipotiroidismo	1	0	0	1	9,09 %
<b>Total</b>	7	3	1	11	100,00 %

Na área de Endocrinologia, foi possível aprofundar conhecimentos sobre doenças endócrinas, tanto no diagnóstico quanto na terapêutica e monitorização das mesmas. O diagnóstico assenta essencialmente na realização de testes endócrinos, como doseamentos de cortisol sérico, tiroxina (T4) e hormona estimulante da tiroide (TSH), testes de estimulação de hormona adrenocorticotrófica (ACTH) e testes de supressão com baixas e altas doses de dexametasona. A estagiária também teve a oportunidade de realizar medições de glicemia e curvas de glicemia para alguns animais com diabetes *mellitus*.

### 3.11. Neurologia

A Neurologia é a especialidade focada no diagnóstico e tratamento de doenças que afetam o sistema nervoso de animais, incluindo o cérebro, medula espinhal e nervos periféricos. Conforme demonstrado na Tabela 14, foram examinados 8 casos de animais com afeções neurológicas, sendo a epilepsia a condição mais observada, com uma frequência relativa de 37,50%.

O acompanhamento dos casos neurológicos permitiu o desenvolvimento de capacidades na realização de exames neurológicos e o aprofundar de conhecimentos a nível da neuroanatomia. Alguns dos casos necessitaram de referenciação para outras unidades, dado que a clínica veterinária Vetbeirão não possui ressonância magnética nem tomografia axial computadorizada.

**Tabela 14** - Distribuição da casuística da área de Neurologia

Neurologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Epilepsia	2	1	0	3	37,50 %
Hérnia discal	2	0	0	2	25,00 %
Paralisia dos posteriores	0	1	0	1	12,50 %
Síndrome de cauda equina	1	0	0	1	12,50 %
Síndrome vestibular periférica	1	0	0	1	12,50 %
<b>Total</b>	6	2	0	8	100,00 %

### 3.12. Urgências

No que diz respeito a urgências médicas, as mais assistidas foram o choque hipovolémico na espécie canina, com uma frequência relativa de 28,57 %, e a dispneia na espécie felina, com uma frequência relativa de 28,57 % (tabela 15).

O acompanhamento de casos de urgência possibilitou o desenvolvimento de capacidades de raciocínio clínico em situações urgentes e de resolução de problemas. Além disso, foi possível aprofundar conhecimentos em imagiologia, através da realização de protocolos como a “Avaliação ultrassonográfica com foco no traumatismo abdominal” (*Abdominal Focus Assessment with Sonography for Trauma* ou A-FAST) e a “Avaliação ultrassonográfica com foco no traumatismo torácico” (*Thoracic Focus Assessment with Sonography for Trauma* ou T-FAST).

**Tabela 15** - Distribuição da casuística da área de Urgências

Urgências	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Choque hipovolémico	2	0	0	2	28,57 %
Dispneia	0	2	0	2	28,57 %
Uroabdómen	0	1	0	1	14,29 %
Hemoabdómen	1	0	0	1	14,29 %
Obstrução urinária	0	1	0	1	14,29 %
<b>Total</b>	3	4	0	7	100,00 %

### 3.13. Otorrinolaringologia

A otorrinolaringologia é a especialidade responsável pelo diagnóstico e tratamento de doenças que afetam os ouvidos e vias aéreas superiores. Conforme observado na Tabela 16, a afeição mais frequentemente observada foi a otite externa bacteriana, com uma frequência relativa de 40%. O acompanhamento de casos nesta especialidade possibilitou a consolidação de conhecimentos sobre o exame otológico e as diferentes abordagens terapêuticas, de acordo com o tipo de otite externa.

**Tabela 16** - Distribuição da casuística da área de otorrinolaringologia

Otorrinolaringologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Otite externa bacteriana	1	1	0	2	40,00 %
Otite externa fúngica	1	0	0	1	20,00 %
Rinite	0	1	0	1	20,00 %
Otohematoma	1	0	0	1	20,00 %
<b>Total</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>0</b>	<b>5</b>	<b>100,00 %</b>

### 3.14. Hematologia

A Hematologia é a especialidade dedicada ao estudo, diagnóstico e tratamento de doenças relacionadas com o sangue. Como se pode observar na Tabela 17, apenas foram observados 3 casos, todos de anemia hemolítica imunomediada. O acompanhamento destes casos permitiu consolidar conhecimentos sobre provas de aglutinação sanguínea, provas de tipificação sanguínea e transfusões sanguíneas. Além disso, a estagiária teve a oportunidade de praticar a realização de esfregaços sanguíneos e a sua observação ao microscópio.

**Tabela 17** - Distribuição da casuística da área de Hematologia

Hematologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Anemia hemolítica imunomediada	2	1	0	3	100,00 %
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>3</b>	<b>100,00 %</b>

### 3.15. Odontoestomatologia

A Odontoestomatologia é a especialidade que se dedica ao diagnóstico, tratamento e prevenção de doenças que afetam a cavidade oral, incluindo dentes, gengivas, língua, lábios, palato e mucosa oral. Conforme demonstrado na Tabela 18, a afeção mais observada foi a doença periodontal na espécie canina, com uma frequência relativa de 66,67 %.

**Tabela 18** - Distribuição da casuística da área de Odontoestomatologia

Odontoestomatologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Doença Periodontal	2	0	0	2	66,67 %
Estomatite	0	1	0	1	33,34 %
<b>Total</b>	2	1	0	3	100,00 %

### 3.16. Reprodução/Ginecologia/Andrologia

Na área da Reprodução/Ginecologia/Andrologia, foram observados apenas dois casos, ambos de cadelas com piómetra (Tabela 19). O acompanhamento destes dois casos, permitiu consolidar conhecimentos sobre métodos de diagnóstico e abordagens terapêuticas, que, em ambos, foi cirurgicamente.

**Tabela 19** - Distribuição da casuística da área de reprodução/ginecologia/andrologia

Reprodução/Ginecologia/Andrologia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Piômetra	2	0	0	2	100,00 %
<b>Total</b>	2	0	0	2	100,00 %

### 3.17. Procedimentos Médicos

Na Tabela 20, estão descritos os procedimentos médicos mais relevantes em que a estagiária participou. Alguns procedimentos, como colheitas de sangue, não foram contabilizados individualmente, dado que foram realizados inúmeras vezes no decorrer

do estágio. Entre os procedimentos médicos mais assistidos e/ou realizados estão as algaliações e as cistocentese.

**Tabela 20** - Distribuição dos procedimentos médicos assistidos e realizados

Procedimentos Médicos	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Cistocentese	15	13	0	28	33,73 %
Algaliação uretral	8	12	0	20	24,10 %
Toracocentese	5	4	0	9	10,84 %
Colocação de sonda nasogástrica	2	5	0	7	8,43 %
Tratamento quimioterápico	3	4	0	7	8,43 %
Abdominocentese	4	2	0	6	7,23 %
Transfusão de sangue	3	1	0	4	4,82 %
Pericardiocentese	2	0	0	2	2,42 %
<b>Total</b>	42	41	0	83	100,00 %

A observação e execução de procedimentos médicos proporcionaram experiência prática, aprimoraram habilidades técnicas e consolidaram conhecimentos sobre os procedimentos e a interpretação dos resultados obtidos. A prática destes procedimentos médicos melhorou a competência técnica e a capacidade de lidar com uma variedade de situações clínicas.

### 3.18 Exames Complementares de Diagnóstico

Na Tabela 21, estão descritos alguns dos exames complementares de diagnóstico que foram realizados pela estagiária durante o estágio curricular. Porém, assim como anteriormente, exames como hemogramas, análises bioquímicas, ionogramas, urianálises e testes rápidos de diagnóstico de agentes infecciosos, não foram contabilizados por serem exames de rotina realizados inúmeras vezes por dia.

O exame mais frequentemente realizado foi a radiografia, com uma frequência relativa de 43,34%, seguida da ecografia, com 32,01%. A observação e execução de exames complementares de diagnóstico permitiu o desenvolvimento de capacidades na interpretação de resultados, execução de exames e manuseamento de equipamentos. Além

disso, facilitou a compreensão da correlação entre as alterações encontradas e os sinais clínicos e sintomas dos pacientes.

**Tabela 21** - Distribuição dos exames complementares assistidos e realizados

Procedimentos Médicos	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Radiografia	77	65	11	153	43,34 %
Ecografia	63	44	6	113	32,01 %
Punção aspirativa por agulha fina	26	11	0	37	10,48 %
Ecocardiografia	22	10	0	32	9,07 %
Teste de fluoresceína e de Schirmer	10	6	2	18	5,10 %
<b>Total</b>	198	136	19	353	100,00 %

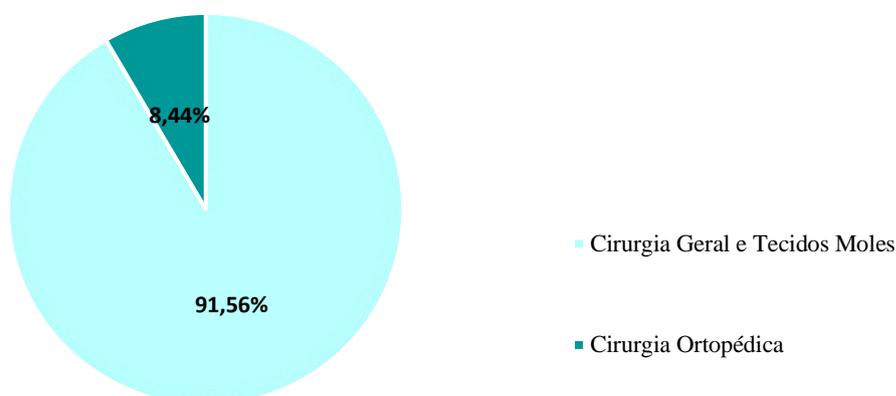
#### 4. Distribuição da casuística da clínica cirúrgica

Na clínica cirúrgica, foram observados 154 casos. A Tabela 22 e o Gráfico 3 apresentam a distribuição casuística destes casos. A cirurgia de tecidos moles foi a mais realizada, com uma frequência relativa de 91,56 %. Alguns dos casos da área de ortopedia acabaram por ser referenciados a outras clínicas, uma vez que o cirurgião ortopédico trabalhava noutra clínica e apenas realizava cirurgias na clínica Vetbeirão esporadicamente, o que limitou a oportunidade de assistir a mais procedimentos nesta área.

**Tabela 22** – Distribuição da casuística acompanhada na área da clínica cirúrgica

Cirurgia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Geral e Tecidos Moles	63	77	1	141	91,56 %
Ortopédica	9	4	0	13	8,44 %
<b>Total</b>	72	81	1	154	100,00 %

### Distribuição da casuística na área clínica cirúrgica



**Gráfico 3** – Distribuição da casuística na área clínica cirúrgica

Na área da clínica cirúrgica, a estagiária acompanhou todo o processo do paciente, desde a sua admissão até à alta cirúrgica. Nesta área, a estagiária colaborou na receção e preparação cirúrgica dos pacientes, através da realização de exames físicos, colheitas de sangues e análises pré-anestésicas e preparação e administração da medicação pré-anestésica e anestésica. Adicionalmente, participou na preparação pré-cirúrgica do animal, através da tricotomia, lavagem e assepsia da área de intervenção cirúrgica, e intubação endotraqueal. Após a cirurgia, a estagiária era responsável pelo acompanhamento do animal até este se encontrar totalmente acordado e levantado.

Na cirurgia, a estagiária desempenhou funções como circulante, anestesista e ajudante do cirurgião, em diversas cirurgias. Além disso, executou alguns procedimentos mais simples, como suturas de pele e orquiectomias em gatos, sempre sob supervisão médico-veterinária. A participação em cirurgias, permitiu a consolidação de conhecimentos sobre fármacos anestésicos, técnicas cirúrgicas, anatomia e práticas de esterilização e higiene e desenvolveu a capacidade de tomar decisões clínicas e de resolver problemas em tempo real.

#### 4.1. Cirurgia geral e tecidos moles

Na Tabela 23 estão descritos todos os procedimentos cirúrgicos em que a estagiária auxiliou ou assistiu, sendo a ovariectomia a cirurgia mais frequente, com uma frequência relativa de 31,21%, principalmente na espécie felina. Durante o período de estágio, foi realizada apenas uma cirurgia numa espécie exótica, que se tratou de uma ovariectomia a uma coelha.

**Tabela 23** – Distribuição da casuística da área da cirurgia geral e de tecidos moles

Cirurgia	Cães (n <sub>i</sub> )	Gatos (n <sub>i</sub> )	Exóticos (n <sub>i</sub> )	n <sub>i</sub>	Fr (%)
Ovariectomia	18	25	1	44	31,21 %
Orquiectomia	10	19	0	29	20,57 %
Extração dentária	5	10	0	15	10,64 %
Destartarização	6	8	0	14	9,92 %
Biópsia	6	6	0	12	8,51 %
Nodullectomia	7	3	0	10	7,09 %
Remoção de corpo estranho	4	1	0	5	3,55 %
Gastrotomia	2	1	0	3	2,13 %
Mastectomia	1	2	0	3	2,13 %
Cistotomia	0	2	0	2	1,41 %
Laparotomia	1	0	0	1	0,71 %
Herniorrafia	1	0	0	1	0,71 %
Resolução de otohematoma	1	0	0	1	0,71 %
Gastropexia	1	0	0	1	0,71 %
<b>Total</b>	<b>63</b>	<b>77</b>	<b>1</b>	<b>141</b>	<b>100,00 %</b>

#### 4.2. Cirurgia ortopédica

Na Tabela 24 é apresentada a distribuição casuística dos casos cirúrgicos ortopédicos assistidos pela estagiária durante o período de estágio, sendo a Osteotomia de Nivelamento do Plateau Tibial (*Tibial Plateau Leveling Osteotomy* ou TPLO) e a amputação de dígito os procedimentos mais observados, ambos com uma frequência relativa de 23,08 %.

**Tabela 24** – Distribuição da casuística da área da Cirurgia Ortopédica

<b>Cirurgia</b>	<b>Cães (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Gatos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Exóticos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
TPLO	3	0	0	3	23,08 %
Amputação de dígito	3	0	0	3	23,08 %
Prótese de anca	2	0	0	2	15,38 %
Osteossíntese radial	1	1	0	2	15,38 %
Osteossíntese mandibular	0	2	0	2	15,38 %
Amputação de cauda	0	1	0	1	7,70 %
<b>Total</b>	<b>9</b>	<b>4</b>	<b>0</b>	<b>13</b>	<b>100,00 %</b>

## 5. Distribuição da casuística da medicina preventiva

A área da medicina preventiva inclui procedimentos como a vacinação, desparasitação e colocação da identificação eletrónica. Nesta área, foram acompanhados 68 casos, a maioria correspondendo a vacinações, com uma frequência relativa de 55,88%, seguidas pela identificação eletrónica, com 30,88%, e por último pela desparasitação, com 13,24% (Tabela 25). O acompanhamento destes casos permitiu consolidar conhecimentos relativos aos planos profiláticos de vacinação e desparasitação, bem como adquirir prática na aplicação de vacinas e colocação de microchips.

**Tabela 25** – Distribuição da casuística da área da Medicina Preventiva

<b>Medicina Preventiva</b>	<b>Cães (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Gatos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>Exóticos (n<sub>i</sub>)</b>	<b>n<sub>i</sub></b>	<b>Fr (%)</b>
Vacinação	23	14	1	38	55,88 %
Identificação Eletrónica	14	7	0	21	30,88 %
Desparasitação	8	1	0	9	13,24 %
<b>Total</b>	<b>45</b>	<b>22</b>	<b>1</b>	<b>68</b>	<b>100,00 %</b>

## II. Revisão bibliográfica sobre a leishmaniose canina

### 1. Introdução

A leishmaniose é uma zoonose parasitária provocada por protozoários do género *Leishmania* e transmitida pela picada de vetores do género *Phlebotomus* (Velho Mundo) e *Lutzomyia* (Novo Mundo) (Baneth *et al.*, 2023). Esta doença é prevalente em pelo menos 98 países e 3 territórios em 5 continentes, a maioria dos quais são países subdesenvolvidos. Com 350 milhões de pessoas consideradas em risco, estima-se que ocorram cerca de 1,3 milhões de novos casos de leishmaniose a cada ano, o que a torna a nona doença com maior impacto na saúde global, entre as doenças infecciosas, e a segunda e quarta causa mais comum de morte e doença, respetivamente, entre infeções tropicais (Gradoni, 2018).

A leishmaniose humana pode manifestar-se em diferentes formas clínicas, variando em gravidade, desde a leishmaniose cutânea autolimitada até à leishmaniose visceral disseminada e fatal. Entre as formas clínicas reconhecidas, o kala-azar, ou leishmaniose visceral (LV), é a forma mais grave e progressiva, sendo quase sempre fatal se não for tratada (Ribeiro *et al.*, 2018).

Diferentes espécies de *Leishmania* têm reemergido nos últimos anos, com um aumento da prevalência global e maior distribuição geográfica. Vários fatores ambientais, demográficos e comportamentais humanos, contribuíram para a mudança da epidemiologia da doença e para a sua propagação recente por todo o mundo (Gradoni, 2018).

A *Leishmania infantum* foi identificada como o principal agente etiológico da leishmaniose Canina (LCan), uma zoonose potencialmente fatal para humanos e cães, considerada uma das doenças emergentes mais importantes atualmente (Ribeiro *et al.*, 2018). Esta doença representa um desafio global devido à sua ampla distribuição geográfica, alta taxa de mortalidade e impacto significativo na qualidade de vida dos cães infetados.

## 2. Etiologia

A leishmaniose é uma doença parasitária de caráter zoonótico que afeta seres humanos e animais domésticos e selvagens por todo o mundo. É provocada por protozoários do género *Leishmania*, do qual 22 espécies são patogénicas para humanos (Pirajá & Lucheis, 2014). A *Leishmania* é um parasita intracelular obrigatório, que se classifica da seguinte forma (Maurício, 2018):

Reino: **Protozoa** Cavalier-Smith, 2002

Filo: **Euglenozoa** Cavalier-Smith, 1993

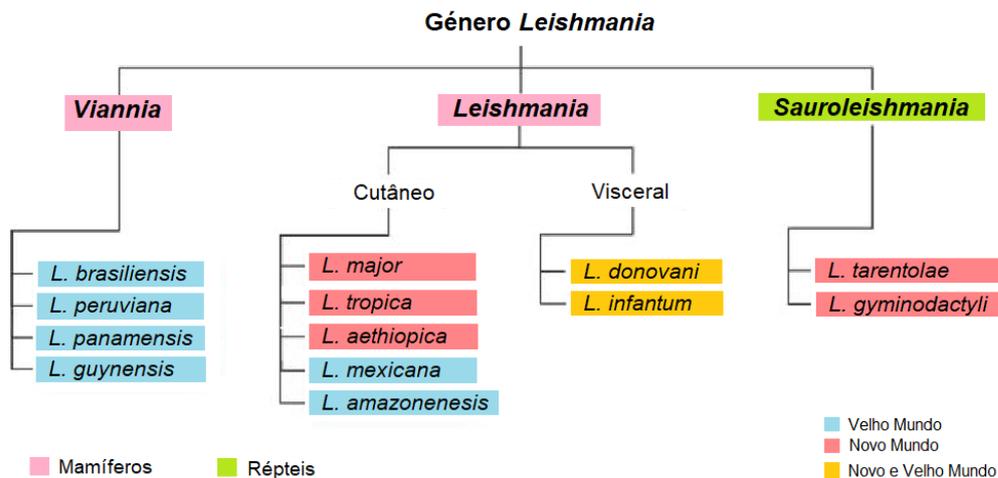
Classe: **Kinetoplastida** Honigberg, 1963

Ordem: **Trypanosomatida** Kent, 1880

Família: **Trypanosomatidae** Doflein, 1901

Género: *Leishmania* Ross, 1903

Foram identificados os subgéneros *Leishmania* e *Viannia*, que afetam principalmente mamíferos e se diferenciam pelo local do intestino onde iniciam o seu desenvolvimento. As espécies pertencentes ao subgénero *Viannia* estão restritas à América do Sul e são principalmente responsáveis pela doença cutânea, enquanto as espécies do subgénero *Leishmania* têm representantes tanto no Novo Mundo, que engloba a totalidade da América, quanto no Velho Mundo, que inclui Europa, África e Ásia, e são responsáveis pela doença visceral e cutânea (Gunn & Pitt, 2022). Existe ainda o subgénero *Sauroleishmania*, que afeta principalmente répteis (Fig. 1).



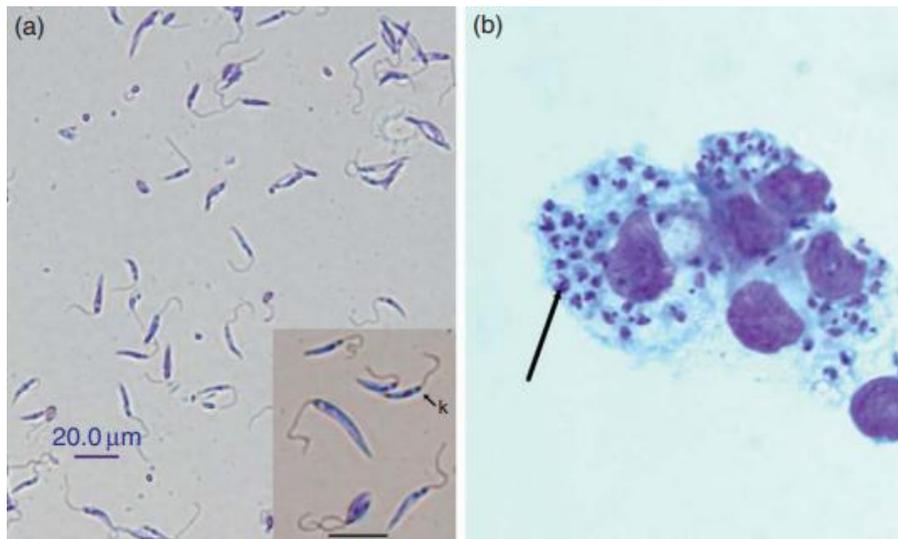
**Figura 1. Esquema representativo da classificação do género *Leishmania* e dos seus três subgéneros.** As espécies foram coloridas de acordo com as ocorrências no Velho Mundo (azuis), no Novo Mundo (vermelhas), e as que existem em ambos (amarelo). Os parasitas dos subgéneros *Leishmania* e *Viannia* infetam mamíferos, enquanto os da espécie *Sauroleishmania* infetam répteis. (Adaptado de: Bonfim *et al.*, 2022)

## 2.1. Formas parasitárias

A *Leishmania* pode ser caracterizada por duas formas evolutivas predominantes: **promastigota**, que existe no vetor, e **amastigota**, que está presente no hospedeiro vertebrado (Baneth *et al.*, 2023).

As formas promastigotas são alongadas, com cerca de 15 a 25 µm e flageladas (Fig. 2), o que lhes confere mobilidade. As suas características mais proeminentes, quando coradas, são o núcleo, localizado centralmente no citoplasma, o cinetoplasto e flagelo, ambos localizados na região anterior do parasita (Ogden & Melby, 2009).

Os amastigotas têm uma forma ovoide ou arredondada, com cerca de 2,5-5 µm de comprimento e 1,5-2 µm de largura (Fig. 2) e apresentam um flagelo rudimentar interno (Ogden & Melby, 2009; Baneth *et al.*, 2023). Estas formas estão presentes principalmente em macrófagos e células do sistema mononuclear fagocítico, onde sobrevivem como parasitas intracelulares (Bray, 1974).



**Figura 2. Formas morfológicas da *Leishmania*.** Na imagem (a), é possível observar formas promastigotas de *Leishmania*. A seta aponta para um cinetoplasto (k). Na imagem (b) é possível observar os amastigotas de *Leishmania* (seta) em células do baço (Adaptado de: Ogden & Melby, 2009)

### 3. Vetor Biológico

Os vetores naturais de *Leishmania* são insetos pertencentes ao reino Animalia, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae, e subfamília Phlebotominae (Cecílio *et al.*, 2022). São reconhecidos seis gêneros dentro da subfamília Phlebotominae e estima-se que existam cerca de 1000 espécies e subespécies de flebotomíneos (Baneth *et al.*, 2023). As espécies pertencentes ao gênero *Phlebotomus* são responsáveis pela transmissão da Leishmaniose no Velho Mundo e as do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo (Lewis, 1971).

Embora existam muitas espécies de flebótomos, apenas algumas atuam como vetores de *Leishmania*. Estas têm de cumprir todos (vetores comprovados) ou quase todos os critérios propostos por Killick-Kendrick e pelo Comitê de Especialistas da Organização Mundial de Saúde (OMS): i) alimentam-se de seres humanos (antropofílicos); ii) também se alimentam dos hospedeiros reservatórios relevantes, no caso de agentes zoonóticos; iii) são encontrados na natureza infetados com as mesmas espécies de *Leishmania* que são observadas nos seres humanos na mesma área geográfica;

iv) suportam o desenvolvimento completo da *Leishmania*, incluindo após a defecação dos restos da refeição sanguínea; e v) são capazes de transmitir parasitas a hospedeiros suscetíveis quando se alimentam de sangue (Cecílio *et al.*, 2022).

### 3.1. Morfologia

Comparados a outros insetos da ordem Diptera, os flebótomos adultos são facilmente reconhecidos pela sua pequena dimensão (1,5 a 3,5 mm de comprimento), aparência peluda, olhos grandes e pretos, pernas longas, coloração que varia de cinza-escuro a castanho e peças bucais longas (Fig. 3). As suas asas têm uma forma lanceolada, com seis nervuras longitudinais, sendo a segunda nervura bifurcada duas vezes. As antenas são longas e compostas por 16 pequenos segmentos cobertos por pelos curtos. Quando o inseto se encontra em repouso, as asas ficam abertas sobre o tórax em forma de V e fazem um ângulo de cerca de 45° em relação ao corpo. O abdómen é moderadamente longo e os segmentos posteriores encontram-se modificados, constituindo a genitália. O aparelho bucal das fêmeas é do tipo picador-sugador, formado por seis peças: lábio, epifaringe, um par de mandíbulas e um par de maxilas, que estão ausentes nos machos, uma vez que não são hematófagos (Service, 2012).

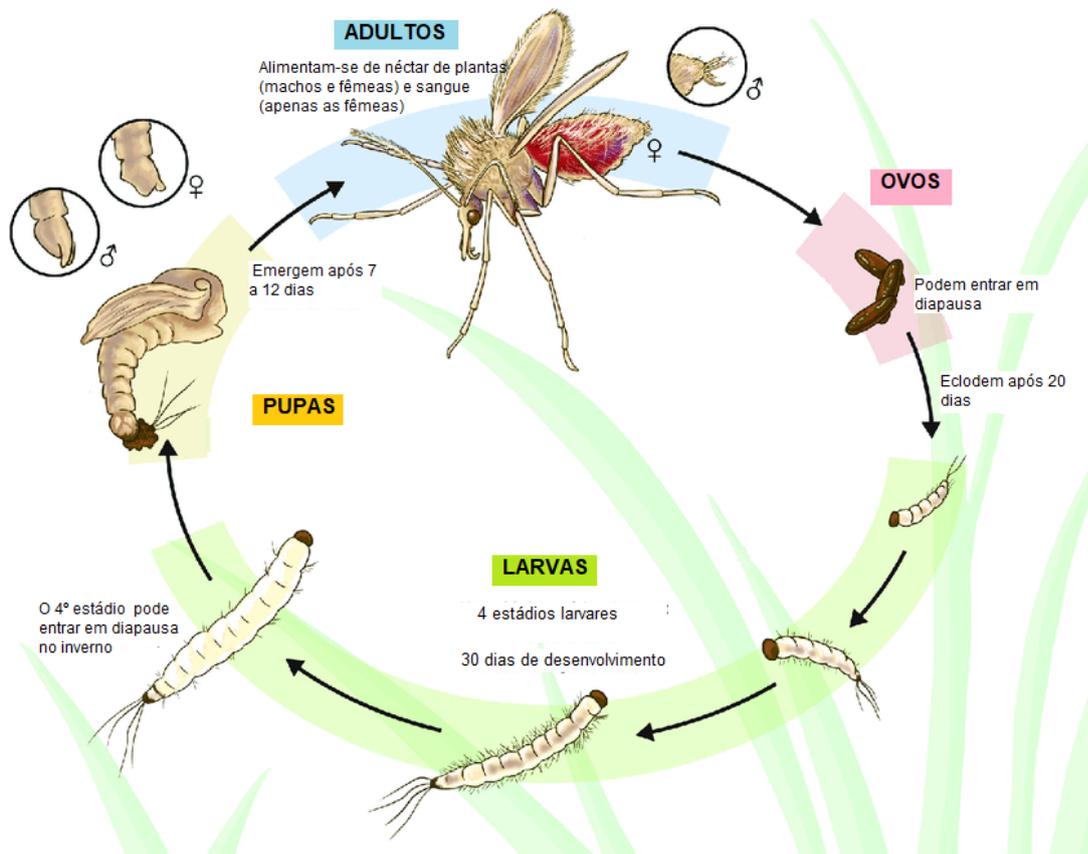


**Figura 3. Flebótomo fêmea sobre a pele de um hospedeiro**  
(Fonte: <https://phil.cdc.gov/details.aspx?pid=10275>)

### 3.2. Ciclo de vida

Assim como os outros dípteros, os flebótomos têm quatro estádios de vida: ovo, larva, pupa e adulto (Fig. 4). A fêmea adulta deposita cerca de 30 a 70 ovos em cada oviposição, normalmente em locais húmidos, protegidos da dessecação e próximos de matéria orgânica em decomposição (Lawyer & Perkins, 2004; (Service, 2012). A eclosão dos ovos ocorre após quatro a vinte dias, embora possa ser adiada em climas mais frios. As larvas passam por quatro estádios larvais (L1 a L4) e o desenvolvimento larval geralmente é concluído após 20 a 30 dias, no entanto a duração pode variar consoante a espécie, a temperatura e a disponibilidade de alimentos. Este período pode ser prolongado para vários meses em espécies que entram em diapausa durante o inverno. Os adultos emergem normalmente entre seis a treze dias após a formação da pupa. A expectativa de vida adulta na natureza é difícil de determinar com precisão, no entanto sabe-se que, enquanto os machos vivem apenas cerca de uma semana, as fêmeas têm um tempo de vida mais prolongado pois passam por mais de um ciclo gonotrófico (Cecílio *et al.*, 2022).

O ciclo de vida dos flebótomos, desde a oviposição até à emergência dos adultos, é de 30 a 60 dias, mas pode estender-se por vários meses caso as larvas entrem em diapausa (Service, 2012). Em áreas temperadas, os flebótomos passam o inverno como larvas, os adultos emergem na primavera e acabam por morrer no final do verão ou início do outono.



**Figura 4. Representação esquemática dos estádios de vida dos flebotomos.** O ciclo de vida implica quatro estádios: ovo, larva, pupa e adultos. Nas últimas duas formas é possível distinguir machos de fêmeas através de alterações morfológicas (apresentadas dentro dos círculos). (Adaptado de: Cecílio *et al.*, 2022)

### 3.3. Comportamento

Tanto os flebotomos machos como as fêmeas são fitófagos, ou seja, alimentam-se de açúcares e secreções vegetais. No entanto, as fêmeas também são hematófagas, visto que necessitam de se alimentar do sangue de vários vertebrados para suprir as carências nutricionais provocadas pela ovogênese (Service, 2012).

Os flebotomos adultos são fracos voadores e apenas um vento leve é capaz de inibir as atividades de voo e a possibilidade de se alimentarem. Os flebotomos têm um voo silencioso e característico, marcado por saltos, e geralmente permanecem a cerca

de 20 a 30 cm da superfície do solo (Lewis, 1971; Lawyer & Perkins, 2004). Normalmente, estes dípteros têm períodos de atividade crepuscular ou noturna, embora alguns se possam alimentar ao longo do dia. A maioria das picadas ocorre em temperaturas entre 25°C e 28°C (Lewis, 1971). As picadas de flebótomos costumam ser bastante dolorosas e duram poucos minutos. Os flebótomos são considerados insetos telmofágicos (*pool feeding*), pois a fêmea, ao realizar a refeição sanguínea, forma uma poça de sangue da qual se alimenta (Lawyer & Perkins, 2004). Durante a alimentação, o flebótomo liberta saliva, que contém moléculas ativas responsáveis pelo desequilíbrio na homeostase do hospedeiro, que facilita a alimentação. Enquanto uma molécula vasodilatadora da saliva promove o aumento da circulação sanguínea local, outras inibem a agregação plaquetária, resultando numa resposta homeostática ineficiente. Além disso, as proteínas salivares dos flebótomos favorecem respostas anti-inflamatórias locais, o que é benéfico para o estabelecimento dos parasitas (Cecílio *et al.*, 2022).

### **3.4. Distribuição**

Ao contrário dos mosquitos e outros dípteros, os flebótomos não têm uma fase aquática no seu ciclo de vida. No entanto, a humidade é um fator crucial e determinante no seu desenvolvimento, juntamente com a temperatura (Cecílio *et al.*, 2022). Estes insetos reproduzem-se no solo ou em matéria orgânica e o seu tamanho reduzido permite-lhes utilizar vários micro-habitat (Lawyer & Perkins, 2004). Porém, são muito limitados pelo frio, pelo que geralmente não são encontrados em altitudes acima de 2.800 metros e a sua distribuição é limitada a áreas com temperaturas acima de 15,6°C, por pelo menos três meses do ano (Lewis, 1971; Cecílio *et al.*, 2022). As larvas de algumas espécies de flebótomos passam o inverno em diapausa e os adultos emergem no início do verão, permitindo que a leishmaniose exista em regiões com invernos frios.

Os flebótomos não estão uniformemente distribuídos nos diferentes ambientes. As fêmeas são frequentemente encontradas em estábulos e ambientes peridomésticos, devido à presença de matéria orgânica animal, que proporciona condições adequadas para o desenvolvimento dos ovos e das larvas (Lewis, 1971).

O *Phlebotomus perniciosus* e o *Phlebotomus ariasi* são as espécies de flebótomos mais importantes na Europa Ocidental, nomeadamente em Portugal, onde

foram identificadas como as principais espécies vetoras de *Leishmania infantum* (Campino & Maia, 2010).

#### **4. Hospedeiro vertebrado**

Os hospedeiros de *Leishmania* incluem animais selvagens, domésticos e até mesmo seres humanos. A *Leishmania infantum* é o principal agente responsável pela leishmaniose em países da Europa, sendo o cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) considerado o seu hospedeiro principal (Quinnell & Courtenay, 2009). Apesar da leishmaniose Canina poder ser controlada nos cães domésticos, não é possível ter este controlo com cães de rua ou selvagens e raposas, que normalmente são os responsáveis pelos surtos da doença (Inceboz, 2019).

A leishmaniose também já foi relatada em gatos (*Felis catus*) e a maioria dos casos naturais descritos ocorreu na bacia do Mediterrâneo. (Fernandez-Gallego et al., 2020).

Além de afetar animais, a leishmaniose é uma doença zoonótica que pode ser transmitida a seres humanos (Inceboz, 2019). No entanto, apenas uma pequena fração dos infetados apresenta sintomas. Indivíduos imunodeprimidos têm maior probabilidade de desenvolver a doença de forma sintomática, com altas taxas de recidiva e mortalidade. A Leishmaniose Humana tem sido frequentemente associada com o vírus da imunodeficiência humana (HIV), onde, até 2021, a coinfeção *Leishmania*-HIV já foi relatada em 45 países (WHO, 2023).

#### **5. Ciclo de vida da *Leishmania***

A *Leishmania* é um parasita com um ciclo de vida heteroxeno, que requer dois hospedeiros, um mamífero e um inseto vetor (Cecílio, et al., 2014).

## 5.1. Ciclo de vida no vetor

As fêmeas dos flebótomos ficam infetadas com *Leishmania* após se alimentarem do sangue de um mamífero infetado (Bates, 2007). Durante a refeição, o flebótomo ingere amastigotas livres e células infetadas (Ogden & Melby, 2009). O intestino médio dos flebótomos é composto por células epiteliais que, em resposta à ingestão de sangue, produzem uma secreção responsável pela formação da membrana peritrófica. Esta membrana, composta por quitina e glicoproteínas, envolve os parasitas ingeridos juntamente com o sangue e atua como uma barreira protetora para o epitélio intestinal (Romoser, 1996). Para que a infeção se estabeleça, os parasitas devem ser capazes de escapar desta membrana (Cecílio *et al.*, 2022). Após serem ingeridos pelo flebótomo, os parasitas ficam sujeitos a mudanças, como a diminuição da temperatura e o aumento do pH, provocando a diferenciação dos amastigotas em promastigotas procíclicos dentro da membrana peritrófica. (Cecílio *et al.*, 2022; Clos *et al.*, 2022). Esta transformação começa algumas horas após a ingestão de sangue e é concluída após cerca de 24 a 48 horas (Sharma & Singh, 2008). Os **promastigotas procíclicos** são a primeira forma replicativa do parasita encontrada no vetor. Nesta forma, os parasitas proliferam de maneira logarítmica até atingirem uma fase estacionária (Clos *et al.*, 2022). Cerca de 48 a 72 horas após a ingestão de sangue, os promastigotas procíclicos reduzem a sua multiplicação e diferenciam-se em promastigotas nectomonas (Bates, 2007).

Os **promastigotas nectomonas** são formas mais alongadas, fortemente móveis e não divisíveis, que secretam uma quitinase responsável pela desintegração da membrana peritrófica, permitindo que os parasitas escapem (Bates, 2007). Após a saída da membrana peritrófica, os parasitas migram para a porção anterior do intestino médio do vetor (Gossage *et al.*, 2003). Os promastigotas nectomonas são responsáveis por um evento crucial no estabelecimento das infeções no vetor, que consiste na sua fixação no epitélio intestinal (Wilson, *et al.*, 2010). A fixação geralmente ocorre através do flagelo dos promastigotas, que se prende entre as microvilosidades do intestino médio do vetor, com ajuda do lipofosfoglicano glicoconjugado (LPG), uma molécula de superfície do parasita (Bates, 2007). Este evento é determinante na classificação de uma espécie de flebótomos como vetora, uma vez que quando a ligação dos promastigotas ao intestino

não ocorre com sucesso, os parasitas são excretados com as fezes e não completam o seu desenvolvimento (Baneth *et al.*, 2023).

O ciclo de vida continua com a migração dos promastigotas em direção ao intestino médio anterior. Após cinco a seis dias da ingestão de sangue, os promastigotas nectomonas atingem a válvula estomodeal e diferenciam-se em **promastigotas leptomonas** (Clos *et al.*, 2022). Estas formas mais curtas são responsáveis por outra fase replicativa no vetor e pela produção do gel secretório promastigota (PSG), que tem um papel importante na sobrevivência e transmissão do parasita (Bates, 2007). Eventualmente, os promastigotas leptomonas passam por outra etapa de diferenciação, a metaciclogênese, que dá origem à forma infetante da *Leishmania* para hospedeiros vertebrados, o promastigota metacíclico (Cecílio *et al.*, 2022).

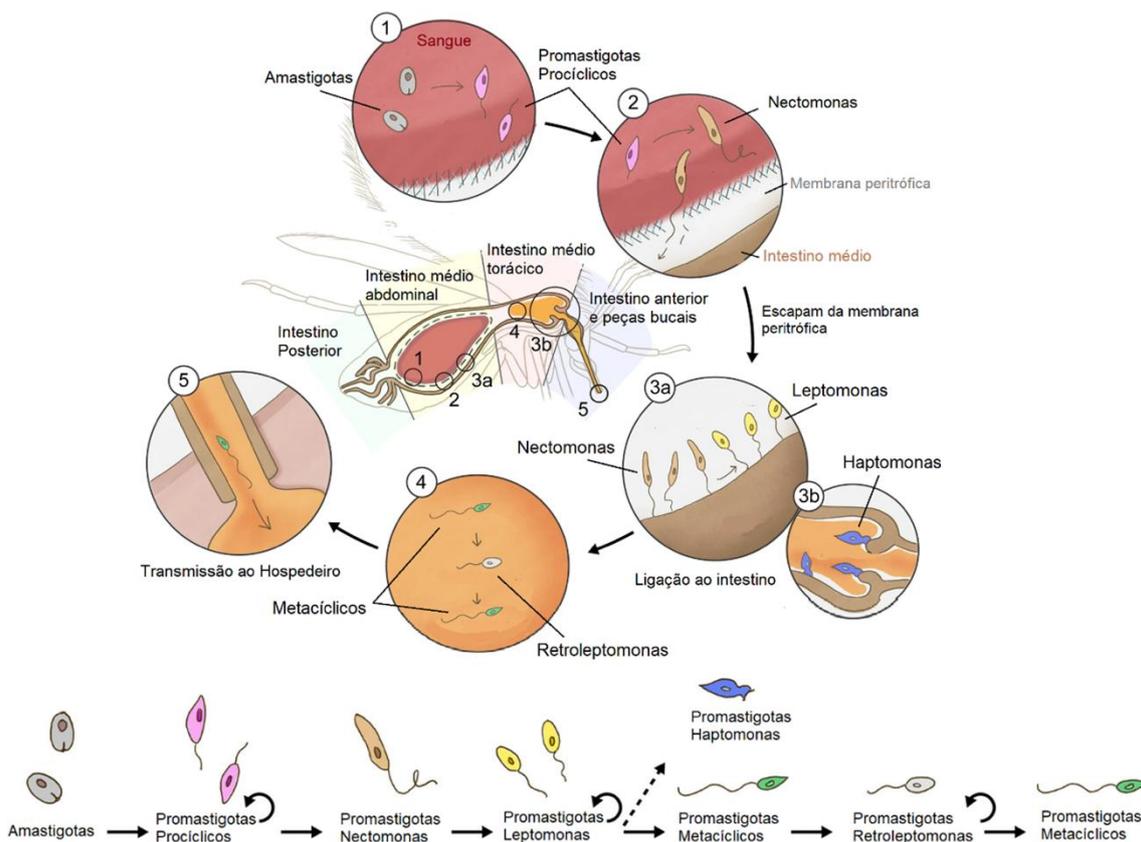
Os **promastigotas metacíclicos** são formas mais pequenas, ativamente móveis e não replicativas. Estas formas libertam-se das células epiteliais do intestino médio do flebótomo e migram anteriormente pelo intestino, alcançando a cavidade bucal e as partes da boca do flebótomo (Ogden & Melby, 2009). Entre quatro a vinte cinco dias após o flebótomo ter feito a refeição sanguínea, as formas promastigotas metacíclicas já podem ser encontradas nas suas peças bucais e ser transmitidas a um novo hospedeiro vertebrado (Service, 2012).

Nos flebótomos, a divisão entre o intestino médio e o intestino anterior é feita por uma estrutura designada cárdia. Os músculos da cárdia atuam como esfíncteres e produzem um efeito válvula, pelo que o termo "válvula estomodeal" pode ser utilizado para a cárdia. A cárdia assegura o fluxo do sangue do intestino anterior para o intestino médio e evita o refluxo para o intestino anterior (Romoser, 1996). Alguns dos promastigotas nectomonas e leptomonas ligam-se à superfície desta válvula e diferenciam-se em **haptomonas** (Gossage *et al.*, 2003). As haptomonas, em conjunto com o PSG, formam um gel viscoso que se deposita no lúmen do intestino anterior do inseto e na válvula estomodeal, formando um bloqueio que dificulta o fluxo normal do sangue. Este bloqueio resulta na regurgitação do sangue, juntamente com saliva do flebótomo e formas promastigotas metacíclicas (Rogers, 2012). Além disso, a quitinase secretada pelos promastigotas nectomonas danifica a cutícula da válvula estomodeal (Ramalho-Ortigão *et al.*, 2005) e contribui para o seu mau funcionamento, facilitando o refluxo de sangue e de parasitas (Bates, 2007). Assim, os insetos infetados têm mais

dificuldade em obter uma boa refeição de sangue, pelo que são obrigados a picar várias vezes a pele do mamífero e demoram mais tempo a alimentar-se, promovendo a expulsão das formas metacíclicas infetantes (Rogers & Bates, 2007).

Além das formas anteriormente descritas, foi ainda identificada uma nova forma, os **promastigotas retroleptomonas**, originados pela não diferenciação das formas metacíclicas na presença de nutrientes recém-disponíveis obtidos após uma nova ingestão de sangue pelo flebótomo já infetado. Como o nome indica, esta forma é morfológicamente e funcionalmente mais próxima dos promastigotas leptomonas, dado que, ao contrário das formas metacíclicas e em semelhança às leptomonas, os retroleptomonas são formas replicativas (Cecílio *et al.*, 2022).

O ciclo de vida da *Leishmania* no vetor (Fig. 5) tem uma duração de seis a catorze dias, conforme a espécie, o vetor e as condições ambientais (Campillo *et al.*, 1999).



**Figura 5. Ciclo de vida da *Leishmania* no intestino do flebótomo.** Representação esquemática das diferentes formas de *Leishmania* no vetor e das principais barreiras que devem superar para estabelecer uma infecção produtiva: 1) resistência ao ataque proteolítico e subprodutos tóxicos da digestão do sangue; 2) Saída da membrana peritrófica; 3a) fixação ao intestino médio para evitar a expulsão; 3b) fixação e comprometimento da válvula estomodeal; 4) desdiferenciação e replicação das formas metacíclicas; 5) Transmissão a um novo hospedeiro vertebrado. Também está representado um ciclo de vida linear da

*Leishmania* com as diferentes formas do parasita no vetor; as setas circulares destacam as formas replicativas do parasita. (Adaptado de: Cecílio *et al.*, 2022)

## 5.2. Ciclo de vida no hospedeiro vertebrado

No hospedeiro vertebrado, o ciclo da *Leishmania* é relativamente simples. Os promastigotas metacíclicos são inoculados na derme do mamífero, através da ferida criada durante a alimentação do flebótomo. Após contaminar a ferida, os promastigotas são fagocitados por macrófagos e outras células fagocíticas mononucleares (Ogden & Melby, 2009), onde se diferenciam em amastigotas, permanecendo nesta forma durante todo o ciclo de vida no hospedeiro mamífero (Cecílio *et al.*, 2014). Os parasitas intracelulares que sobrevivem multiplicam-se por divisão binária dentro dos vacúolos parasitóforos, até provocarem a sua lise, conseguindo, desta forma, escapar e invadir outras células do hospedeiro (Ogden & Melby, 2009; Baneth *et al.*, 2023). Assim, as *Leishmanias* são disseminadas por todo o organismo do hospedeiro através do sangue e da linfa, afetando principalmente os órgãos do sistema hemolinfático, como o baço, o fígado, a medula óssea e os linfonodos (Kumar, 2013).

## 6. Transmissão

A *Leishmania* é naturalmente transmitida aos hospedeiros vertebrados através da picada de flebátomos. No entanto, existe uma possibilidade de transmissão através de outros ectoparasitas hematófagos, como carraças e pulgas (Baneth *et al.*, 2008). São ainda descritas outras vias de transmissão, como a sexual, a vertical e através de transfusões sanguíneas (Oliveira *et al.*, 2015). Na década de oitenta foi comprovada outra via de transmissão de grande importância epidemiológica - a via mecânica artificial através da partilha de seringas e agulhas infetadas (Maia & Campino, 2018).

A transmissibilidade de cães infetados para flebátomos, está relacionada com a imunossupressão, verificando-se uma relação inversa entre a contagem de células T

CD4+ e a transmissibilidade para flebótomos. Assim, normalmente a transmissibilidade é maior em cães com doença clínica (Baneth *et al.*, 2008).

## 7. Suscetibilidade

A suscetibilidade à leishmaniose varia entre os animais. A capacidade de montar uma resposta imunológica produtiva, robusta e pró-inflamatória é o fator mais importante para determinar se os cães infectados desenvolvem uma infecção generalizada ou permanecem saudáveis. Inicialmente, a infecção é subclínica, embora possa progredir, caso a replicação do parasita não seja controlada. Cães que conseguem controlar a infecção e permanecer subclínicos por longos períodos ou durante toda a vida, são considerados clinicamente resistentes. Por outro lado, cães infectados e com predisposição ao desenvolvimento de doença, seja geneticamente ou devido a fatores secundários, como coinfeções, má nutrição, existência de outras patologias ou realização de tratamentos imunossupressores, são considerados suscetíveis. Tal como ocorre em pacientes humanos com HIV e em gatos infectados com FeLV ou FIV. Caso algum destes mesmos fatores ocorra mais tarde na vida de um animal assintomático, este pode alterar o tipo de resposta imune e a doença pode progredir (Baneth *et al.*, 2023).

Quanto à idade dos cães, estudos anteriores sugerem que a distribuição etária da LCan é bimodal, com maior prevalência em cães com menos de dois a três anos e com mais de sete a oito anos de idade (Blume *et al.*, 2019). Animais mais velhos apresentam um risco de seropositividade duas vezes maior do que cães mais jovens, que pode ser justificado pela maior exposição à infecção por *Leishmania*. Assim como acontece com cães alojados no exterior ou com acesso frequente ao exterior, que apresentam um maior risco de ser infectados devido à exposição prolongada às picadas de flebótomos (Vasconcelos *et al.*, 2017).

A raça dos cães pode influenciar o processo patológico da leishmaniose, tanto em relação à suscetibilidade quanto à resistência (Vasconcelos *et al.*, 2017). De facto, levantamentos epidemiológicos genéticos revelaram uma maior prevalência de infecção em Boxers, Pastores Alemães, Dobermans, Cocker Spaniels, e American e English

Foxhounds. Por outro lado, certas raças caninas, como o Podengo Ibicenco Mediterrânico, têm-se mostrado resistentes (Sanchez-Robert *et al.*, 2009). Nos cães desta raça verifica-se um aumento significativo de TNF- $\alpha$  (Fator de necrose tumoral) e IFN- $\gamma$  (Interferão-gama) após a realização de técnicas de estimulação com antígenos de *L. infantum*, o que aponta para o desenvolvimento de uma resposta imune do tipo T *helper* 1 (Th1) que, quando predominante, está associada à proteção contra a Leishmaniose. Além disso, o nível de anticorpos anti-*Leishmania* baixo detetado nos Podengos Ibicencos está de acordo com a literatura científica, que considera que altos títulos de anticorpos não são protetores e estão associados a cães sintomáticos. Associado à raça canina está o tamanho do pelo, verificando-se um aumento do risco de infeção em animais com pelo curto/médio (Vasconcelos *et al.*, 2017).

Os fatores genéticos também estão envolvidos na resistência ou suscetibilidade do hospedeiro à Leishmaniose (Handman *et al.*, 2005). Em 2003, foi realizado um estudo em cães de rua brasileiros expostos naturalmente à *L. infantum* que constatou que cães com o alelo DLA-DRB1\*01502 do Complexo Maior de Histocompatibilidade de classe II (CMH-II) mostravam níveis mais altos de IgG específicas e maior carga parasitária (Quinnell *et al.*, 2003). O gene *Slc11c1* (*Solute carrier family 11 member a1*) está envolvido na resistência do hospedeiro à *Leishmania*. Este gene codifica uma proteína que transporta ferro para fora dos fagolisossomas e macrófagos. Este mecanismo priva os agentes patogénicos intracelulares, como a *Leishmania*, de obterem ferro, impedindo o seu desenvolvimento (Braliou *et al.*, 2019).

## 8. Epidemiologia

A leishmaniose humana é endémica em 88 países, 66 no Velho Mundo e 22 no Novo Mundo (Fig. 6), e afeta principalmente populações mais pobres, que vivem em áreas rurais e suburbanas. Aproximadamente 12 milhões de humanos estão infetados e cerca de 350 milhões estão em risco de contrair a doença. A leishmaniose Cutânea tem uma incidência anual de 1-1,5 milhões de novos casos, e a leishmaniose Visceral, que é potencialmente fatal, apresenta uma incidência anual de 500.000 novos casos (Baneth *et*

al., 2023). No entanto, a verdadeira situação permanece em grande parte oculta, já que um número substancial de casos nunca é registado.

A leishmaniose canina provocada pela *L. infantum* é uma zoonose importante em vários países e áreas endémicas, incluindo Espanha, Portugal, sul da França, Itália, Malta, Grécia, Turquia, Israel, Egito, Tunísia, Argélia, Marrocos, Iraque, Irã, as antigas repúblicas da União Soviética, Paquistão, China, Brasil, Argentina, Uruguai, Paraguai e Venezuela. Podem ainda ocorrer casos esporádicos, como resultado do transporte de cães infetados para países onde não ocorre transmissão de *Leishmania* por flebótomos, como a Holanda, o Reino Unido e a Suécia (Baneth *et al.*, 2023).

O papel dos gatos na epidemiologia da leishmaniose tem sido alvo de estudo. Os gatos apresentam prevalências de infeção que variam entre os 0,3% e os 30,4%, sugerindo que esta espécie também tem alguma relevância no ciclo de transmissão do parasita (Maia & Campino, 2018).



Figura 6. Mapa da distribuição mundial da *Leishmania* em 2022 (Adaptado de: OMS, 2022)

## 8.1. A leishmaniose em Portugal

Em Portugal, a leishmaniose Humana é considerada predominantemente infantil, no entanto, também pode ser encontrada em adultos, principalmente associada a indivíduos imunocomprometidos e imunodeprimidos (Campino & Maia, 2010). O

primeiro caso de leishmaniose em Portugal foi descrito por Dionisio Alvares, em 1910, numa criança de nove anos de idade, residente em Lisboa. Um ano mais tarde foi feito o primeiro registo de leishmaniose canina, descrito por Álvares & Silva, num animal da zona de Lisboa (Campino & Maia, 2010).

O *Phlebotomus perniciosus* e *P. ariasi* são as espécies vetoras de *L. infantum* em Portugal, sendo que mais de 95% das estirpes de *L. infantum* isoladas, foram identificadas como sendo do zimodeme MON-1 (Maia & Campino, 2018).

Apesar de Portugal ser um país onde a leishmaniose Humana é hipoendémica, a prevalência de leishmaniose Canina é elevada. Em 2009 foi realizado o primeiro rastreio de LCan a nível nacional, e foi obtida uma seroprevalência global de 6,3%, com prevalências superiores a 12% nos distritos de Castelo Branco, Beja e Portalegre. No entanto, estes valores quase duplicaram nos últimos dez anos, passando para uma seroprevalência global de 12,5% em 2021 (Maia & Campino, 2018). Por repartição geográfica, o interior do país apresenta maior seroprevalência face ao litoral, com Portalegre (30,5%), Castelo Branco (29,9%) e Guarda (19,3%) a revelarem os níveis mais elevados (Almeida *et al.*, 2022). A emergência desta parasitose ocorrida nos últimos anos, pode dever-se a vários fatores, dos quais se destacam as modificações ambientais, as condições socioeconómicas e a resistência dos parasitas e vetores aos fármacos e inseticidas utilizados (Campino & Maia, 2010).

Verifica-se uma maior prevalência da infeção canina nas áreas rurais do país do que nas áreas urbanas e a situação inversa na incidência da infeção humana, este fenómeno pode ser explicado pelo facto do vetor ser predominantemente zoofílico, assim, o menor número de animais disponíveis nas áreas urbanas, deixa a população humana mais vulnerável à infeção acidental (Campino & Maia, 2010). Cães de distritos interiores, como Portalegre, Castelo Branco e Guarda, têm maior propensão a viver em ambientes rurais, especialmente próximos a currais, estábulos e galinheiros, com possível acumulação de matéria orgânica e condições ideais para os locais de descanso e reprodução de flebótomos, o que justifica a maior prevalência de leishmaniose canina nestas regiões (Almeida *et al.*, 2022).

A leishmaniose canina é um problema relevante em Portugal, pelo que é importante o desenvolvimento de redes de vigilância epidemiológicas que evitem a

possível entrada de novas espécies no nosso país e que também promovam o controle desta doença.

## 9. Resposta Imune

A resposta imune condiciona toda a evolução da infecção, desde o início até à resolução do processo patológico. A resposta imunitária inata é a primeira linha de defesa do hospedeiro contra agentes patogénicos invasores e consiste em defesas físicas (pele), defesas químicas (óxido nítrico e espécies reativas de oxigénio), fatores solúveis (complemento, quimiocinas e citocinas) e defesas celulares (neutrófilos e macrófagos), que determinam o curso da infecção (Panahi *et al.*, 2022). A resposta imune inata é mediada pela deteção de PAMPs (*Pathogen-associated molecular pattern*) por recetores, como os recetores Toll-like e NOD-Like (Baneth *et al.*, 2023).

O recrutamento e ativação de células imunitárias inatas é crucial para a eliminação dos agentes patogénicos invasores. Os macrófagos e monócitos são as principais células hospedeiras de *Leishmania*, no entanto uma variedade de outras células é recrutada para o local da picada do flebótomo. Os neutrófilos, as primeiras células fagocitárias a chegar ao local da inoculação, são capazes de eliminar os parasitas no início da infecção através da fagocitose e da produção de fatores microbicidas. Estas células também libertam armadilhas extracelulares que capturaram e matam promastigotas. Os macrófagos e monócitos são recrutados para o local de inoculação pelos neutrófilos e ficam infetados ao fagocitarem neutrófilos que contêm *Leishmania*, promastigotas livres que escaparam dos neutrófilos, ou amastigotas que previamente romperam a célula hospedeira. Uma vez dentro destas células, os promastigotas diferenciam-se em amastigotas, de modo a sobreviver ao ambiente hostil do fagolisossoma (Cecílio, *et al.*, 2014; Panahi *et al.*, 2022). Tanto os macrófagos quanto os monócitos são eficientes no controlo da infecção nos estádios iniciais. Durante a fagocitose, estas células libertam espécies reativas de oxigénio (ROS), que matam os parasitas rapidamente. Adicionalmente, também produzem óxido nítrico (NO), que se difunde através das membranas celulares e elimina os parasitas, tanto nas células produtoras de NO, quanto nas células vizinhas. Para que os macrófagos

libertem ROS, em quantidade suficiente para matar os parasitas, precisam ser previamente ativados por citocinas como o IFN- $\gamma$  e o TNF- $\alpha$ . (Panahi *et al.*, 2022).

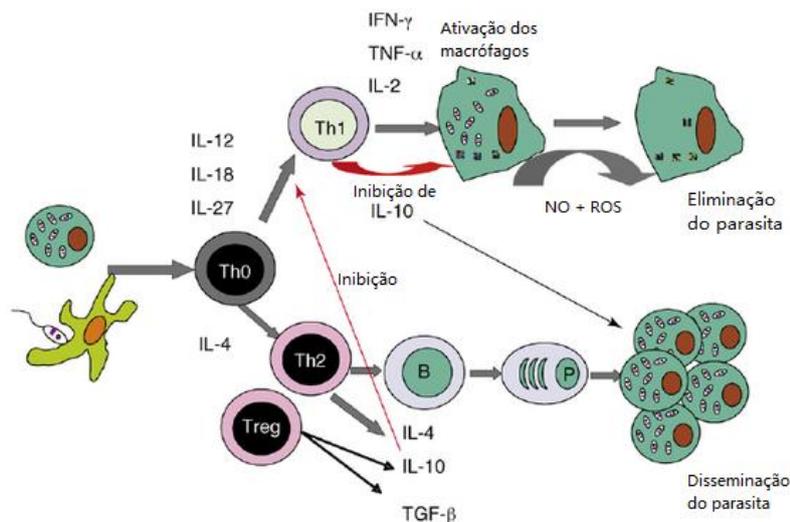
Os promastigotas de *Leishmania* inoculados interagem com o sistema do complemento do hospedeiro. As três vias do complemento (alternativa, clássica e da lectina) estão envolvidas, em diferentes graus, na eliminação dos parasitas. A ativação da proteína C3 convertase do complemento cliva C3 para gerar C3b, que facilita a deposição do complexo de ataque à membrana C5b-C9 na superfície dos promastigotas, resultando na lise do parasita. Além disso, o C3b também atua como uma opsonina, promovendo a fagocitose direta do parasita e a sua destruição pelas células imunológicas (Panahi *et al.*, 2022).

Após o envolvimento das células imunitárias inatas na defesa contra a *Leishmania*, as células do sistema imunitário adaptativo são ativadas para induzir uma resposta específica. O sistema adaptativo desempenha um papel crucial na infecção, integrando as respostas mediadas por células T, a produção de anticorpos e a indução da memória imunológica. As células dendríticas atuam como uma ponte entre os sistemas imunitário inato e adaptativo. Além de fagocitarem parasitas e neutrófilos infectados, estas células também ajudam a manter a imunidade e a estimular a resposta imunitária adaptativa na fase inicial da infecção (Panahi *et al.*, 2022).

A resposta celular inicia-se com a atuação das células apresentadoras de antígenos, que são macrófagos que fagocitaram de forma inespecífica o parasita e apresentam antígenos de *Leishmania* associados às moléculas do CMH-II na sua membrana externa. Este complexo é reconhecido pelos recetores de membrana dos linfócitos T *helper*, que promovem uma resposta específica (Moreno *et al.*, 1999).

As células T CD4+ *helper* são essenciais na determinação do desfecho da doença, ao impulsionar a diferenciação e ativação de diferentes subconjuntos de células, que tanto podem proteger o hospedeiro quanto promover o desenvolvimento da doença (Panahi *et al.*, 2022). Sendo assim, o resultado da infecção depende principalmente da ativação de um dos dois subconjuntos, as células T *helper* 1 (Th1) ou as T *helper* 2 (Th2) (Dubie & Mohammed, 2020). A imunidade protetora está relacionada com a expansão da subpopulação Th1 e produção de citocinas pro-inflamatórias, como IFN- $\gamma$ , Interleucina (IL)-12 e TNF- $\alpha$ , que induzem a ativação dos macrófagos, as respostas de

linfoproliferação e as reações de hipersensibilidade de tipo retardado. Por outro lado, a progressão da doença é promovida pela expansão da subpopulação Th2 e produção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10, IL-13 e fator transformador de crescimento beta (TGF- $\beta$ ), que inibem a ativação dos macrófagos e as respostas de linfoproliferação, e promovem a proliferação de linfócitos B e a produção de imunoglobulinas, condicionando a resposta humoral (Moreno *et al.*, 1999; Dubie & Mohammed, 2020). O predomínio da resposta tipo Th2 justifica a descrição de estados de imunossupressão, imunodepressão ou anergia imunitária na LCan, já que nestes casos não existe resposta celular ou esta é muito fraca (Moreno *et al.*, 1999). As respostas Th1 robustas de curto prazo controlam a infecção por *Leishmania*, mas sozinhas, em situações crônicas ou quando combinadas com respostas hiper-inflamatórias, podem dar a origem a uma inflamação prejudicial. Assim, à medida que a doença progride, há uma mudança na resposta das células T para uma resposta regulatória. Esta mudança deve-se a alterações na expressão de citocinas e à exposição prolongada ao antígeno (Solano-Gallego *et al.*, 2016). A imunidade reguladora leva à exaustão das células T, predominância de respostas de células B reguladoras, hiperprodução de imunoglobulinas, e consequente aumento da carga parasitária e doença clínica. Além disso, as células T reguladoras (Treg) contribuem diretamente para a persistência do parasita, uma vez que são a principal fonte de produção de IL-10 (Panahi *et al.*, 2022), que inibe diretamente a proliferação das células Th1 e impede a eliminação do parasita (Cecílio, et al., 2014). No entanto, as células Treg, além de impedirem fenômenos imunológicos indesejados e excessivos também evitam que o sistema imunitário identifique as suas próprias estruturas moleculares como antigênicas e desencadeie respostas autoimunes (Solano-Gallego *et al.*, 2016). Na figura 7 está esquematizado o contraste entre a resposta tipo Th1 e a resposta Th2.



**Figura 7. Contraste entre a resposta Th1 e a Th2 na infecção por *Leishmania***  
(Adaptado de: Baneth *et al.*, 2008)

A IL-12, além de induzir a maturação de células T para o fenótipo Th1 e desencadear a atividade leishmanicida dos macrófagos através da produção de NO, também é responsável pela ativação das células natural killer (NK), que, uma vez ativadas, têm capacidade de promover diretamente a lise das células infetadas por *Leishmania* (Dubie & Mohammed, 2020).

As células T CD8<sup>+</sup> também estão envolvidas na resposta imune, uma vez que podem estar associadas à alta produção de IFN- $\gamma$ , que promove a ativação dos macrófagos e estimula a produção de IL-12, no entanto também podem agir como células citotóxicas. O papel que estas células desempenham na infecção está associado à sua localização no hospedeiro. Quando localizadas nos nódulos linfáticos, as células T CD8<sup>+</sup> produzem IFN- $\gamma$  e são protetoras. Em contraste, quando migram para o local da lesão, produzem níveis mais baixos de IFN- $\gamma$  e exibem atividade citolítica, levando a uma resposta inflamatória exagerada que promove o dano tecidual. (Panahi *et al.*, 2022).

A leishmaniose canina pode estar associada a uma resposta humoral acentuada, que não é protetora e indica falha no controle da infecção (Baneth *et al.*, 2008). Os anticorpos específicos são fundamentalmente constituídos por IgGs. Nos cães infetados e assintomáticos verifica-se um aumento de anticorpos anti-*Leishmania* do tipo IgG2, enquanto que nos animais clinicamente doentes há predomínio das IgG1. Animais que

desenvolvam uma resposta protetora, mediada pelos linfócitos Th1, normalmente produzem poucos anticorpos, podendo até mesmo não existir. Por outro lado, animais suscetíveis com uma resposta celular do tipo Th2, têm uma produção de anticorpos muito destacada (Moreno *et al.*, 1999).

A infecção por *Leishmania* é controlada pelo desenvolvimento de uma resposta imunitária adaptativa do tipo Th1. Após a indução desta resposta, o número de parasitas diminui nos tecidos infetados, as lesões cicatrizam e obtém-se imunidade vitalícia contra a espécie de *Leishmania* infetante. Embora a recuperação da doença tenha sido alcançada, um pequeno número de parasitas permanece indefinidamente no hospedeiro, que são conhecidos como parasitas persistentes. Estes parasitas desempenham um papel importante na manutenção da imunidade protetora em caso de reinfeção, fornecendo uma fonte constante de antígenos de *Leishmania* para estimulação imunitária (Panahi *et al.*, 2022).

## 10. Patogenia

A infecção provocada pela *Leishmania* pode levar a diferentes manifestações clínicas, dependendo das interações entre o parasita e o sistema imunitário do hospedeiro. Como condicionantes da patogenia podem-se distinguir os fatores dependentes do parasita e do hospedeiro. Entre os fatores dependentes do parasita, destaca-se a espécie e, dentro desta o zimodema, visto que diferentes zimodemas podem ter diferentes virulências e antigenicidades. Os fatores dependentes do hospedeiro determinam mais diretamente a patogenia da doença, sendo considerados como fatores primários a constituição genética e a capacidade de resposta imunitária do hospedeiro, que condicionam a resistência ou suscetibilidade à infecção, bem como a predisposição para desenvolver um tipo ou outro de doença. Como fatores secundários, são considerados a condição sanitária e o estado nutricional do hospedeiro (Moreno *et al.*, 1999).

O primeiro desafio que *Leishmania* encontra no hospedeiro mamífero é o sistema do complemento (Cecílio, *et al.*, 2014). A maioria dos parasitas é eliminada, embora alguns consigam sobreviver (Ferrer L. , 2002). A resistência de promastigotas ao

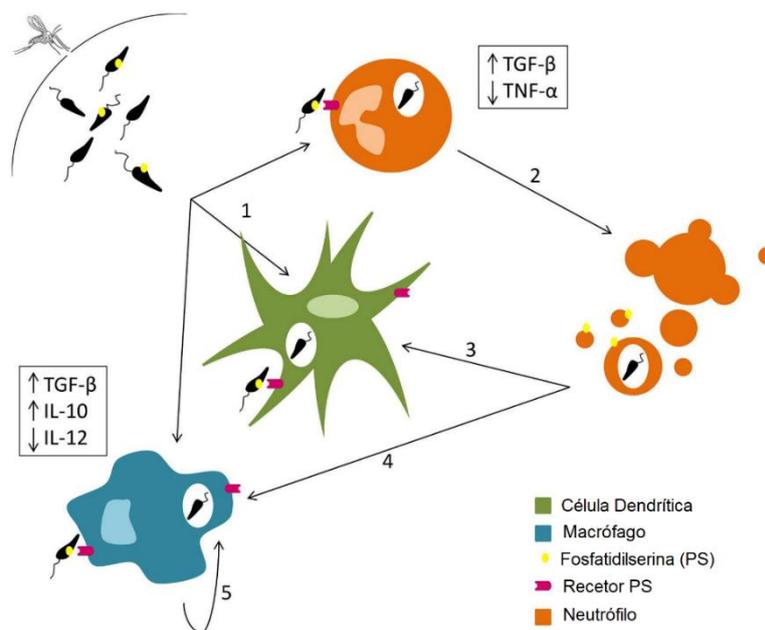
complemento está associada ao LPG e à glicoproteína maior de superfície (GP63). Enquanto o LPG evita o último passo da cascata do complemento através da prevenção da ligação do complexo C5b-C9 à superfície do parasita, o GP63 inativa o C3b, impedindo a formação do complexo C5 convertase e resultando na produção de iC3b, que reduz a produção de IL-12, interferindo na resposta imune do hospedeiro e favorecendo a evasão imunológica do parasita (Cecílio *et al.*, 2014).

A infecção das células do hospedeiro começa na pele, no local de inoculação de promastigotas pelo flebótomo, onde ocorre uma reação inflamatória localizada, atraindo neutrófilos, macrófagos e monócitos, que iniciam o processo de fagocitose das formas parasitárias presentes. O estabelecimento da infecção é o primeiro passo para o desenvolvimento da doença, o que implica que o parasita seja capaz de penetrar na célula fagocitária e, uma vez dentro desta, resista à sua ação microbicida e se multiplique (Moreno *et al.*, 1999).

Como resultado do contínuo processo de coevolução entre o hospedeiro e o parasita *Leishmania*, desenvolveu estratégias para utilizar a apoptose para seu próprio benefício, dado que a morte celular do parasita pode ser relevante para a deceção da resposta imune inicial. Deste modo, os vetores, ao realizarem a refeição de sangue, inoculam no hospedeiro mamífero parasitas vivos e também alguns parasitas mortos, para promover a entrada silenciosa da *Leishmania* nas primeiras células recrutadas para o local da inoculação. A necessidade de inocular parasitas mortos está relacionada com a exposição da fosfatidilserina (PS) na camada externa da membrana citoplasmática do parasita, que permite uma invasão silenciosa, induzindo a produção de citocinas anti-inflamatórias, como o TGF- $\beta$  (Fig.8) (Cecílio *et al.*, 2014).

Os neutrófilos são as primeiras células a chegar ao local da picada do flebótomo (Dubie & Mohammed, 2020). Normalmente, estas células têm uma vida útil relativamente curta (seis a dez horas), no entanto *Leishmania* pode atrasar a apoptose por mais de 24 horas, beneficiando da proteção de um local intracelular seguro. Este atraso no processo de apoptose natural dos neutrófilos está relacionado com a inibição da ativação da caspase-3, uma enzima associada à apoptose induzida destas células (Cecílio *et al.*, 2014). Após serem infetados, os neutrófilos secretam vários fatores e quimiocinas, que promovem o recrutamento de macrófagos e células dendríticas para o local da

infecção, que, posteriormente, irão fagocitar os neutrófilos infetados (Dubie & Mohammed, 2020). O parasita consegue, portanto, entrar nos macrófagos, que são a sua célula hospedeira principal, sem ser detetado, utilizando a estratégia do "Cavalo de Troia" (Cecílio *et al.*, 2014). A ingestão de neutrófilos infetados limita a ativação dos macrófagos e das células dendríticas, resultando numa atenuação da apresentação de antígenos de *Leishmania* e numa ativação ineficiente das células Th1. Além disso, provoca a secreção de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e TGF- $\beta$ , e reduz a produção de citocinas pró-inflamatórias, como IFN- $\gamma$  e TNF- $\alpha$ , criando um ambiente ideal para a sobrevivência do parasita (Fig.8) (Dubie & Mohammed, 2020).



**Figura 8. Entrada silenciosa de *Leishmania* nas células hospedeiras.** Os parasitas vivos e mortos são englobados por células fagocitárias. O reconhecimento da fosfatidilserina (PS) presente na membrana celular dos parasitas mortos induz a secreção de TGF- $\beta$  e a diminuição da produção de TNF- $\alpha$  (1). A apoptose dos neutrófilos é retardada pela *Leishmania* (2). Tanto as células dendríticas (3) quanto os macrófagos (4) removem corpos apoptóticos de neutrófilos que transportam promastigotas de *Leishmania* e secretam TGF- $\beta$  e IL-10. Os macrófagos também podem fagocitar parasitas livres provenientes da lise de outros macrófagos (5), o que, por sua vez, também promove a secreção de IL-10. (Adaptado de: Cecílio *et al.*, 2014)

Após ser fagocitada e uma vez englobada num vacúolo parasitário, que tem as mesmas características que um fagolisossoma, *Leishmania* utiliza mecanismos intrínsecos para resistir à ação das enzimas hidrolíticas e às ROS. Estes mecanismos

baseiam-se sobretudo na atividade da GP63 e do LPG, que degradam a maioria destas enzimas e inibem parcialmente a produção de ROS. Além disso, a *Leishmania* possui determinadas enzimas (catalase e superóxido dismutase) que contrariam a ação dos ROS (Moreno *et al.*, 1999).

Algumas espécies de *Leishmania* também inibem a apoptose dos macrófagos mas não a impedem, uma vez que quando um macrófago infetado morre os parasitas são capazes de escapar e infetar outras células (Cecílio *et al.*, 2014). Deste modo, a partir do ponto de inoculação, o parasita, dissemina-se rapidamente, por via sanguínea ou linfática. Um traço característico da leishmaniose canina é a distribuição generalizada do parasita por todo o organismo, assinalando-se como localizações mais marcadas o baço, os linfonodos, a medula óssea, o fígado, os rins e a pele (Moreno *et al.*, 1999).

A *Leishmania* possui mecanismos responsáveis por modular a resposta imune adaptativa, sendo um deles a indução da apoptose dos linfócitos T, tanto no sangue periférico quanto no baço de cães infetados. A imunossupressão associada à leishmaniose pode dever-se a estas taxas aceleradas de apoptose de células T, o que contribui para a desorganização da polpa branca no baço e para níveis diminuídos de células T no sangue (Cecílio *et al.*, 2014).

Após a infecção por *Leishmania*, a resposta imunitária celular do hospedeiro resulta num processo reativo tecidual, mais ou menos generalizado, cujo componente fundamental é uma reação inflamatória de tipo proliferativo, caracterizada por um infiltrado celular composto por macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, que se vai estendendo e afetando zonas cada vez mais amplas, dando origem a processos degenerativos e necróticos. Este tipo de lesões afetam órgãos e tecidos linfóides e hematopoiéticos, e originam uma degeneração hipoplásica progressiva, que por sua vez constitui um dos fatores determinantes da anemia que surge no curso da leishmaniose (Moreno *et al.*, 1999).

Da resposta humoral dos animais também derivam mecanismos imunopatogénicos, provocados por anticorpos e complexos imunes. O componente imunopatogénico mais importante da resposta humoral é a formação e depósito de complexos imunes circulantes (CIC), que se formam pela união de um antígeno de *Leishmania*, uma IgG ou IgM específica e frações do complemento. Os CIC alteram a

capacidade fagocítica dos monócitos e neutrófilos circulantes, interferem nos mecanismos de agregação plaquetária e estimulam a liberação de aminas vasoativas. Além disso, o depósito de CIC sobre o endotélio vascular dá origem a uma reação de hipersensibilidade do tipo III, na qual a ativação do sistema do complemento e a atuação de células inflamatórias alteram a permeabilidade vascular e provocam fenômenos de necrose celular (Moreno *et al.*, 1999). A deposição de CIC nas paredes dos vasos sanguíneos pode dar origem a vasculite, poliartrite, uveíte e glomerulonefrite, sendo a última uma das principais causas de morte de cães com leishmaniose (Baneth *et al.*, 2023).

## 11. Formas clínicas

A leishmaniose pode apresentar diferentes formas clínicas, dependendo da espécie de *Leishmania* envolvida e da relação do parasita com seu hospedeiro. Esta doença apresenta três formas clínicas predominantes: a leishmaniose Cutânea, a forma mais comum; a Leishmaniose Visceral, a mais grave que pode levar à morte se não for tratada e a leishmaniose Mucocutânea (OMS, 2023). A leishmaniose Visceral é a forma mais comum em cães.

A forma latente da leishmaniose canina, descrita como assintomática, pode ser regressiva, quando a infecção está a ser controlada por uma resposta imunitária do tipo Th1, ou evolutiva, quando a progressão para a forma sintomática ocorre lentamente, podendo demorar anos até ao desenvolvimento de doença (Campillo *et al.*, 1999)..

As formas patentes da leishmaniose podem ser oligossintomáticas, quando existem poucos sintomas ou estes são leves, ou polissintomáticas, com presença de manifestações clínicas claras e marcadas da doença. De acordo com o nível de afetação orgânica, os tipos de apresentação desta doença podem ser descritos como processos viscerais, cutâneos ou mucocutâneos. Quanto ao curso da doença, a leishmaniose pode apresentar quadros agudos, subagudos e crónicos. Os quadros agudos e subagudos são pouco comuns (menos de 20% dos casos) e envolvem uma evolução que varia entre três a quatro semanas e dois a três meses, geralmente com sintomatologia grave. As formas

progressivas, de curso crónico e com implicação visceral e cutânea são as mais frequentes na Bacia Mediterrânica (Campillo *et al.*, 1999).

## **12. Sintomatologia e lesões**

O desfecho da leishmaniose canina é variável. Alguns cães infetados podem desenvolver uma infeção sintomática que resulta numa marcada manifestação clínica da infeção e possível morte do animal, enquanto outros permanecem assintomáticos ou desenvolvem sintomas leves (Barbiéri, 2006).

Os sinais clínicos da LCan podem desenvolver-se cerca de 3 meses a 7 anos após a infeção e, embora seja frequentemente classificada como uma doença visceral, os cães infetados geralmente também apresentam envolvimento cutâneo. Esta doença é essencialmente sistémica e pode envolver qualquer órgão, tecido e fluído corporal, manifestando-se por uma grande variabilidade de sinais clínicos (Baneth *et al.*, 2023). Os sintomas podem variar desde alterações inespecíficas do estado geral do animal, com um início fraco e insidioso, até sinais marcados e significativos da doença, com desenvolvimento progressivo e crescente (Alvar *et al.*, 2004). Os principais achados em cães com LCan são lesões cutâneas, linfadenomegalia local ou generalizada, condição corporal diminuída, intolerância ao exercício, falta de apetite, letargia, esplenomegalia, poliúria e polidipsia, lesões oculares, epistaxe, onicogribose, claudicação, vómitos e diarreia. A temperatura retal pode variar, mas geralmente encontra-se dentro da normalidade (Baneth *et al.*, 2023).

No período inicial da doença observa-se perda de peso ligeira e constante acompanhada de astenia, apatia e, por vezes, anorexia, o que pode ser denominado como síndrome geral inespecífico. Também se podem observar alterações cutâneas, sob a forma de alopecia, principalmente na região periorbitária e auricular e uma leve adenopatia nos linfonodos poplíteos e pré-escapulares. Por vezes, ainda são referidos processos hemorrágicos, como a epistaxe, como um dos primeiros sintomas da doença. O período patente da LCan caracteriza-se por um quadro sintomático variável em intensidade, conforme o tipo evolutivo da doença. Os sintomas mais frequentes são as

linfadenopatias, alterações cutâneas, e alterações gerais inespecíficas, como hipertermia, apatia, astenia, anorexia, polidipsia e perda de peso, que pode ser mais acentuada nesta fase da doença. O período terminal, que pode surgir entre 3 e 8 meses após a infecção, caracteriza-se pelo agravamento do estado geral do animal, com destacada emaciação, podendo mesmo atingir um estado caquético no qual se podem observar facilmente as apófises das vértebras, as costelas e as saliências ósseas articulares. Geralmente, também se verifica insuficiência renal grave, que na maioria das ocasiões é a causa direta de morte. É ainda frequente, nesta fase da doença, a presença de disfunção hepática e esplênica e o aparecimento de complicações por infecções secundárias, como broncopneumonias e gastroenterites. Outros sintomas incluem alterações da locomoção, paresia das extremidades posteriores, sinais de disfunção renal, como dor à palpação e encurvamento dorsolombar permanente, e alternância entre diarreia e obstipação (Campillo *et al.*, 1999).

A base do quadro lesional de todos os órgãos afetados pela leishmaniose é um processo reativo que se caracteriza por uma reação inflamatória crônica proliferativa com infiltrado inflamatório constituído por macrófagos, linfócitos e células plasmáticas, que se dispõe de forma difusa ou forma granulomas. Pode ainda resultar em processos degenerativos e necróticos. As lesões mais marcadas encontram-se nos rins, fígado, órgãos linfóides e na pele (Campillo *et al.*, 1999).

### **12.1. Lesões cutâneas**

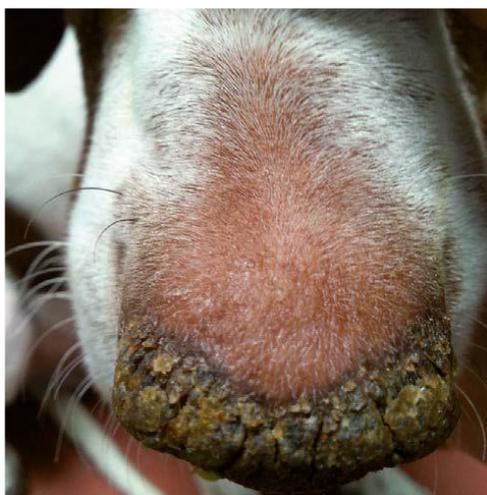
A leishmaniose Ccnina está frequentemente associada a várias lesões cutâneas, que podem ser locais ou generalizadas. As alterações cutâneas estão presentes em 56% a 90% dos cães com doença clínica. Estas alterações podem ocorrer na ausência de outros sinais clínicos, no entanto animais com manifestações cutâneas, normalmente já têm envolvimento visceral, uma vez que a disseminação da *Leishmania* ocorre antes do desenvolvimento de lesões cutâneas. Os principais sinais cutâneos de LCan, que raramente estão associados a prurido, incluem: dermatite descamativa com alopecia, que pode ser generalizada ou localizada, principalmente na face (Fig. 9), orelhas e membros; dermatite ulcerativa; dermatite nodular focal ou multifocal; dermatite mucocutânea proliferativa; dermatite papular; dermatite pustulosa; unhas longas e espessas (onicogrifose) (Fig. 11); hiperqueratose nasal (Fig.10) e digital; e alopecia multifocal

(Baneth *et al.*, 2023). A presença de mucosas pálidas e reações eritematosas também são comuns (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

A *Leishmania* chega à pele através da corrente sanguínea e pode originar uma dermatite esfoliativa não pruriginosa, com ou sem alopecia, (Ribeiro, *et al.*, 2018), que pode estar associada a seborreia seca com escamas brancas (Gharbi *et al.*, 2015).



**Figura 9.** Lesões cutâneas na região periorbitária de um cão com leishmaniose (Fonte: Baneth *et al.*, 2017)



**Figura 10.** Hiperqueratose no nariz de um cão com leishmaniose (Fonte: Gharbi *et al.*, 2015)



**Figura 11.** Onicogribose num cão com leishmaniose (Fonte: Gharbi *et al.*, 2015)

As úlceras cutâneas ou mucosas encontradas em cães com Leishmaniose, normalmente estão associadas à necrose da camada epidérmica e dérmica, onde se verifica a presença de um infiltrado com uma mistura de histiócitos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos infetados por amastigotas (Gharbi *et al.*, 2015). Estas lesões

estão localizadas principalmente na região periorbitária, narinas, pontas das orelhas, face, sobre saliências ósseas e na região interdigital (Campillo *et al.*, 1999).

A leishmaniose nodular não é comum, no entanto alguns cães desenvolvem lesões nodulares que podem variar desde pápulas simples até nódulos semelhantes a tumores. Os nódulos podem ser generalizados ou localizados e, em alguns casos, podem acabar por ulcerar (Gharbi *et al.*, 2015). Esta forma de leishmaniose tem sido associada a uma resposta imunitária ineficaz do hospedeiro, sendo principalmente observada em cães da raça Boxer (Ferrer *et al.*, 1988).

A forma postular é a mais incomum, porém são relatadas frequentemente infecções secundárias bacterianas superficiais e/ou profundas (principalmente por *Staphylococcus spp.*) ou fúngicas (como por *Malassezia pachydermatis*), que podem dar origem a uma dermatite postular (Gharbi *et al.*, 2015).

Embora a inflamação da pele seja uma manifestação comum em cães com leishmaniose, observa-se uma baixa intensidade de infiltrado inflamatório na ausência de amastigotas na pele de cães, sugerindo que existe uma correlação entre o número de amastigotas e a intensidade da inflamação. Nos cães clinicamente afetados, quando poucos ou nenhum amastigotas de *Leishmania* são observados, o infiltrado inflamatório é constituído principalmente por linfócitos e macrófagos. Por outro lado, quando muitos parasitas estão presentes, o infiltrado também contém uma grande quantidade de neutrófilos (Verçosa *et al.*, 2008).

## **12.2. Lesões nasais**

As afeções nasais em cães com leishmaniose são variáveis. Pode verificar-se desde rinite serosa com fluxo até rinite mucopurulenta. Alguns cães podem apresentar epistaxes, que podem ser uni ou bilaterais, de intensidade muito variável (Campillo *et al.*, 1999). A epistaxe profusa pode aparecer como único sinal de doença e pode ser uma causa de morte, caso a perda de sangue seja incontrollável. Estas hemorragias nasais normalmente estão subjacentes a rinite piogranulomatosa ou linfoplasmocítica, trombocitopatia e hiperglobulinemia. A hemorragia nasal (epistaxe), a hematúria e a diarreia hemorrágica na LCan, estão associadas a alterações na hemostasia primária e

secundária e a anomalias na agregação plaquetária, trombocitopénia e diminuição das atividades dos fatores de coagulação e fibrinólise (Baneth *et al.*, 2008).

### **12.3. Linfadenopatia**

Em cães com LCan pode verificar-se uma linfadenopatia generalizada que se manifesta com aumento de tamanho e consistência dos linfonodos superficiais, especialmente dos poplíteos, pré-escapulares e submaxilares (Campillo *et al.*, 1999). A adenomegalia é provocada pelo aumento do número e tamanho dos folículos linfóides e pela marcada hipertrofia e hiperplasia dos macrófagos nos cordões e seios medulares. (Baneth *et al.*, 2008). Quase todos os cães com leishmaniose clínica têm hiperplasia reativa dos gânglios linfáticos, embora uma pequena percentagem também possa apresentar linfadenite histiocítica (Thrall *et al.*, 2022). Nos estágios avançados da doença os linfonodos periféricos podem tornar-se normais ou até hipoplásicos (Saridomichelakis, 2009).

### **12.4. Lesões renais**

Os rins são afetados em praticamente todos os cães com LCan e a lesão renal pode progredir rapidamente de proteinúria assintomática para síndrome nefrótica ou insuficiência renal crónica com glomerulonefrite, sendo uma frequente causa de morte (Baneth *et al.*, 2008).

As primeiras alterações afetam o sistema tubular, surgindo uma tubulonefrose. As lesões glomerulares aparecem mais tarde e podem manifestar-se de forma diversa. A mais notável é uma glomerulonefrite membranoproliferativa, caracterizada pelo espessamento da membrana basal glomerular provocado pelo depósito de substância hialina (ocasionalmente amiloide) e pela proliferação de células endoteliais e mesangiais. Outro tipo de lesão renal próprio da leishmaniose é a nefrite intersticial difusa, que aparece com alguma frequência e destaca-se pela presença de edema generalizado e de infiltrado celular abundante no interstício renal (Campillo *et al.*, 1999).

O dano renal na LCan é provocado maioritariamente pela deposição de complexos imunes circulantes (CICs) na membrana basal do glomérulo (Wilson *et al.*, 2017). O desequilíbrio da função renal está relacionado a altas concentrações destes CICs, pelo que cães infetados, mas com pouca ou nenhuma resposta humoral, normalmente não desenvolvem lesões renais (Alvar *et al.*, 2004).

A glomerulonefrite mediada por complexos imunes é provocada pela deposição de imunoglobulinas ou fatores do complemento na parede capilar glomerular, que pode ocorrer de duas maneiras (Grant & Forrester, 2001): 1. Os complexos antígeno-anticorpo circulantes são depositados e aprisionados dentro dos glomérulos; 2. O antígeno é aprisionado na parede capilar glomerular e os anticorpos circulantes formam complexos com ele. Uma vez formados os complexos imunes, há uma combinação complexa de ativação do complemento, infiltração de neutrófilos e macrófagos, agregação plaquetária, ativação da cascata de coagulação e deposição de fibrina que provoca danos no glomérulo. A ativação e agregação de plaquetas resulta na formação de eicosanóides (tromboxano e leucotrieno). Os tromboxanos, além de interferirem na eliminação dos complexos imunes, são quimiotáticos para neutrófilos e diminuem a taxa de filtração glomerular. As plaquetas, assim como os neutrófilos, os macrófagos e as células endoteliais e mesangiais, libertam o fator ativador de plaquetas, que além de neutralizar as cargas negativas nas paredes capilares glomerulares e aumentar a albuminúria, também é quimiotático para neutrófilos e macrófagos, perpetuando, assim, um ciclo contínuo de libertação de mediadores inflamatórios, que lesiona os glomérulos (Grant & Forrester, 2001). As citocinas e os fatores de crescimento produzidos pelas células inflamatórias e pelas células glomerulares incitam a inflamação e contribuem para a ativação das células mesangiais, resultando na proliferação celular e aumento da produção de matriz mesangial nos glomérulos, que pode dar origem à disfunção renal (Chew *et al.*, 2010).

Se os danos provocados aos glomérulos forem persistentes e graves, podem ocorrer alterações escleróticas, como a glomerulosclerose, que envolvem a hialinização e aumento do tecido conjuntivo fibroso, resultando na perda funcional do nefrónio inteiro e, eventualmente, em insuficiência renal crónica (Grauer, 2003). A característica mais marcante da doença glomerular é a proteinúria, que ocorre devido à alteração na permeabilidade capilar glomerular às proteínas plasmáticas, especialmente à albumina. (Elliott *et al.*, 2017). As alterações hemodinâmicas e inflamatórias associadas à disfunção

glomerular podem dar origem a hipertensão sistêmica e ocorrência de eventos tromboembólicos (Chew *et al.*, 2010).

Apesar da alta prevalência de patologias renais, a elevação da creatinina e ureia sérica, típica de insuficiência renal, só é evidente quando a maioria dos nefrônios já está disfuncional, pelo que só é detetada tarde na progressão da doença (Baneth *et al.*, 2008).

## 12.5. Lesões Oculares

As lesões oculares em cães com leishmaniose são frequentes e apresentam uma prevalência que varia entre 16% e 92%. As manifestações oculares são polimórficas e podem incluir: conjuntivite difusa ou nodular; blefarite exfoliativa, ulcerativa ou nodular; uveíte anterior ou posterior; úlceras corneanas; celulite orbital; miosite dos músculos extraoculares; glaucoma; panofalmita; queratoconjuntivite e queratoconjuntivite seca (Goulli *et al.*, 2023). Estas alterações, normalmente são uma consequência da infiltração de células plasmáticas e macrófagos infectados com amastigotas, que causam lesões em diferentes estruturas do olho (Alvar *et al.*, 2004).

A queratoconjuntivite seca observada em cães com leishmaniose pode dever-se à diminuição da produção de lágrimas, que ocorre devido à retenção secretora provocada pela infiltração inflamatória em torno dos ductos da glândula lacrimal (Baneth *et al.*, 2008). No entanto, alguns autores sugerem que o défice de secreção lacrimal é provocado pela ação mecânica direta dos parasitas no aparelho lacrimal ou por danos induzidos por IgGs específicas contra a *Leishmania*. A queratoconjuntivite seca também pode ser explicada pela hipoestesia corneana provocada por lesões na córnea e nas glândulas de Meibomius, que resultam na produção de um filme lacrimal instável e evaporação precoce das lágrimas (Goulli *et al.*, 2023).

A prevalência de conjuntivite em cães com LCan varia entre 8% e 34,1% e normalmente é provocada pela presença do parasita ou de complexos imunes, que desencadeiam perivasculite. Entre as diferentes estruturas oculares e perioculares, a conjuntiva da membrana nictitante é o tecido mais afetado pelo infiltrado inflamatório e também o que tem maior grau de parasitismo (Goulli *et al.*, 2023).

As úlceras corneanas podem surgir de forma secundária à inflamação induzida pelo parasita na córnea, à deficiência lacrimal, ou ao atrito provocado pelos folículos linfóides hiperplásicos na córnea. A blefarite, associada ou não com alopecia periocular e descamação, encontrada em cães com LCan, pode ser provocada pela ação mecânica dos parasitas que causa inflamação dos vasos sanguíneos, ou pela vasculite isquêmica e necrosante provocada por mecanismos imunopatogénicos como a deposição de complexos imunes nos vasos (Goulli *et al.*, 2023).

Apesar de já terem sido detetadas formas amastigotas de *Leishmania* em diferentes estruturas oculares (Pontes *et al.*, 2006), os processos imunológicos estão muitas vezes relacionados com a patogénese da inflamação ocular, devido à produção e deposição local de complexos imunes após a penetração da *Leishmania* no olho. Geralmente, nos estádios iniciais da inflamação uveal, a úvea produz anticorpos específicos em grandes quantidades, que posteriormente se combinam com os antigénios encontrados *in situ* e formam complexos imunes, que acabam por lesionar várias estruturas do olho. A uveíte anterior também pode ser provocada devido a uma reação de hipersensibilidade do tipo III ou a complicações pós-terapêuticas associadas a um mecanismo alérgico resultante da destruição da *Leishmania* nos tecidos oculares (Goulli *et al.*, 2023).

Apesar do segmento anterior ser mais frequentemente afetado pela leishmaniose do que o segmento posterior, alguns cães também apresentam lesões no fundo ocular. No entanto, este tipo de lesão pode ser subestimado devido a uma resposta pupilar insuficiente e à pouca transparência dos meios intraoculares, que tornam o fundo ocular inacessível à oftalmoscopia. Além disso, a ausência de sinais clínicos não motiva os tutores a procurar uma consulta veterinária, pelo que, na uveíte posterior, os cães são frequentemente diagnosticados já em estádios tardios da doença. As lesões no segmento posterior, geralmente, são provocadas pela expansão do processo inflamatório a partir do segmento anterior, onde a coriorretinite e o descolamento da retina são as lesões mais observadas (Goulli *et al.*, 2023).

Uma das complicações da uveíte crónica é o glaucoma. O ângulo iridocorneano pode ser obstruído com células inflamatórias, fibrina, sangue, proteínas moleculares

grandes e sinequias anteriores, que provocam o aumento da pressão intraocular e aparecimento de uveíte hipertensiva ou glaucoma (Goulli *et al.*, 2023).

## **12.6. Lesões esplénicas**

As lesões esplénicas são frequentemente relatadas em cães com leishmaniose e correspondem, principalmente, a um aumento significativo do baço de duas a três vezes o seu tamanho normal, que pode ser acompanhado por uma coloração escura na superfície e presença de lesões nodulares, microscopicamente compatíveis com esplenite granulomatosa (Peris *et al.*, 2022). A principal alteração provocada pela LCan no baço é uma inflamação hiperplásica com depleção linfocitária e, histopatologicamente, observa-se uma desorganização anatómica e funcional. As alterações mais importantes ocorrem na polpa branca, na qual se verifica uma disfunção linfocitária, com redução, atrofia e até desaparecimento dos folículos linfóides. A polpa vermelha também fica alterada, observando-se fenómenos de hiperemia e microhemorragias (Campillo *et al.*, 1999). O aumento do tamanho do baço está associado à proliferação e/ou infiltração de células imunes, à hiperplasia da polpa branca e vermelha e às alterações na estrutura microvascular (Saridomichelakis, 2009), observando-se abundantes vénulas e veias e aumento das fibras reticulares (Baneth *et al.*, 2008).

## **12.7. Lesões hepáticas**

As lesões macroscópicas no fígado de cães infetados por *Leishmania* são muito menos comuns do que as lesões esplénicas e correspondem principalmente à hepatomegalia, ao escurecimento da coloração da superfície e, ocasionalmente, à presença de lesões nodulares focais de cor clara (Peris *et al.*, 2022). No entanto, as lesões microscópicas são bastante comuns e caracterizadas pela presença de infiltrações inflamatórias e formação de granulomas hepáticos de tamanho variável compostos por macrófagos, células epiteliais, e um pequeno número de linfócitos, plasmócitos e neutrófilos (Lima *et al.*, 2019). Outros achados histológicos adicionais incluem a hipertrofia/hiperplasia das células de Kupffer, degeneração vacuolar e necrose dos hepatócitos, fibrose, e raramente amiloidose. A hepatomegalia, que é muito mais comum

em exames *post-mortem* do que em exames físicos, resulta da infiltração de células inflamatórias, da hipertrofia/hiperplasia das células residentes e possivelmente da congestão passiva (Saridomichelakis, 2009).

A gravidade das lesões hepáticas depende da resposta imunológica do hospedeiro e pode ser bastante variável (Rallis *et al.*, 2005). No fígado de cães assintomáticos, que desenvolveram uma resposta imune do tipo Th1, observam-se granulomas bem organizados. Em contraste, em animais sintomáticos, os granulomas são desorganizados e verifica-se intenso parasitismo das células de Kupffer (Lima *et al.*, 2019). Os granulomas hepáticos são bastante eficazes na eliminação dos parasitas e a sua ausência ou desorganização resulta numa maior carga parasitária e num prognóstico desfavorável para o hospedeiro (Poulaki *et al.*, 2021).

A patologia hepática provocada pela LCan contribui para várias alterações clínico-patológicas, como a hipoalbuminémia e o aumento das enzimas hepáticas séricas, como a alanina aminotransferase (ALT), a fosfatase alcalina (ALP) e a gama glutamil transferase (GGT), mas raramente resulta em insuficiência hepática (Saridomichelakis, 2009).

O diagnóstico de leishmaniose canina, perante estas lesões hepáticas, pode ser complicado devido à coexistência de infeções com tropismo hepático e semelhantes alterações, como a Ehrlichiose ou a Hepatozoonose. Além disso, a hepatite na LCan é geralmente subclínica, e as manifestações de insuficiência hepática, como ascite e icterícia, apenas ocorrem em 0 a 2,5% dos cães infetados (Rallis *et al.*, 2005).

A esplenomegalia, linfadenopatia e hepatomegalia são características marcantes da visceralização da leishmaniose, que confirmam a falha das respostas granulomatosas do hospedeiro em controlar a carga parasitária e prevenir a disseminação e estabelecimento da infeção (Poulaki *et al.*, 2021).

## **12.8. Lesões na medula óssea**

A medula óssea é outro órgão seriamente afetado pela leishmaniose. Este órgão fica densamente parasitado e é considerado o responsável pela persistência da doença e

existência de recidivas. Embora a hematopoiese seja normal nos estádios iniciais da doença, o aumento da carga parasitária na medula óssea provoca alterações na produção celular e dá origem a pancitopenia e anemia não regenerativa (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

A inflamação granulomatosa da medula óssea pode ser acompanhada por hipoplasia e/ou displasia eritroide, hipoplasia eosinofílica, hiperplasia granulocítica, eritrofagocitose, aumento do número de linfócitos e células plasmáticas, que é consistente com a hipergamaglobulinemia comumente observada em cães com LCan, e pelo aumento da proporção mieloide/eritroide, culminando em aplasia medular (Saridomichelakis, 2009; Baneth *et al.*, 2023). Isto traduz-se em distúrbios hematológicos que são agravados pelos danos provocados no baço (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Uma alta carga parasitária na medula óssea e no baço está associada a casos de leishmaniose mais graves, devido à presença de manifestações clínicas mais severas e à maior suscetibilidade a coinfeções bacterianas e/ou fúngicas (Almeida *et al.*, 2021). Além disso, a combinação dos efeitos pró-inflamatórios do parasita na medula óssea e a desorganização do parênquima esplênico envolvem o hospedeiro num círculo vicioso de produção de células mieloides regulatórias, que não só são ineficazes contra o parasita, mas também são utilizadas pela *Leishmania* para a sua replicação (Poulaki *et al.*, 2021).

## **12.9. Lesões nos ossos, músculos e articulações**

Cães com LCan podem apresentar alterações na locomoção devido a lesões nos ossos, músculos e articulações (Agut *et al.*, 2003). O dano ósseo é mais comum do que se suspeita clinicamente e é provocado pela osteomielite granulomatosa secundária à disseminação hematogénica da *Leishmania* (Saridomichelakis, 2009). Os ossos afetados tipicamente apresentam lesões proliferativas periosteais e intramedulares com frequente osteólise cortical e medular (Baneth *et al.*, 2008).

Algumas das lesões articulares mais comuns em cães com LCan incluem artrite, poliartrite, osteoartrite, sinovite e artropatia por deposição de complexos imunes (Agut *et al.*, 2003). Estas lesões geralmente resultam da inflamação granulomatosa secundária à

infecção sinovial e da inflamação neutrofílica provocada pela deposição de complexos imunes (Saridomichelakis, 2009).

A inflamação dos músculos é comum na LCan e geralmente manifesta-se como atrofia muscular progressiva, mais pronunciada nos músculos mastigatórios. As lesões musculares ocorrem devido à polimiosite crónica associada à inflamação granulomatosa provocada pela presença de amastigotas de *Leishmania* dentro de macrófagos e miofibras, à deposição de complexos imunes nos tecidos musculares e à produção de autoanticorpos contra miofibras (Saridomichelakis, 2009; Baneth *et al.*, 2008).

### **12.10. Outras lesões**

A LCan também pode afetar o trato gastrointestinal e normalmente as lesões intestinais estão associadas a uma reação inflamatória piogranulomatosa ou granulomatosa e à presença do parasita. Estas lesões podem dar origem a diarreia crónica ou permanecer clinicamente silenciosas (Saridomichelakis, 2009).

O envolvimento do sistema nervoso central de animais com leishmaniose, apesar de ser raro, pode acontecer e provocar alterações comportamentais, convulsões, hemorragias espinhais e sinais clínicos sugestivos de meningite. Estas alterações devem-se à inflamação granulomatosa associada ao parasita, à vasculite ou à deposição de complexos imunes nas meninges (Saridomichelakis, 2009).

A *Leishmania* também pode afetar as mucosas e provocar lesões na língua, pénis e cavidade oral (Alvar *et al.*, 2004). Alguns casos de leishmaniose Canina também já foram associados com o desenvolvimento de pneumonia intersticial, broncopneumonia, gastroenterite crónica proliferativa, cistite e orquite (Campillo *et al.*, 1999).

## **13. Alterações Laboratoriais**

### **13.1 Alterações no Hemograma**

Alterações hematológicas como anemia, leucopenia e trombocitopenia, são as mais frequentes em cães com leishmaniose (Veras *et al.*, 2023). A LCan é uma infecção

parasitária que afeta tanto a medula óssea quanto o baço, pelo que é comumente associada à redução geral no número de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas, conhecida como pancitopenia (Poulaki *et al.*, 2021). Cães com desorganização esplênica apresentam anomalias hematológicas mais pronunciadas que incluem anemia, leucocitose e hipoplasia eritroide, que origina níveis mais baixos de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito (Veras *et al.*, 2023).

A anemia é uma alteração hematológica bastante comum em cães com leishmaniose, e normalmente é não regenerativa, normocrômica e normocítica. A anemia na LCan está associada a vários fatores que incluem a destruição dos glóbulos vermelhos pelo parasita, a supressão da medula óssea e consequente diminuição da eritropoiese, o sequestro e destruição de eritrócitos no baço e a diminuição da produção de eritropoietina provocada pela lesão renal (Baneth *et al.*, 2008; Veras *et al.*, 2023). Para além disso, a diseritropoiese e a eritropoiese ineficaz provocadas pela ação das toxinas produzidas pelo parasita e pela resposta inflamatória do hospedeiro também podem contribuir para a anemia observada em cães infetados (Veras *et al.*, 2023).

Outra alteração frequentemente observada é a trombocitopenia, caracterizada por uma prevalência significativa de contagens reduzidas de plaquetas. A trombocitopenia é provocada principalmente pelo sequestro esplênico e por processos imunomediados. No entanto, também pode resultar da supressão da medula óssea e de alterações hepáticas que diminuem a produção de trombopoietina. Além disso, animais com leishmaniose apresentam níveis mais altos de opsonização e desialilação de plaquetas, que estão associados a aumentos na depuração de plaquetas no baço e no fígado, respetivamente (Veras *et al.*, 2023).

A leucopenia é uma anomalia hematológica frequente em cães infetados com *Leishmania* que pode ser provocada pela imunossupressão, pela destruição periférica de leucócitos ou pela infiltração de parasitas na medula óssea e consequente diminuição da produção de células sanguíneas (Veras *et al.*, 2023). Outra alteração comum relacionada à LCan é a neutrofilia, que pode estar associada à resposta inflamatória provocada pela presença do parasita em múltiplos órgãos ou por infeções secundárias, e à produção exagerada de citocinas inflamatórias que estimulam a medula óssea a produzir mais neutrófilos. No entanto, a *Leishmania* causa danos aos neutrófilos, o que pode explicar a

neutropenia observada em alguns animais, embora seja mais raro. Além disso, a neutropenia também pode ser um sinal de supressão da medula óssea e de disfunção imunológica grave (Maia & Campino, 2018; Veras *et al.*, 2023). Outras alterações, como a monocitopenia e a eosinopenia, também são achados comuns no sangue de cães com leishmaniose (Veras *et al.*, 2023). Contudo, a situação mais frequente é um hemograma com leucopenia associada a linfopenia e monocitose (Campillo *et al.*, 1999). É comum ser detetada uma redução de linfócitos no sangue periférico devido ao recrutamento destas células para órgãos parasitados (Alexandre-Pires *et al.*, 2010). Na figura 12 encontram-se as alterações hematológicas frequentemente encontradas em cães com leishmaniose.



**Figura 12. Alterações hematológicas mais comuns observadas no sangue periférico de cães infectados com *L. infantum*** (Adaptado de: Veras *et al.*, 2023)

Foram relatadas algumas alterações adicionais em cães com Leishmaniose relacionadas com a coagulação sanguínea que incluem o aumento da viscosidade sérica, disfunção das plaquetas, diminuição da atividade dos fatores de coagulação e fibrinólise, níveis excessivos de fibrinogênio e tempos elevados de protrombina e de tromboplastina parcial ativada (Veras *et al.*, 2023).

### **13.2. Alterações nas análises bioquímicas séricas**

Em cães com leishmaniose, as alterações bioquímicas mais frequentes são hiperproteinemia, com valores que variam entre os 8 e os 12 g/dL, com hiperglobulinemia e hipoalbuminemia e quociente albumina/globulina inferior a 0.5 (Campillo *et al.*, 1999). Normalmente, cães infectados apresentam aumento na concentração de globulina gama, que é chamado de gamopatia. As gamopatias podem ser monoclonais ou policlonais. A maioria dos cães com LCan tem gamopatias policlonais, porém, em alguns cães, um único

clone de células plasmáticas pode proliferar e resultar numa gamopatia monoclonal de IgG (Allison, 2022).

Os valores dos parâmetros da função renal podem ficar alterados em cães infectados com *Leishmania*, sendo que a prevalência de azotemia varia entre 16% e 38% (Baneth *et al.*, 2023). Normalmente, verifica-se um aumento progressivo dos valores de ureia e creatinina, que são mais marcados numa fase avançada da doença (Campillo *et al.*, 1999). No entanto, os níveis de ureia e creatinina no soro não aumentam até que mais de 75% dos nefrônios já não estejam funcionais, logo não são úteis na deteção precoce de insuficiência renal (Allison, 2022). Já a medição de biomarcadores renais, como a SDMA (*Symmetric Dimethylarginine*) no soro, pode ser útil para detetar danos renais mais precoces e avaliar a extensão desses danos (Baneth *et al.*, 2023).

Os níveis séricos das enzimas indicadoras da função hepática, como a AST e a ALT, também se podem encontrar aumentados em cães com LCan, principalmente em casos graves da doença que já apresentem disfunção hepática (Campillo *et al.*, 1999).

### **13.3. Alterações na Urinálise**

Cães com leishmaniose podem apresentar proteinúria ou isostenúria devido ao comprometimento da função renal glomerular e túbulo-intersticial, respetivamente. Em alguns cães, ainda pode ser detetada cilindúria. A relação proteína/creatinina urinária (RPC) e a enzimúria são testes úteis para avaliação da extensão dos danos renais provocados pela doença (Baneth *et al.*, 2023).

### **13.4 Alterações nos fluídos corporais**

Podem surgir alterações noutros fluídos corporais de cães com LCan, como a presença de inflamação linfocítica e neutrofílica com amastigotas no líquido sinovial de cães com poliartrite e a presença de pleocitose linfocítica no líquido cefalorraquidiano de cães com sinais neurológicos. Além disso, existem relatos de redução da qualidade do

sémen, apresentando baixa motilidade progressiva e um grande número de defeitos totais nos espermatozoides (Baneth *et al.*, 2023).

## 14. Diagnósticos diferenciais

Dado que a leishmaniose canina é uma doença com grande variabilidade clínica, existem bastantes diagnósticos diferenciais. Alguns exemplos destes diagnósticos incluem doenças sistêmicas, como a erliquiose, a babesiose, a histoplasmose, a brucelose, neoplasias, e doenças autoimunes primárias, como o lúpus eritematoso sistêmico. Os principais diagnósticos diferenciais para animais que apresentem lesões cutâneas incluem sarna demodécica, piodermite, dermatite por malassezia, vasculite cutânea e pênfigo foliáceo (Baneth *et al.*, 2023).

## 15. Métodos de diagnóstico

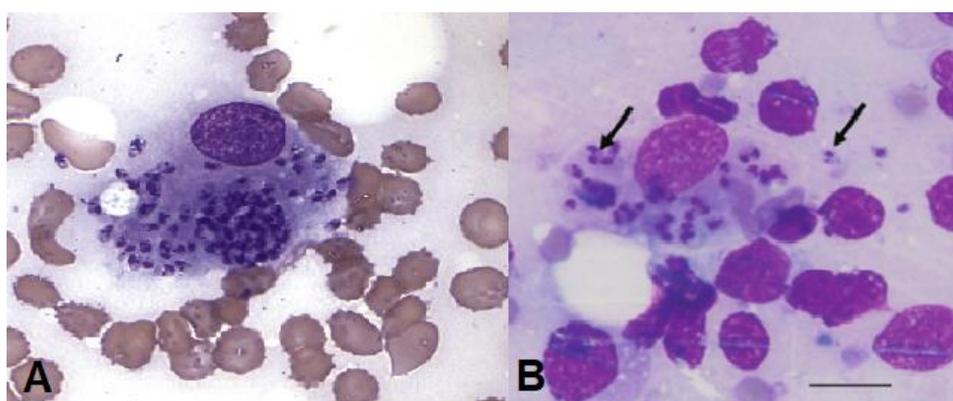
O diagnóstico clínico de leishmaniose Canina é complexo, uma vez que mais de 50% da população canina afetada não apresenta sinais clínicos e, quando apresenta, estes podem ser bastante variáveis e não específicos, dado que se trata de uma doença crônica e multisistêmica que pode afetar qualquer órgão (Ribeiro *et al.*, 2018). Também é importante ter em conta que cães com leishmaniose podem estar co-infetados ou sofrer de outras doenças, o que dificulta ainda mais o diagnóstico (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Assim, o diagnóstico de LCan através dos sinais clínicos e dados laboratoriais inespecíficos é pouco confiável (Gradoni, 2002).

É importante distinguir a infecção por *Leishmania* da doença e aplicar diferentes técnicas de diagnóstico para cada estado. Portanto, com base na lista de problemas clínicos, deve ser feita uma abordagem diagnóstica específica para cada paciente (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Ao realizar exames clínicos, muitos cães com infecções comprovadas podem aparentar estar saudáveis. Estes cães geralmente são identificados como pertencentes a três categorias: 1. Cães que estão a progredir para uma doença evidente (casos pré-patentes); 2. Cães que permanecem sem sintomas por longos períodos (até

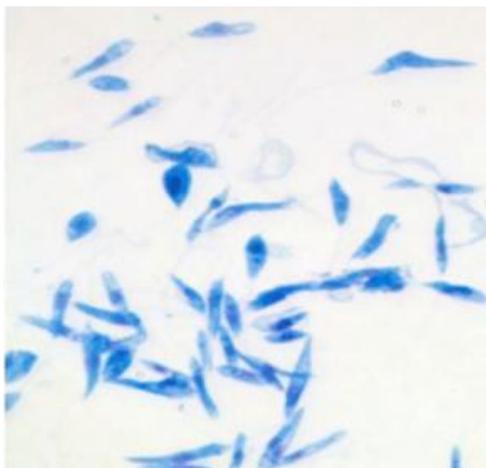
mesmo por toda a vida); 3. Cães que se curam espontaneamente. Sendo estes dois últimos considerados animais resistentes (Gradoni, 2002).

Existem diferentes métodos de diagnóstico específicos para a detecção da infecção por *Leishmania* em cães. Estes podem ser métodos parasitológicos, como citologia, histologia, imunohistoquímica, microscopia e cultura; métodos serológicos quantitativos, como o teste de imunofluorescência indireta (IFAT) e o teste imunoenzimático (ELISA), e qualitativos, como o teste imunocromatográfico; métodos moleculares, como PCR convencional, PCR em tempo-real e PCR “nested” (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

A visualização de amastigotas de *Leishmania* em esfregaços de amostras de linfonodos ou medula óssea (Fig. 13), ou a detecção de promastigotas em culturas (Fig. 14), representa o *gold standard* para o diagnóstico de uma infecção disseminada estabelecida. No entanto, a sensibilidade do exame de microscopia é geralmente baixa (cerca de 60%), devido à alta prevalência de amostras com baixas densidades de parasitas. Por outro lado, a sensibilidade da cultura depende de vários fatores, que incluem o tipo de meio utilizado, a quantidade de amostra e o número de amostras recolhidas de cada animal. Quando as condições ideais são atendidas, a sensibilidade da cultura de amostras de linfonodos e de medula óssea pode aproximar-se de 100% (Gradoni, 2002). No entanto, este não é um procedimento simples e requer pelo menos um mês até fornecer um resultado negativo, portanto atualmente não é muito utilizado como método diagnóstico (Morales-Yuste *et al.*, 2022).



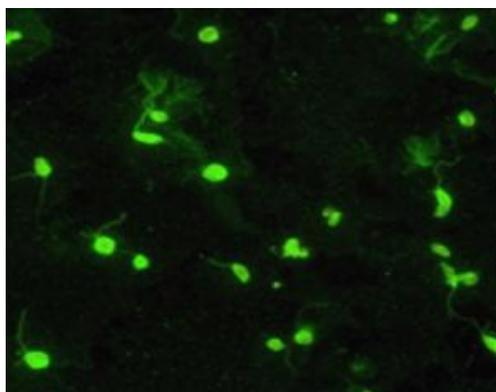
**Figura 13. Citologia de punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de medula óssea e linfonodo de cães infetados com *L. Infantum*.** Legenda: A. Citologia do aspirado de medula óssea com presença de numerosos amastigotas de *Leishmania* no citoplasma de um histiócito e extracelularmente. B. Citologia do aspirado de um linfonodo com presença de amastigotas intracelulares (setas). (Fonte: Baneth *et al.*, 2022; Squarre *et al.*, 2022)



**Figura 14. Promastigotas de uma cultura de *L. infantum*.**  
(Fonte: Mendoza Roldan *et al.*, 2021)

Em comparação com a citologia, a histologia é mais trabalhosa e demorada, e a identificação de amastigotas pode ser mais difícil. Por outro lado, a tem a vantagem de fornecer informações adicionais sobre o padrão das lesões (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

O diagnóstico da LCan também pode ser feito pela detecção de anticorpos específicos no soro (IgG) através de técnicas serológicas, preferivelmente quantitativas, como o IFAT e o teste ELISA (Gradoni, 2002). O IFAT (fig. 15) utiliza os parasitas como antígeno e é considerado o *gold standard* para o diagnóstico serológico, sendo amplamente utilizado como método de diagnóstico. A sensibilidade do IFAT foi estimada em 90% em cães sintomáticos e 31% em cães assintomáticos e a especificidade foi estimada em 98% em áreas não endêmicas e 97% em áreas endêmicas (Morales-Yuste *et al.*, 2022).



**Figura 15. IFAT de promastigotas de *L. infantum***  
(Fonte: Mendoza Roldan *et al.*, 2021)

Os testes serológicos qualitativos, baseados em imunocromatografia, são fáceis de usar e fornecem resultados rápidos no local, mas o seu desempenho ainda não é ótimo, uma vez que podem dar origem a falsos negativos. Além disso, para um diagnóstico serológico positivo é necessário um nível detetável de anticorpos em circulação, o que pode não acontecer até vários meses após a infecção se ter estabelecido (Gradoni, 2002; Solano-Gallego *et al.*, 2011). Portanto, é recomendável realização de testes serológicos quantitativos e possam fornecer um título final (IFAT) ou uma leitura de densidade ótica (ELISA) e uma classificação do nível de anticorpos. Um nível elevado de anticorpos confirma o diagnóstico de LCan num cão que apresente sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis. No entanto, a presença de um baixo nível de anticorpos anti-*Leishmania* não é um sinal conclusivo de doença (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Nestes casos, para melhorar o diagnóstico, é aconselhável combinar o IFAT com outros testes não imunológicos ou continuar a monitorização com testes imunológicos repetidos (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Um dos problemas dos testes serológicos é a sua especificidade, visto que podem existir reações cruzadas com outros parasitas semelhantes à *Leishmania*, como o *Trypanosoma* (Gradoni, 2002).

A detecção de DNA de *Leishmania* por PCR permite um diagnóstico sensível e específico da infecção. O PCR pode ser realizado em DNA extraído de tecidos, sangue e fluidos corporais, no entanto estes têm diferentes sensibilidades para a detecção de *L. infantum*. Portanto, devem ser utilizadas diferentes técnicas de PCR conforme a amostra. As técnicas de PCR convencional e “nested” PCR devem ser usadas em amostras de sangue, *buffy coat* e urina, enquanto a técnica de PCR em tempo-real deve ser usada em amostras da medula óssea, linfonodos, baço, pele e conjuntiva, uma vez que é uma técnica mais sensível e permite uma estimativa da carga parasitária. No entanto, os testes baseados na identificação de DNA do cinetoplasto (kDNA) de *Leishmania* são os mais sensíveis para a detecção direta de tecidos infetados. É importante salientar que a informação fornecida pelo PCR não deve ser separada dos dados obtidos nas avaliações clínico-patológicas e serológicas. Este é um teste que não se deve fazer sozinho, já que um resultado positivo apenas confirma a infecção por *Leishmania* e não a existência de doença (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Em geral, o PCR é melhor na detecção da infecção nos estádios iniciais da leishmaniose, enquanto a técnica serológica é melhor nos estádios avançados da infecção, tanto em cães sintomáticos quanto assintomáticos, embora alguns

casos positivos se possam converter em seronegativos durante o curso da infecção (Gradoni, 2002).

O xenodiagnóstico é um método que se baseia na detecção e isolamento da *Leishmania* no seu vetor natural. Embora não possa ser utilizado como uma técnica de diagnóstico de rotina, este pode ser útil para resolver questões epidemiológicas importantes sobre o estado clínico e o tratamento medicamentoso da leishmaniose canina (Gradoni, 2002).

Na Figura 16 encontra-se esquematizada a abordagem diagnóstica recomendada para a suspeita de leishmaniose canina em cães com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença.

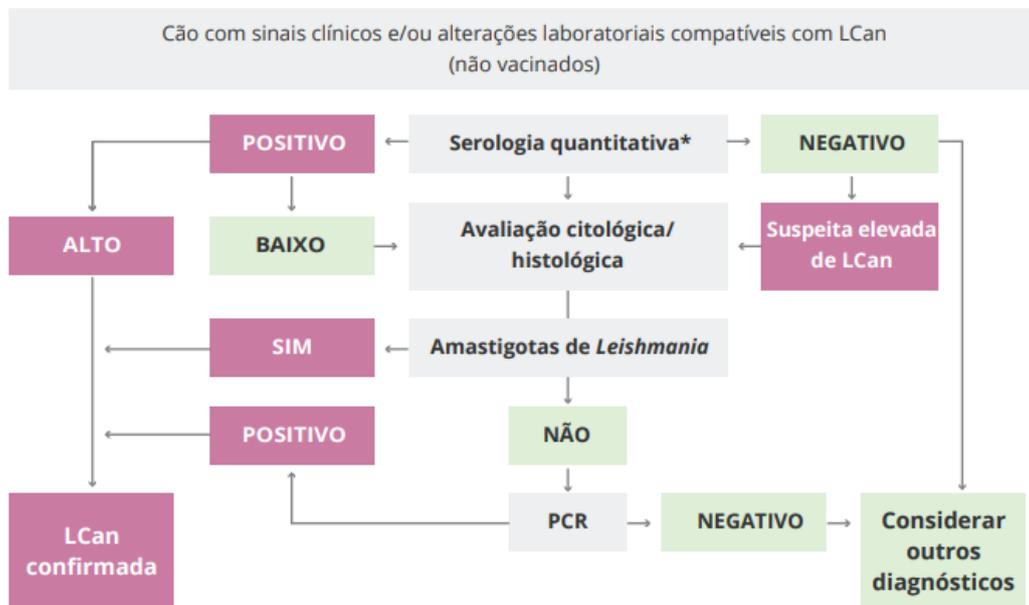


Figura 16. Fluxograma da abordagem diagnóstica a cães com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com LCan (Fonte: LeishVet, 2024)

## 16. Determinação da fase de desenvolvimento da leishmaniose

A leishmaniose canina pode desenvolver-se ao longo de um grande período de tempo e dar origem a condições clínicas que podem ser altamente variáveis, tornando-se difícil classificar os cães em categorias específicas. No entanto, é importante perceber o estágio parasitológico e clínico em que se encontra de modo a determinar o tratamento

adequado e prevenir a progressão para estádios mais graves e irreversíveis (Paltrinieri *et al.*, 2010). Para tal, existem dois sistemas de classificação clínica, que contribuem para o estabelecimento de um diagnóstico, prognóstico e tratamento mais precisos. No sistema LeishVet (Tabela 26), a doença é classificada em quatro estádios de evolução: Estádio I - doença leve; Estádio II - doença moderada; Estádio III - doença grave; Estádio IV - doença muito grave. Esta classificação das fases de desenvolvimento é feita com base nas alterações clínicas e laboratoriais, resultado da serologia quantitativa, e avaliação detalhada da função renal em conformidade com a International Renal Interest Society (IRIS). Por outro lado, o CLWG (*Canine Leishmaniasis Working Group*) classifica os cães em cinco estádios clínicos: Estádio A - cães expostos; Estádio B - cães infectados; Estádio C - cães doentes; Estádio D - cães gravemente doentes; Estádio E - cães que não respondem ao tratamento ou tiveram uma recaída precoce (Ribeiro *et al.*, 2018).

**Tabela 26. Classificação das fases de desenvolvimento clínico da LCan segundo o sistema LeishVet**

<b>Estádios Clínicos</b>	<b>Serologia</b>	<b>Sinais Clínicos</b>	<b>Resultados Laboratoriais</b>
<b>Estádio I Doença ligeira</b>	Negativo ou Positivo com níveis de anticorpos baixos	Sinais clínicos ligeiros, como linfadenomegalia isolada ou dermatite papular	Normalmente sem alterações laboratoriais e com perfil renal normal (creatinina <1.4 mg/dl; não protenúrico: RPC < 0.5)
<b>Estádio II Doença Moderada</b>	Positivo com níveis de anticorpos baixos ou altos	Lesões cutâneas difusas ou simétricas, como dermatite esfoliativa, onicogribose, ulcerações, linfadenomegalia generalizada, anorexia e perda de peso	Anemia não regenerativa ligeira, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, hiperviscosidade sérica. Subestádios: A) Perfil renal normal B) Creatinina < 1.4 mg/dl; RPC = 0.5-1
<b>Estádio III Doença Grave</b>	Positivo com níveis de anticorpos altos	Além dos sinais dos estádio I e II, sinais com origem em lesões provocadas por complexos imunes, como uveíte e glomerulonefrite	Alterações indicadas no estádio II e Doença renal crónica no estádio I da IRIS com RPC = 1-5, ou estádio II (creatinina 1.4-2.8 mg/dl)
<b>Estádio IV Doença muito grave</b>	Positivo com níveis de anticorpos altos	Além dos sinais do estádio III, apresentam tromboembolismo pulmonar ou síndrome nefrótica e doença renal em estádio final	Alterações indicadas no estádio II e III e Doença renal crónica no estádio III da IRIS (creatinina 2.9-5 mg/dl) ou estádio IV (creatinina > 5mg/dl; proteinúria acentuada: RPC > 5)

## 17. Tratamento

Os principais fármacos atualmente utilizados para o tratamento da LCan são o alopurinol, o antimoniato de meglumina e a miltefosina. Vários outros compostos, incluindo a pentamidina, a aminosidina, a anfotericina B, o metronidazol e o cetoconazol, também podem ser utilizados como agentes anti-*Leishmania* para cães (Baneth, 2002).

O objetivo do tratamento da leishmaniose canina é controlar os sinais clínicos, melhorar a imunidade celular, evitar recaídas, reduzir a carga parasitária e diminuir a taxa de transmissão para o vetor (Morales-Yuste *et al.*, 2022). No entanto, o tratamento não está associado a uma cura parasitológica, nem previne que outros flebótomos se alimentem do cão (Baneth, 2002).

As escolhas terapêuticas devem basear-se no estágio da doença. Assim, na Tabela 27 encontra-se o tratamento recomendado e o prognóstico para cada estágio, segundo o sistema LeishVet.

**Tabela 27. Tratamento e prognóstico para cada estágio da LCan.** (Adaptado de: LeishVet, 2024)

<b>Estádios Clínicos</b>	<b>Terapia</b>	<b>Prognóstico</b>
<b>Estádio I</b> Doença ligeira	Monitorização sem tratamento ou Tratamento curto com 1 ou 2 fármacos (alopurinol, antimoniato de meglumina, miltefosina)	Bom
<b>Estádio II</b> Doença moderada	Alopurinol + Antimoniato de meglumina Ou Alopurinol + Miltefosina	Bom a Reservado
<b>Estádio III</b> Doença grave	Alopurinol + Antimoniato de meglumina ou Miltefosina Seguir as orientações da IRIS para a DRC	Reservado a Mau
<b>Estádio IV</b> Doença muito grave	Monoterapia com Alopurinol Seguir as orientações da IRIS para a DRC Tratamento específico e individual	Mau

Nota: Cães no estágio IV devem ser tratados apenas com alopurinol, a fim de evitar mais danos renais.

### 17.1. Alopurinol

O alopurinol (de nome comercial Zyloric®) é amplamente utilizado como monoterapia ou em combinação com outros fármacos, devido ao seu potencial leishmaniostático e à sua baixa toxicidade, tornando-o muito eficaz em cães com danos renais. O uso deste fármaco tem poucos efeitos adversos, dos quais se destaca a urolitíase (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

O alopurinol é um análogo da hipoxantina que bloqueia a xantina oxidase, interrompendo o metabolismo das purinas (Morales-Yuste *et al.*, 2022). As purinas são componentes essenciais do metabolismo celular e, ao contrário dos mamíferos, a *Leishmania* é incapaz de as sintetizar, portanto, depende completamente da captação dessas moléculas do hospedeiro para sobreviver. O alopurinol e seu metabólito ativo, a aloxantina, são incorporados no metabolismo das purinas dos parasitas e dão origem a uma disfunção metabólica. Como resultado, a replicação e sobrevivência do parasita são comprometidas, já que as purinas são essenciais para a síntese de DNA e RNA e para outras funções celulares vitais. Além disso, quando incorporado pelos parasitas intracelulares, o alopurinol é transformado num composto tóxico (4-amino-pirazol-pirimidina) que provoca a morte do parasita (Oliva *et al.*, 2010).

O alopurinol pode ser utilizado sozinho em cães assintomáticos ou como tratamento de acompanhamento ou preventivo. Quando administrado a cães como único tratamento resulta numa melhoria clínica e na restauração de valores laboratoriais. No entanto, não resulta numa cura parasitológica completa, e podem ocorrer recaídas quando o tratamento é interrompido. Por esta razão, é frequentemente administrado por períodos prolongados, de vários meses. Geralmente, o alopurinol é bem tolerado e pode retardar a deterioração da função renal em cães com proteinúria, mas sem insuficiência renal (Oliva *et al.*, 2010).

A dosagem recomendada de alopurinol é de 10 mg/kg, por via oral (PO), duas vezes por dia (BID), durante seis a doze meses (LeishVet, 2024).

## **17.2. Compostos antimoniais pentavalentes**

O composto antimonial pentavalente mais utilizados em cães com leishmaniose é o antimoniato de meglumina (de nome comercial Glucantime<sup>®</sup>). Este medicamento tem sido usado por mais de 50 anos na leishmaniose Visceral Humana, no entanto está a ser substituído por outros fármacos como a anfotericina B (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

O antimoniato de meglumina inibe seletivamente as enzimas protozoárias, incluindo a fosfofructocinase, que é crucial para a via glicolítica, a principal via metabólica para de produção de energia na *Leishmania*. Adicionalmente, este fármaco

interfere na oxidação dos ácidos gordos, comprometendo a produção de energia e outros processos metabólicos vitais para o parasita. O antimoniato de meglumina também interfere na função mitocondrial, aumentando a produção de ROS. Deste modo, o tratamento com este composto diminui a carga parasitária, restaura a resposta imune celular e diminui os níveis de anticorpos específicos em circulação. O antimoniato de meglumina tem um tempo de vida curto em cães: 21, 42 e 122 minutos quando administrado por via endovenosa (IV), intramuscular (IM) e subcutânea (SC), respetivamente. Após seis a nove horas da administração, 80% a 95% do fármaco é eliminado através dos rins (Oliva *et al.*, 2010).

As limitações mais observadas dos compostos antimoniais incluem a resistência parasitária, a nefrotoxicidade e as restrições financeiras, devido ao alto custo do medicamento (Baneth, 2002). A maioria dos estudos realizados em cães com LCan revelam que o antimoniato de meglumina tem boa eficácia clínica. Durante o tratamento, observa-se geralmente uma melhoria clínica e nos valores laboratoriais. No entanto, o tratamento com este fármaco não resulta na eliminação completa dos parasitas e alguns meses após o tratamento, ainda podem ser detetadas *Leishmanias* nos tecidos de cães clinicamente curados. As recidivas clínicas são comuns após o tratamento, num período que varia de meses a um ou dois anos, sendo mais frequentes quando a duração do tratamento é inferior a quatro semanas. O efeito adverso mais comum do uso deste fármaco é a dor e inchaço no local da injeção, mas também pode verificar-se febre, diarreia e perda de apetite (Oliva *et al.*, 2010). Para além disso, devido à sua toxicidade, podem surgir distúrbios hepáticos, cardíacos e renais, e reações de hipersensibilidade.

A dosagem mais utilizada é de 100mg de antimoniato de meglumina/kg, uma vez por dia (SID) ou dividida em duas doses diárias, por via SC ou IM, durante quatro a seis semanas. A utilização de doses mais baixas nos primeiros dois ou três dias pode ser útil para evitar efeitos adversos (LeishVet, 2024).

### **17.3. Miltefosina**

A Miltefosina (de nome comercial Milteforan<sup>®</sup>) é um alquilfosfolípido de conhecida atividade anticancerígena e também com ação antimetabólica e leishmanicida.

Geralmente é utilizada em cães com lesão renal pois pode reduzir a proteinúria (Oliva *et al.*, 2010). O mecanismo de ação anti-*Leishmania* da miltefosina está associado à inibição da síntese da membrana celular do parasita. A miltefosina interfere nos fosfolipídios da membrana, perturbando a sua integridade e funcionalidade e comprometendo, assim, a viabilidade do parasita. Este fármaco também interrompe a transmissão de sinais através da inibição da Fosfolipase C e da Proteína Cinase C. Estas inibições interferem na transdução de sinais que regulam várias funções e processos celulares essenciais, como a motilidade, a adesão celular e o crescimento e a sobrevivência celular. Adicionalmente, a ação da miltefosina induz a apoptose do parasita, ao aumentar a produção de ROS e ao provocar uma disfunção mitocondrial, que leva à ativação de caspases que executam o processo apoptótico (Nogueira *et al.*, 2019).

Assim como todos os medicamentos anti-*Leishmania* usados em cães, a administração de miltefosina não é capaz de eliminar completamente o parasita, embora provoque uma redução drástica e progressiva na carga parasitária (Oliva *et al.*, 2010). Além disso, melhora o estado clínico e a resposta imune do hospedeiro e reduz a transmissibilidade para outros flebótomos (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

A miltefosina é um fármaco seguro e com poucos efeitos adversos, dos quais se destacam vômitos, diarreia ou disorexia (LeishVet, 2024). Porém, apesar da resolução parcial ou completa dos sinais clínicos, já foram relatadas recaídas clínicas quando é utilizado em monoterapia, pelo que é recomendada a sua combinação com alopurinol. A eficácia clínica da miltefosina melhora significativamente quando administrada em conjunto com alopurinol e, segundo alguns estudos, esta combinação tem a mesma eficácia clínica e parasitológica que a combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol, além de apresentar menos efeitos adversos (Oliva *et al.*, 2010).

A dosagem recomendada de miltefosina é de 2-2.5 mg/kg, PO, SID, durante 28 dias. Deve ser administrada com comida, de modo a reduzir possíveis efeitos adversos. (LeishVet, 2024).

#### **17.4. Domperidona**

A domperidona é um fármaco que pode ser utilizado no tratamento e na prevenção da leishmaniose canina. É um agonista dos recetores de dopamina D2 que pode melhorar a resposta imune dos animais através do aumento da prolactina, que potencia a resposta imune do tipo Th1 (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Além disso, este fármaco também reduz significativamente o risco de transmissão de *L. infantum* a outros vetores (Travi & Miró, 2018). A domperidona pode ser utilizada como tratamento único, na dose de 0.5 mg/kg, PO, SID, durante um mês (LeishVet, 2024).

#### **17.5. Aminosidina**

A Aminosidina é um antibiótico aminoglicosídico com atividade antibacteriana e anti-*Leishmania*. O seu mecanismo de ação não está totalmente claro, mas parece atingir as mitocôndrias e interagir com as subunidades ribossomais 30S e 50S, bloqueando a síntese de proteínas (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Uma limitação severa para o uso mais amplo da aminosidina é o seu efeito tóxico renal e vestibular. Este fármaco pode ser usado em cães como agente único ou em combinação com antimoniato de meglumina, sendo que a combinação permite resultados clínicos e parasitológicos melhores (Oliva *et al.*, 2010). A dose recomendada de aminosidina em cães é de 5 mg/kg, por via SC, SID, por três semanas (Oliva, et al., 2010).

#### **17.6. Anfotericina B**

A anfotericina B é um macrolídeo polieno principalmente utilizado como um anti-fúngico mas que também apresenta atividade contra algumas espécies protozoárias. Este fármaco liga-se ao ergosterol na membrana celular da *Leishmania* e forma poros na membrana que comprometem a sua integridade e permitem a passagem descontrolada de iões e moléculas. Desta forma, permite a saída de potássio intracelular e de outros componentes celulares essenciais, levando à disfunção celular e eventual morte por lise ou por apoptose (Baneth, 2002).

Embora seja altamente eficaz, a anfotericina B pode ser tóxica e estar associada a vários efeitos adversos severos, que incluem comprometimento da função renal, febre, vômitos e anorexia. Este fármaco pode ser administrado a cães com leishmaniose numa formulação lipossomal ou como uma emulsão lipídica, o que reduz os seus efeitos tóxicos. Apesar da sua utilização resultar numa cura clínica rápida, esta é frequentemente seguida por recaídas. Além disso, a Organização Mundial da Saúde (OMS) desencoraja o uso de anfotericina B no tratamento de cães com leishmaniose, de forma a evitar o surgimento de resistências (Oliva *et al.*, 2010).

### **17.7. Marbofloxacina**

A Marbofloxacina é uma fluoroquinolona de terceira geração sintética, utilizada para o tratamento de uma ampla gama de infeções bacterianas gram-negativas e gram-positivas. A marbofloxacina inibe a enzima bacteriana DNA girase (topoisomerase II) e a topoisomerase IV e revela atividade leishmanicida direta e indireta, através do aumento da produção de TNF- $\alpha$  e NO (Oliva *et al.*, 2010). A marbofloxacina pode ser útil no tratamento da LCan, principalmente em animais com doença renal crónica, uma vez que não provoca alterações nos níveis séricos de ureia e creatinina. A sua atividade antibiótica, contribui para a melhoria de sinais clínicos provocados por infeções bacterianas secundárias (Pineda, *et al.*, 2017). O tratamento com marbofloxacina pode ser feito por via oral, na dose de 2 mg/kg, SID, por 28 dias (Oliva *et al.*, 2010).

Na tabela 28 encontram-se os protocolos terapêuticos mais utilizados em cães com leishmaniose.

**Tabela 28. Fármacos mais utilizados no tratamento da LCan** (Adaptado de: Miró *et al.* 2017)

Fármacos e doses	Mecanismo de ação	Duração do tratamento	Efeitos secundários	Tempo até recidiva	Resistência ao fármaco
<b>Antimoniato de meglumina</b> (50mg/kg/12h ou 100 mg/kg/24h SC)	Bloqueia o metabolismo do parasita ao inibir a enzima fosfofrutoquinase	4-5 sem.	Dor e inflamação local, nefrotoxicidade pancreatite, paniculite	6-12 meses	Reportada
<b>Miltefosina</b> (2-2.5 mg/kg/24h PO)	Inibição da síntese da membrana celular e das vias de sinalização	4 semanas	Anorexia, vômitos e diarreia	4-6 meses	Não reportada
<b>Alopurinol</b> (10mg/kg/12h PO)	Interferência com a via das purinas	6-24 meses	Urolitíase, xantínúria, mineralização renal	Não está bem documentado	Reportada
<b>Antimoniato de meglumina + Alopurinol</b> (doses anteriores)	Ver acima	4sem (AM) 6-12 m (Al)	Ver acima	Não reportado	Não reportado
<b>Miltefosina + Alopurinol</b> (doses anteriores)	Ver acima	4 sem (Mil) 6-12 m (Al)	Ver acima	Não reportado	Não reportado

Legenda: mg – miligrama; kg – quilograma; h – horas; SC – subcutâneo; PO – *per os*; sem – semanas; m – meses; AM – Antimoniato de meglumina; Al – Alopurinol; Mil – Miltefosina

## 18. Monitorização

É recomendada a monitorização cuidada dos pacientes durante e após o tratamento para detetar e prevenir recidivas. Esta monitorização deve incluir a realização de exame físico completo, hemograma, análises bioquímicas, com foco nos biomarcadores de dano renal, e urianálise completa. Adicionalmente, é recomendada a realização de testes

serológicos quantitativos e PCR. Na Tabela 29, está indicada a frequência recomendada para a realização de cada parâmetro de monitorização.

**Tabela 29. Monitorização recomendada para a leishmaniose Canina.** (Adaptado de: LeishVet, 2024)

Parâmetros	Frequência	
	Cães doentes a fazer tratamento	Cães infetados mas clinicamente saudáveis
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Exame físico</li> <li>- Hemograma e Análises Bioquímicas</li> <li>- Urinálise</li> </ul>	<p>Após o primeiro mês de tratamento e depois a cada 3-4 meses, durante o primeiro ano.</p> <p>Após o primeiro ano, a cada 6-12 meses depois da recuperação completa</p>	A cada 3-6 meses
<ul style="list-style-type: none"> <li>- Sorologia Quantitativa</li> <li>- PCR em tempo-real</li> </ul>	Após 3 meses do início do tratamento e depois a cada 6-12 meses	

Após o início do tratamento, alguns cães apresentam uma diminuição nos níveis de anticorpos nos resultados dos testes serológicos quantitativos, que normalmente está associada à melhoria clínica. No entanto, caso haja um aumento dos níveis de anticorpos, este deve ser interpretado como um marcador de recidiva da doença, especialmente após a descontinuação do tratamento. Caso a serologia esteja negativa e o PCR positivo, deve avaliar-se a possibilidade de desenvolvimento de doença e de seroconversão, e continuar a monitorização, porém não é recomendada a realização de tratamento. Por outro lado, se o resultado serológico for positivo com elevados níveis de anticorpos, deve considerar-se a realização de tratamento convencional para a LCan. Se os níveis de anticorpos forem baixos, deve-se refazer o teste e monitorizar a cada três a seis meses, com exame físico, hemograma, análise bioquímica sérica, urinálise e teste serológico quantitativo. Nestes casos pode considerar-se tratamentos imunoestimulantes, com domperidona, nucleótidos e AHCC (*Active Hexose Correlated Compound*) (LeishVet, 2024).

## 19. Prognóstico

O prognóstico da LCan depende da gravidade das lesões no momento do diagnóstico, da resposta individual do hospedeiro e da taxa de deterioração. Em cães que não atingiram um estado progressivo de insuficiência renal, o tratamento pode melhorar significativamente os sinais cutâneos e viscerais da doença e o prognóstico é favorável (Baneth *et al.*, 2023). Por outro lado, animais que já se encontrem nos estádios III e IV têm prognósticos reservados e maus, respetivamente (LeishVet, 2024).

## 20. Prevenção e profilaxia

A prevenção e a profilaxia da leishmaniose são essenciais para controlar a propagação da doença e minimizar seu impacto. A prevenção envolve uma abordagem multifacetada, que inclui o controlo de vetores, proteção contra picadas de flebótomos, manejo de reservatórios animais e realização de programas de educação sobre a doença.

### 20.1. Controlo de vetores

Os flebótomos são os únicos vetores comprovados de *Leishmania infantum*, portanto, medidas focadas na redução da sua densidade e função vetorial são os melhores métodos para prevenir a infeção (Morales-Yuste *et al.*, 2022). A transmissão de promastigotas metacíclicos para cães ocorre imediatamente após a picada do flebótomo. Consequentemente, a principal maneira de evitar a infeção por *Leishmania* é a utilização de inseticidas tópicos com atividade comprovada na prevenção de picadas. Estas formulações normalmente têm o efeito duplo de afastar e matar os flebótomos. O efeito letal demonstra a eficácia inseticida, enquanto a capacidade de afastar os flebótomos é feita por uma combinação de repelência por contacto e efeito anti-*feeding*. No entanto, o efeito inseticida perde-se mais rápido que o efeito de prevenção de picadas. Os inseticidas tópicos para proteção de cães contra as picadas de flebótomos incluem unções punctiforme (spot-on), sprays e coleiras (Miró *et al.*, 2017).

### **20.1.1. Coleiras**

O uso de coleiras como medida de controle pode ser bastante eficaz e reduzir significativamente a seroprevalência de leishmaniose em cães. As taxas de proteção populacional estimadas para a utilização de coleiras inseticidas variaram de 50% a 86% (Miró, et al., 2017). Atualmente, existem duas coleiras com princípios ativos diferentes para a prevenção da leishmaniose. As coleiras impregnadas com deltametrina (Leishcollar<sup>®</sup>), que atingem a máxima eficácia uma semana após a aplicação e o seu efeito repelente pode durar até 12 meses, e as coleiras com combinação de flumetrina e imidacloprid (Seresto<sup>®</sup>), que têm efeito repelente contra flebótomos que pode durar até oito meses (LeishVet, 2024). Ambas as coleiras são exclusivas para cães e podem ser colocadas a partir das sete semanas de idade.

### **20.1.2. Spot-On**

As preparações tópicas, aplicadas como spot-on, fornecem níveis adequados de repelência em toda a superfície corporal, cerca de 24 a 48 horas após a aplicação. No entanto, têm um efeito de ação mais curto que o das coleiras, sendo recomendada a utilização de spot-on a cada três a quatro semanas (LeishVet, 2024). Existem várias combinações de diferentes princípios ativos utilizados em spot-on. A combinação de dinotefurano (5,0%), permetrina (36,1%) e piriproxifeno (0,4%) apresenta 96% de eficácia para o efeito repelente, 14 dias após a aplicação, e 88% para o efeito inseticida, 21 dias após a aplicação. A combinação de permetrina (48%) e indoxacarb (15%) tem efeito *anti-feeding* contra o *Phlebotomus perniciosus* durante quatro semanas. A combinação de permetrina (50,5%) e fipronil (6,7%) mantem o efeito repelente acima de 90%, ao fim de 29 dias após aplicação (Miró *et al.*, 2017).

### **20.1.3. Sprays**

Os inseticidas comercializados como sprays, à base de 65% de permetrina ou em combinação com piriproxifeno, oferecem boas propriedades repelentes e inseticidas contra os flebótomos. A sua eficácia é imediata após a aplicação, mas a administração manual correta é crucial para evitar a existência de zonas desprotegidas no cão e, conseqüente perda de proteção. O seu efeito residual é menor do que o de outros produtos,

sendo necessária a aplicação a cada uma ou duas semanas. O uso de sprays inseticidas pode ser de particular importância em casos de exposição curta ou para proteção imediata de cães que se encontrem no período final de transição de proteção de outros produtos (Miró *et al.*, 2017).

#### **20.1.4. Controlo ambiental de vetores**

Existem medidas adicionais para controlar e reduzir o número de flebótomos no ambiente dos cães. Estas incluem a proteção de janelas e portas com redes de malha com tamanho entre 0,3 e 0,4 mm<sup>2</sup> e a remoção de áreas favoráveis de reprodução e descanso de flebótomos (Miró, et al., 2017). A exposição às picadas de flebótomos também pode ser reduzida ao manter os cães dentro de casa durante a época de alto risco e durante o período de maior atividade do vetor, isto é, do anoitecer ao amanhecer (Baneth *et al.*, 2022).

## **20.2. Imunoprofilaxia**

A estratégia preventiva mais eficaz atualmente é a combinação de repelentes/inseticidas com a vacina contra a leishmaniose (Morales-Yuste *et al.*, 2022). As vacinas para proteção de cães contra a LCan estão disponíveis e são amplamente utilizadas na Europa. No entanto, embora a vacinação reduza a ocorrência da doença clínica, não previne a infeção, pelo que cães vacinados podem continuar a ser reservatórios de *L. infantum* e transmitir a doença (Squires *et al.*, 2024).

As vacinas de primeira geração (vivas atenuadas/inativadas) foram inicialmente concebidas como a opção mais eficaz, no entanto, induziram uma grande variedade de respostas. A segunda geração de vacinas anti-*Leishmania* foi projetada em busca de uma resposta mais estável e específica, utilizando antígenos inteiros, frações purificadas de antígenos de *Leishmania* ou antígenos recombinantes de *Leishmania*. As vacinas baseadas em antígenos recombinantes ou nos produtos de excreção-secreção do parasita, são as que demonstraram melhores resultados e as que são comercializadas atualmente (Morales-Yuste *et al.*, 2022).

Até ao momento, foram feitas quatro vacinas: **Leishmune®** (2004, Brasil), **Leish-Tec®** (2007, Brasil), **CaniLeish®** (2011, França) e **Letifend®** (2016, Espanha). (Morales-Yuste *et al.*, 2022). As únicas duas vacinas licenciadas na Europa eram a CaniLeish® e a Letifend®, no entanto a vacina CaniLeish® foi retirada do mercado em 2021.

A única vacina atualmente disponível na Europa é a **LetiFend®**, que utiliza uma proteína recombinante, conhecida como proteína Q, constituída por cinco epítomos de quatro proteínas da *L. infantum* (LiP2a, LiP2b, LiP0 e histona H2A) e, ao contrário das outras vacinas, não contém um adjuvante (Morales-Yuste *et al.*, 2022). Esta vacina fornece 70% de proteção contra os sinais clínicos da leishmaniose (Alonso *et al.*, 2023). A primeira vacinação é uma dose única, destinada a cães não infetados, com teste serológico quantitativo negativo e com mais de seis meses. O início da imunidade dá-se quatro semanas após a primeira vacinação e tem duração de um ano, pelo que deve ser feita uma dose de reforço anualmente para manter o efeito da vacina (Squires *et al.*, 2024).

Uma nova vacina de DNA (**NeoLeish®**) foi aprovada pela Agência Europeia de Medicamentos em 2023 (LeishVet, 2024). Esta vacina é baseada no plasmídeo pPAL, um vetor plasmídico não replicativo, livre de marcadores de resistência a antibióticos, que induz a imunomodulação baseada na resposta das células Th1. A NeoLeish® contém o gene codificador para o antígeno protetor LACK (*L. infantum Activated Protein Kinase C Receptor Analogue*) como substância ativa (Alonso *et al.*, 2023). Esta vacina só pode ser administrada por via intranasal, a cães saudáveis e com mais de seis meses (LeishVet, 2024). O benefício desta vacina é a redução do risco de desenvolver uma infeção ativa ou doença clínica após a exposição à *Leishmania infantum*. Além disso, não interfere com as ferramentas de diagnóstico serológico, permitindo que cães infetados sejam distinguidos de animais vacinados (EMA, 2022), ao contrário do que acontece com outras vacinas, como a Canileish®, em que eram detetados anticorpos anti-*L. Infantum* por IFAT em 3% dos cães até um ano após as vacinações, o que poderia dar origem a um diagnóstico incerto (Morales-Yuste *et al.*, 2022). As vacinas de DNA são um método promissor de controlo, além do processo de fabricação ser de baixo custo e relativamente simples, são vacinas seguras e que podem ser facilmente modificadas para incluir outros genes protetores, facilitando o desenvolvimento de vacinas bivalentes ou múltiplas (Alonso *et al.*, 2023).

## 21. Considerações de saúde pública

A leishmaniose é uma doença que também afeta humanos de forma grave e até mesmo fatal, se não for tratada. Esta era uma doença que afetava principalmente crianças, mas atualmente também aparece associada a adultos infetados com HIV ou que façam tratamentos com fármacos citostáticos ou imunossupressores. A transmissão de *L. infantum* de cães para humanos através de flebótomos é considerada a via primária de infecção na leishmaniose Visceral Zoonótica, no entanto a posse de cães, geralmente não está associada a um aumento no risco para humanos. A associação entre as infecções caninas e humanas difere conforme a região e o estilo de vida, e pode depender de vários fatores, nomeadamente o tempo de permanência no exterior, a densidade populacional canina e o comportamento dos vetores. A transmissão de *L. infantum* através de produtos sanguíneos foi relatada em cães que receberam transfusões de sangue de doadores infetados, e em humanos devido ao uso compartilhado de agulhas. Pelo que, o contacto direto com agulhas contaminadas ou com feridas abertas ou exsudados de cães com leishmaniose deve ser evitado (Baneth *et al.*, 2023).

É importante ter em conta que cães infetados continuam a ser portadores da doença mesmo após o tratamento, sendo considerados hospedeiros reservatórios. Em áreas endémicas, isto representa uma preocupação para a saúde pública, devido à possibilidade de propagação da doença. Assim, a utilização de estratégias de proteção é bastante valiosa nestas regiões, principalmente durante as épocas de maior transmissão da doença (Baneth *et al.*, 2023).

### III. CASOS CLÍNICOS

#### Caso Clínico I - Yuri

##### 1. Identificação

**Espécie:** Canina

**Raça:** Indeterminada

**Idade:** 12 anos

**Peso:** 7 Kg

**Sexo:** Macho

**Estado reprodutivo:** Castrado



**Figura 17. Yuri.** Dia 25 de setembro de 2023

##### 2. Anamnese

O Yuri é um cão de raça indeterminada de 12 anos, que vive no exterior e tem o plano de vacinação atualizado, no entanto não está vacinado contra a leishmaniose Canina. Faz desparasitação interna e externa, mas não faz qualquer tipo de proteção contra flebótomos.

A 28 de abril de 2023, o Yuri foi a uma consulta na Clínica Vetbeirão, devido ao aparecimento de lesões cutâneas pruriginosas perto do olho e da boca, que inicialmente tinham pequenas dimensões, mas aumentaram. O exame físico não apresentou outras alterações exceto a presença das lesões cutâneas referidas, que já se encontravam infetadas. Na consulta, foi feita desinfeção da zona com clorhexidina, aplicação de pomada cicatrizante (Omnimatrix®) e administração SC de Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Synulox®) e de Dexametasona (Dexacortin®). O Yuri foi para casa com

um colar isabelino e indicação de administração de Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Clavucill® 250mg), na dose de ½ comprimido, PO, BID, durante sete dias, e Prednisolona (Prednicortone® 5mg), na dose de ½ comprimido, PO, BID, durante três dias. Além disso, foi indicado realizar a limpeza das lesões cutâneas com soro fisiológico e aplicação de uma pomada cicatrizante (Omnimatrix®), pelo menos duas vezes por dia.

Sete dias após a primeira consulta, o Yuri veio a consulta de seguimento. As lesões tinham melhorado ligeiramente, no entanto mantinha o prurido. Foi feita citologia de pele com a utilização de fita-cola, que revelou a presença de uma reação inflamatória purulenta com bactérias oportunistas. Continuou o tratamento com Clavucill®, por mais sete dias, e aumentou a dose de Prednicortone® para 1 + ½ de comprimido, PO, BID, por sete dias.

Catorze dias após a primeira consulta, foi realizada outra consulta de seguimento. As lesões encontravam-se bastante melhores, em processo de cicatrização e sem prurido, pelo que iniciou o “desmame” da prednisolona: ¾ de comprimido, BID, durante sete dias, depois ½ comprimido, SID, durante quatro dias, posteriormente ¼ de comprimido, SID, durante quatro dias, e finalmente ¼ de comprimido a cada 48 horas, durante sete dias.

Cinco meses depois, o Yuri foi novamente a uma consulta na Clínica Vetbeirão devido à ocorrência de novas lesões, semelhantes às anteriores, mas desta vez, na região da face, na base da cauda e no membro posterior esquerdo. No entanto, não apresentava prurido. Além disso, estava com diminuição do apetite.

### **3. Exame físico**

No exame físico observou-se a presença de lesões cutâneas na face (Fig. 18), base da cauda e no membro posterior esquerdo, caracterizadas pela presença de crostas, descamação, alopecia, manchas eritematosas e lesões ulcerativas. O resto do exame físico não apresentou alterações.



Figura 18. Lesões cutâneas do Yuri na região periorbital e face.

#### 4. Exames Complementares

Foi feita coleta de sangue para realização de hemograma e análises bioquímicas, cujos resultados estão apresentados na Tabela 30 e 31, respectivamente.

Tabela 30. Hemograma Completo do Yuri.

Hemograma Completo			
Análises	Resultado	Valores de referência	Unidades
Glóbulos vermelhos	7.02	5.50 – 8.50	( $10^{12}/L$ )
Hemoglobina	15.1	12.0 – 18.0	g/dL
Hematócrito	47.20	37.00 – 55.00	%
VCM	67	60 – 77	fL
HCM	21.6	19.5 – 24.5	pg
CHCM	32.1	31.0 – 39.0	g/dL
RDW	16.9	14.0 – 20.0	%
PLT	211	165 – 500	$10^9/L$
VPM	10.3	3.9 – 11.1	fl
PCT	0.22	0.1 – 0.5	%
PDW	40.0	8.3 - 56.6	%
Glóbulos brancos	<b>4.75</b> ↓	6.00 – 17.00	$10^9/L$
Neutrófilos	3.90	3.00 – 11.50	$10^9/L$

Linfócitos	<b>0.55</b> ↓	1.00 – 4.80	10 <sup>9</sup> /L
Monócitos	<b>0.17</b> ↓	0.20 – 1.50	10 <sup>9</sup> /L
Eosinófilos	0.10	0.00 – 0.80	10 <sup>9</sup> /L
Basófilos	0.03	0.00 – 0.40	10 <sup>9</sup> /L
Neutrófilos (%)	82.2	60% - 70%	%
Linfócitos (%)	11.5	12% - 30%	%
Monócitos (%)	3.5	2% - 10%	%
Eosinófilos (%)	2.2	1% - 6%	%
Basófilos (%)	0.6	0% - 1%	%

**Tabela 31. Análises bioquímicas séricas do Yuri.**

Bioquímica			
Análises	Resultado	Valores de referência	Unidades
ALP	<b>106</b> ↑	13-83	UI/L
Proteínas totais	<b>7.6</b> ↑	5.0 – 7.2	g/dL
Albumina	3.9	2.6 – 4.0	g/dL
ALT	51	17 - 78	UI/L
Creatinina	0.41	0.4 – 1.4	mg/dL
BUN	10.5	9.2 – 29.2	mg/dL
Globulinas	<b>3.7</b> ↑	1.6 – 3.7	g/dL
ALB/GLOB	1.1	0.7 – 1.9	
BUN/CRE	25.6	12.5 – 31.8	
GGT	10	5 - 14	UI/L

Legenda: ALB/GLOB - Razão Albumina/Globulina; BUN/CRE - Razão BUN/Creatinina

O hemograma demonstrou a presença de leucopenia com linfopenia e monocitopenia ligeira. Nas análises bioquímicas, verificou-se aumento da ALP e das proteínas totais, e o valor das globulinas encontrava-se no limite superior dos valores de referência.

Tendo em conta os sinais clínicos e alterações laboratoriais, foi realizado um teste serológico qualitativo para a leishmaniose (**Speed Leish K®**), no qual foi obtido resultado positivo. Posteriormente, foi feito um teste serológico quantitativo (ELISA),

que teve resultado positivo, numa diluição >1/320, sendo o critério de valorização de >1/160. A razão da amostra foi de 2,47.

Foi realizada cistocentese ecoguiada e recolha de urina para realização de urianálise tipo II, cujos resultados não evidenciaram alterações.

## **5. Diagnóstico**

Dado os sinais clínicos, as alterações laboratoriais e os resultados obtidos nos testes serológicos, o diagnóstico definitivo do Yuri foi leishmaniose canina, com alterações cutâneas secundárias.

## **6. Prognóstico**

Com base na classificação do LeishVet, o Yuri encontrava-se no estágio II da doença. O prognóstico, com base neste estágio, é considerado bom a reservado.

## **7. Tratamento e evolução clínica**

Após a obtenção do resultado positivo com altos níveis de anticorpos no teste serológico, foi iniciado o plano terapêutico de Miltefosina (Milteforan®) na dose de 2mg/kg, durante 28 dias, em combinação com Alopurinol (Zyloric® 300g) na dose de 10mg/kg PO, BID, por pelo menos seis meses. Adicionalmente, foi feito tratamento com Amoxicilina + Ácido Clavulânico (Cladaxxa® 250g), ½ comprimido, PO, BID, durante sete dias.

Sete dias após o início do tratamento, o Yuri veio a consulta de seguimento e as lesões cutâneas já se apresentavam significativamente melhores e em processo de cicatrização (Fig. 19). O paciente manteve o tratamento para a LCan e foi sugerida consulta de reavaliação um mês após a conclusão do tratamento com miltefosina.

Após a finalização do tratamento com a miltefosina, o paciente apresentou-se em consulta de reavaliação, na qual as lesões cutâneas já se encontravam totalmente cicatrizadas. Foi feita repetição do hemograma, bioquímicas séricas e urianálise, e os resultados encontravam-se dentro dos valores de referência. Foi indicada a continuidade do tratamento com alopurinol e a administração de um suplemento dietético à base de nucleótidos e AHCC (Impromune®), durante dois meses. Nesta consulta também foi feita a aplicação de um inseticida spot-on com efeito repelente, com permetrina, piriproxifeno e dinotefurano (Vectra 3D®), com indicação de reaplicação a cada quatro semanas. Foi aconselhada a marcação de consultas de monitorização da leishmaniose a cada três ou quatro meses, durante o primeiro ano.



**Figura 19. Lesões cutâneas do Yuri sete dias após o tratamento.** (Fotografia cedida pela Clínica Vetbeirão)

## Caso Clínico II - Rosinha

### 1. Identificação

**Espécie:** Canina

**Raça:** Indeterminada

**Idade:** 7 anos

**Peso:** 4 Kg

**Sexo:** Fêmea

**Estado reprodutivo:** Inteira



**Figura 20. Rosinha.** Dia 24 de novembro 2023.

### 2. Anamnese

A Rosinha, uma cadela de sete anos de raça indeterminada, apresentou-se a consulta pré-cirúrgica na Clínica Vetbeirão no dia 24 de novembro de 2023, na qual foram verificadas alterações no exame de estado geral e nas análises laboratoriais, pelo que não foi realizada a cirurgia.

A Rosinha vive no exterior e tem o plano de vacinação atualizado, no entanto não estava vacinada contra a leishmaniose canina. Fazia desparasitação interna e externa, mas não fazia qualquer proteção contra flebótomos.

### 3. Exame físico

No exame físico realizado na consulta pré-cirúrgica, a Rosinha apresentava condição corporal diminuída, linfonodos ligeiramente aumentados, zonas de alopecia com descamação na região dorsolombar e membros, pelo seco e quebradiço, corrimento ocular principalmente no olho esquerdo, e onicogribose (Fig. 21). Além disso, na

auscultação cardíaca, foi detetado um sopro de grau IV. No resto do exame físico, não foram detetadas mais alterações.



**Figura 21.** Alterações observadas no exame físico da Rosinha. Presença de corrimento ocular, onicogrifose, condição corporal baixa e alterações na pele e pelagem.

#### 4. Exames Complementares

Foi feita colheita de sangue para hemograma completo e análises bioquímicas, cujos resultados estão apresentados na Tabela 32 e Tabela 33, respetivamente.

**Tabela 32. Hemograma completo da Rosinha.**

Hemograma Completo			
Análises	Resultado	Valores de referência	Unidades
Glóbulos vermelhos	3.77 ↓	5.50 – 8.50	(10 <sup>12</sup> /L)
Hemoglobina	9.7 ↓	12.0 – 18.0	g/dL
Hematócrito	28 ↓	37.00 – 55.00	%
VCM	75	60 – 77	fL

HCM	23.8	19.5 – 24.5	pg
CHCM	34.2	31.0 – 39.0	g/dL
RDW	15.8	14.0 – 20.0	%
PLT	373	165 – 500	10 <sup>9</sup> /L
VPM	7.5	3.9 – 11.1	fl
PCT	0.28	0.1 – 0.5	%
PDW	33.1	8.3 - 56.6	%
Glóbulos brancos	<b>17.9</b> ↑	6.00 – 17.00	10 <sup>9</sup> /L
Neutrófilos	<b>15.49</b> ↑	3.00 – 11.50	10 <sup>9</sup> /L
Linfócitos	1.66	1.00 – 4.80	10 <sup>9</sup> /L
Monócitos	0.4	0.20 – 1.50	10 <sup>9</sup> /L
Eosinófilos	0.23	0.00 – 0.80	10 <sup>9</sup> /L
Basófilos	0.11	0.00 – 0.40	10 <sup>9</sup> /L
Neutrófilos (%)	86.6	60% - 70%	%
Linfócitos (%)	9.3	12% - 30%	%
Monócitos (%)	2.3	2% - 10%	%
Eosinófilos (%)	1.3	1% - 6%	%
Basófilos (%)	0.6	0% - 1%	%

**Tabela 33. Análises Bioquímicas séricas da Rosinha.**

Bioquímica			
Análises	Resultado	Valores de referência	Unidades
ALP	72	13-83	UI/L
Proteínas totais	<b>7.3</b> ↑	5.0 – 7.2	g/dL
Albumina	3.0	2.6 – 4.0	g/dL
ALT	45	17 - 78	UI/L
Creatinina	<b>2.35</b> ↑	0.4 – 1.4	mg/dL
BUN	<b>126.7</b> ↑	9.2 – 29.2	mg/dL
Globulinas	<b>4.3</b> ↑	1.6 – 3.7	g/dL
ALB/GLOB	<b>0.7</b>	0.7 – 1.9	
BUN/CRE	<b>53.9</b> ↑	12.5 – 31.8	

Legenda: ALB/GLOB - Razão Albumina/Globulina; BUN/CRE - Razão BUN/Creatinina

No hemograma da Rosinha, a baixa contagem de glóbulos vermelhos e a diminuição dos valores de hemoglobina e hematócrito, eram indicativos de anemia. Além disso, apresentava leucocitose e neutrofilia. As análises bioquímicas da Rosinha revelaram hiperproteinemia, hiperglobulinemia, relação Albumina/Globulina baixa, níveis elevados de creatinina e BUN e relação BUN/Creatinina elevada.

Tendo em conta os sinais clínicos e alterações laboratoriais bastante sugestivos, foi realizado um teste rápido para a leishmaniose (Speed Leish K®), em que foi obtido resultado positivo.

## **5. Diagnóstico Definitivo**

Conforme as alterações clínicas e laboratoriais e o resultado positivo no teste serológico, foi considerado como diagnóstico definitivo leishmaniose canina.

## **6. Prognóstico**

Com base nos sinais clínicos graves e alterações laboratoriais, a Rosinha enquadrava-se no Estádio III (Grave) da classificação da LeishVet para leishmaniose Canina. Neste estágio o prognóstico é reservado ou mau.

## **7. Tratamento e Evolução Clínica**

No dia 24 de novembro de 2023, a Rosinha apresentou-se a uma consulta pré-cirúrgica na Clínica Veterinária Vetbeirão. Após a realização do exame de estado geral, análises laboratoriais e teste serológico qualitativo, foi diagnosticada com leishmaniose canina. No entanto, a tutora decidiu não iniciar qualquer tratamento, por razões monetárias.

Dia 11 de dezembro de 2023, a Rosinha voltou a consulta, com ataxia severa, ausência de resposta a estímulos, rigidez cervical, corrimento nasal purulento e nistagmo, pelo que foi considerada a melhor opção a realização da eutanásia.

## Discussão dos Casos Clínicos

Durante o período de estágio curricular na Clínica Veterinária Vetbeirão, foram observados vários casos de leishmaniose canina. Esta doença parasitária é uma causa bastante frequente de ida ao veterinário em Castelo Branco, sendo este um dos distritos com maior prevalência da doença em Portugal (29,9%) (Almeida *et al.*, 2022).

Nos dois casos apresentados, os cães tinham acesso frequente ao exterior, o que aumenta o risco de infeção por *Leishmania* devido à exposição prolongada às picadas de flebótomos infetados (Vasconcelos *et al.*, 2017). Além disso, nenhum dos cães realizava qualquer tipo de proteção contra flebótomos. Dado que, a transmissão da *Leishmania* para cães ocorre através da picada de flebótomos, a principal medida de prevenção é a utilização de inseticidas tópicos com efeito repelente contra estes vetores, que podem ser usados na forma de *spot-on*, spray ou coleira (Miró *et al.*, 2017). Nos dois casos, após obtenção do diagnóstico de leishmaniose canina, foi recomendada a utilização destes inseticidas de modo a prevenir que outros flebótomos se alimentem, fiquem infetados e, consequentemente, propaguem a doença.

Nenhum dos cães estudados era vacinado para a leishmaniose canina. Atualmente, a única vacina disponível na Europa é a LetiFend®, que fornece 70% de proteção contra os sinais clínicos da doença, o que poderia ter evitado o desenvolvimento das alterações clinico-patológicas observadas nestes dois casos (Alonso *et al.*, 2023). Apesar da vacinação reduzir a ocorrência da doença clínica, não previne a infeção, pelo que, a vacinação não deve substituir o uso de inseticidas tópicos (Squires *et al.*, 2024).

No presente estudo, foram encontrados diferentes sinais clínicos e alterações laboratoriais associados à leishmaniose canina, o que comprova a sua variabilidade clínica. Em ambos os casos, foram observadas alterações dermatológicas, o que está de acordo com estudos que demonstram que estas são lesões bastante comuns em cães infetados, estando presentes em 56% a 90% dos casos (Baneth *et al.*, 2023). As lesões cutâneas normalmente são provocadas por processos inflamatórios e imunomediados, associados com a multiplicação de amastigotas de *Leishmania* dentro dos macrófagos e de outras células do sistema fagocítico mononuclear (Sasani *et al.*, 2014).

Adicionalmente, os dois cães deste estudo também apresentaram perda de peso, que é bastante comum e pode ocorrer devido à anorexia, competição por nutrientes essenciais entre o parasita e o hospedeiro, redução da absorção intestinal ou presença de lesão renal. Apenas a Rosinha apresentava linfadenopatia generalizada, que normalmente é provocada pela hipertrofia da região cortical e medular dos linfonodos e pela presença de muitos macrófagos infetados (Saridomichelakis, 2009). Durante a auscultação cardíaca da Rosinha, foi detetado um sopro cardíaco de grau IV e, apesar da presença de sinais clínicos de doença cardíaca serem raros na leishmaniose canina, os parasitas também podem ser encontrados no tecido cardíaco (Rosa *et al.*, 2013) e a doença pode originar lesões no miocárdio, devido à inflamação granulomatosa, à deposição de complexos-imunes e à hipertensão sistémica (Saridomichelakis, 2009).

Quanto às alterações laboratoriais, o hemograma da Rosinha revelou anemia, com diminuição de glóbulos vermelhos, hemoglobina e hematócrito, estes valores podem ser justificados pela LCan devido à destruição dos glóbulos vermelhos pelo parasita, à supressão da medula óssea e consequente diminuição da eritropoiese, ao sequestro e destruição de eritrócitos no baço e à diminuição da produção de eritropoietina provocada pela lesão renal (Baneth *et al.*, 2008; Veras *et al.*, 2023). Além disso, verificou-se leucocitose com neutrofilia, que sugere a presença de infeções secundárias ou a existência de uma resposta inflamatória significativa, que é comum em infeções parasitárias como a leishmaniose (Veras *et al.*, 2023). Por outro lado, no hemograma do Yuri, foi detetada leucopenia com linfopenia e monocitopenia, que é consistente com uma infeção crónica como a leishmaniose em que há imunossupressão da medula óssea. A diminuição de linfócitos e monócitos também pode dever-se à apoptose induzida pelo parasita ou ao recrutamento destas células para órgãos e tecidos parasitados (Alexandre-Pires *et al.*, 2010).

Nas análises bioquímicas do Yuri verificou-se aumento da ALP que sugere que possa existir algum comprometimento hepático. As lesões hepáticas, na LCan, normalmente são provocadas pela presença de infiltrações inflamatórias e formação de granulomas hepáticos (Lima *et al.*, 2019). Estas alterações podem prejudicar o fluxo biliar em áreas do fígado e resultar em aumentos da atividade da ALP (Allison, 2022). Os danos hepáticos da LCan podem contribuir para várias alterações laboratoriais, como a hipoalbuminemia e o aumento das enzimas hepáticas séricas, mas raramente terminam

em insuficiência hepática (Saridomichelakis, 2009). Tanto o Yuri como a Rosinha apresentaram hiperproteinemia e hiperglobulinemia. O aumento das proteínas totais e das globulinas são achados bastante comuns em cães com leishmaniose, indicativos de uma resposta imunológica crónica, com produção aumentada de anticorpos (Campillo et al., 1999).

A alteração dos valores da função renal apenas se verificou no caso Rosinha. No entanto, os níveis de ureia e creatinina no soro não aumentam até que mais de 75% dos nefrónios já não estejam funcionais, pelo que estes valores não são úteis na deteção precoce de insuficiência e disfunção renal (Allison, 2022), ou seja, apesar dos valores de função renal do Yuri se encontrarem dentro do normal, seria importante a realização de uma análise mais detalhada para detetar possíveis danos renais provocados pela LCan, como a realização de urianálise completa com medição da relação proteína/creatinina na urina (RPC) e teste de SDMA. A Rosinha apresentava valores de creatinina e BUN significativamente elevados, bem como da relação BUN/creatinina, que revelam um estado de azotemia moderado indicativo de comprometimento renal grave com diminuição da taxa de filtração glomerular (Allison, 2022). De modo a compreender a extensão do comprometimento renal deveria ter sido feita uma análise mais detalhada, no entanto a tutora optou por não realizar mais exames. Assim, foi considerado que a Rosinha se encontrava no estágio II da doença renal crónica, segundo o estadiamento da IRIS, devido ao valor da creatinina sérica (2.35 mg/dl) (IRIS, 2023).

Dado que, nos dois casos, os sinais clínicos e as alterações laboratoriais eram bastante sugestivos de leishmaniose canina, foram realizados testes serológicos qualitativos, nos quais se obteve resultados positivos que confirmaram a presença de um nível detetável de anticorpos anti-*leishmania* em circulação. Após o resultado positivo no teste rápido, é sempre recomendável realizar testes serológicos quantitativos que forneçam uma classificação do nível de anticorpos. Um nível elevado de anticorpos confirma o diagnóstico de LCan num cão que apresente sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença (Solano-Gallego *et al.*, 2011). No caso do Yuri, foi feita colheita de sangue e realização do teste ELISA. Neste teste foi obtido resultado positivo de >1/320, que indica que a amostra de sangue contém anticorpos contra *Leishmania* numa diluição maior que 1/320, sendo o critério de valorização de >1/160. Neste caso, o resultado >1/320 excede significativamente este critério, o que é indicativo

de uma reação positiva forte e confirma presença de uns níveis elevados de anticorpos específicos contra *Leishmania*, sugerindo uma infecção ativa. A razão da amostra foi de 2.47, o que indica que a quantidade de anticorpos presentes na amostra é 2.47 vezes superior ao controlo negativo. A razão da amostra obtida reforça a positividade do teste, concluindo que os níveis de anticorpos são significativamente elevados. No caso da Rosinha, após o teste qualitativo positivo, deveria ter sido feito o teste serológico quantitativo, de modo a confirmar a infecção por *Leishmania* e compreender melhor o estágio da doença, no entanto, a tutora optou por não o realizar, por razões económicas. Tendo em conta os sinais clínicos e alterações laboratoriais, seria de esperar um resultado positivo com níveis elevados de anticorpos.

Segundo a escala de definição da fase de desenvolvimento da LCan estabelecida pelo LeishVet, e de acordo com os sinais clínicos, alterações laboratoriais e resultado dos testes serológicos, a Rosinha foi a paciente que apresentou o estadiamento clínico mais grave. Foi considerado que a Rosinha se encontrava no estágio III da doença (doença grave), dado que já apresentava alterações oculares e renais, que normalmente são provocadas pela deposição de complexos imunes. Neste estágio, o prognóstico é considerado reservado a mau, principalmente devido ao comprometimento da função renal, que é uma das principais causas de morte de cães com leishmaniose. O Yuri encontrava-se no estágio II da doença (doença moderada), visto que já apresentava sinais clínicos e alterações laboratoriais significativos e sugestivos de LCan, e um título de anticorpos alto. Segundo o sistema de estadiamento do LeishVet, o estágio clínico I da LCan caracteriza-se pela presença de sinais clínicos moderados, como linfadenomegalia localizada, ausência de alterações laboratoriais e resultado negativo ou positivo com baixo título de anticorpos no teste serológico quantitativo. O estágio II caracteriza-se pela presença de lesões cutâneas, perda de apetite, perda de peso, linfadenomegalia generalizada, onicogribose, anemia moderada não regenerativa, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, perfil renal normal e um título de anticorpos baixo ou alto. No estágio III, além das alterações do estágio anterior, os animais já apresentam sinais clínicos com origem na deposição de complexos imunes e alterações dos valores renais, indicativos de doença renal crónica no estágio I ou II, segundo o estadiamento da IRIS. O estágio IV é caracterizado pela presença tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótica ou doença

renal em estágio final. Os estádios III e IV são caracterizados por um título de anticorpos que pode variar desde médio a alto (LeishVet, 2024).

No caso do Yuri, foi feito tratamento para a leishmaniose com alopurinol, na dose de 10mg/kg PO, BID, durante pelo menos seis meses, combinado com miltefosina, na dose de 2mg/kg, durante 28 dias. O tratamento com alopurinol deve ser prolongado e continuado, de preferência até à recuperação total do animal, ou seja, até à ausência de sinais clínicos e diminuição dos níveis de anticorpos (Solano-Gallego *et al.*, 2011). A combinação de alopurinol com miltefosina tem-se mostrado bastante eficaz, além de apresentar poucos efeitos adversos e uma taxa reduzida de recidivas. Este protocolo é uma alternativa à combinação de antimoniato de meglumina com alopurinol bastante utilizada na LCan (Oliva *et al.*, 2010). O antimoniato de meglumina apresenta algumas limitações, como a resistência parasitária e a nefrotoxicidade (Baneth, 2002), pelo que foi considerado como melhor opção a utilização de miltefosina. O tratamento do Yuri também incluiu amoxicilina e ácido clavulânico, PO, BID, durante sete dias. A amoxicilina, combinada com ácido clavulânico, é um antibiótico de amplo espectro que, neste caso, foi utilizado para o tratamento das lesões cutâneas que já se encontravam infetadas. Adicionalmente, foi recomendada a realização de suplementação dietética com um suplemento à base de nucleótidos e AHCC (Impromune®), durante pelo menos dois meses, após a finalização do tratamento com miltefosina. A administração oral de nucleótidos e AHCC em cães infetados com *L. infantum* mas clinicamente saudáveis, além de segura, permite uma redução significativa dos anticorpos anti-*Leishmania* e resulta numa menor taxa de progressão da doença, exercendo assim um efeito preventivo (Segarra *et al.*, 2018). Apesar da Rosinha não ter feito qualquer medicação, o plano recomendado seria realizar o tratamento convencional da leishmaniose com fármacos específicos, como Alopurinol, na dose de 10mg/kg, PO, BID, por seis a doze meses, combinado com miltefosina, na dose de 2-2.5 mg/kg, PO, SID, por 28 dias (LeishVet, 2024), dado o comprometimento renal grave observado não era recomendável a utilização de antimoniato de meglumina (Oliva *et al.*, 2010).

Para além da medicação, é recomendada a monitorização continua dos pacientes. Um mês após o início do tratamento deve ser realizada uma avaliação do estado clínico do animal, com realização de exame físico e análises laboratoriais, que devem incluir hemograma completo, análises bioquímicas e urianálise completa. Posteriormente, estes

exames devem ser feitos cada três ou quatro meses, durante o primeiro ano. Após o primeiro ano e recuperação total do animal, deve ser feita uma consulta de monitorização da leishmaniose a cada seis ou doze meses. Também é recomendada a realização de um teste sorológico quantitativo três meses após o início do tratamento, e posteriormente a cada seis ou doze meses, de modo a verificar a eficácia do tratamento e identificar possíveis recidivas (LeishVet, 2024).

Dezassete dias após a consulta pré-cirúrgica, a Rosinha voltou a consulta na clínica Vetbeirão, com ataxia severa, ausência de resposta a estímulos, rigidez cervical, corrimento nasal purulento e nistagmo. A ataxia desenvolvida poderia estar associada aos danos da *Leishmania* no sistema nervoso central e periférico através de lesões inflamatórias e deposição de complexos imunes (Giannuzzi *et al.*, 2017; Baneth *et al.*, 2023). A presença de rigidez cervical já foi documentada anteriormente, em cães com leishmaniose que desenvolveram meningite granulomatosa (Viñuelas *et al.*, 2001). A ausência de resposta a estímulos é indicativa de um comprometimento neurológico mais profundo. A Rosinha apresentava disfunção renal grave, que pode ter contribuído para o desenvolvimento de complicações neurológicas devido à uremia e consequente encefalopatia, à hipertensão arterial e intracraniana, à anemia, e aos desequilíbrios eletrolíticos e de ácido-base, que podem ter dado origem a hipocalcemia e acidose metabólica (Hamed, 2019). A presença de corrimento nasal purulento poderia estar associada a uma infecção bacteriana no trato respiratório superior, secundária à leishmaniose. De acordo com o quadro clínico apresentado e após avaliação da qualidade de vida, foi considerada como melhor opção a realização da eutanásia. No caso da Rosinha, o diagnóstico de LCan foi tardio, pelo que a doença já se encontrava em estado avançado, no entanto a decisão de não realizar nenhum tratamento para a leishmaniose e para as condições associadas resultou na progressão rápida e severa da doença, que acabou por não ser compatível com a vida.

A evolução clínica do Yuri foi favorável. Sete dias após o início do tratamento, as lesões cutâneas melhoraram significativamente e já se encontravam em processo de cicatrização. Após a finalização do tratamento com miltefosina, as lesões cutâneas encontravam-se totalmente cicatrizadas e os valores laboratoriais dentro dos valores de referência. O objetivo do tratamento realizado para leishmaniose canina é controlar os sinais clínicos e as alterações laboratoriais, melhorar a imunidade, reduzir a carga

parasitária, evitar recaídas e diminuir a taxa de transmissão de *Leishmania* para o vetor (Morales-Yuste *et al.*, 2022). No entanto, o tratamento não está associado a uma cura parasitológica, ou seja, nunca há eliminação total do parasita (Baneth, 2002), assim, é importante realizar uma monitorização contínua dos animais infetados e tratados, de modo a evitar possíveis recidivas. Além disso, deve-se ter em conta que estes cães continuam a servir de reservatório de *Leishmania*, sendo importante a utilização de inseticidas tópicos que impeçam a transmissão do vírus para outros flebótomos e a propagação da doença.

## Conclusão

Após o estágio realizado na Clínica Veterinária Vetbeirão, é possível afirmar que a experiência foi extremamente enriquecedora, tanto do ponto de vista técnico quanto pessoal. O acompanhamento de profissionais experientes possibilitou a consolidação de conhecimentos adquiridos durante a formação académica, bem como o desenvolvimento de novas competências essenciais para a prática veterinária. Além disso, o contato direto com os animais e os seus tutores permitiu aprimorar habilidades de comunicação e empatia.

A leishmaniose é uma doença parasitária de carácter zoonótico provocada por protozoários do género *Leishmania* que representa um desafio significativo tanto para a saúde animal quanto para a saúde pública, em Portugal e em muitas outras regiões endémicas. Esta doença, transmitida pela picada de vetores do género *Phlebotomus*, afeta um número considerável de cães e pode ter consequências fatais se não for diagnosticada e tratada atempadamente.

A leishmaniose canina é uma doença de grande complexidade, caracterizada por uma ampla variabilidade clínica, o que dificulta o seu diagnóstico. Esta variabilidade deve-se à resposta imunológica individual de cada animal ao parasita, que resulta numa gama diversificada de manifestações clínicas, desde formas subclínicas até casos graves e potencialmente fatais. Esta variabilidade clínica também implica que o tratamento e o prognóstico sejam altamente individualizados. Enquanto alguns cães respondem bem ao tratamento e conseguem manter uma boa qualidade de vida, outros podem necessitar de um acompanhamento mais intensivo e prolongado, com prognóstico reservado.

Em Portugal, a leishmaniose canina é uma doença endémica que constitui um problema de saúde pública, o que destaca a necessidade do seu controlo e prevenção. Apesar dos avanços na medicina veterinária, incluindo o desenvolvimento de vacinas e tratamentos mais eficazes, a prevenção continua a ser a estratégia mais eficaz no combate à leishmaniose. A utilização de medidas preventivas, como repelentes/inseticidas tópicos e o controlo ambiental, são fundamentais para reduzir a incidência da doença. A consciencialização dos tutores sobre a importância da prevenção e do diagnóstico precoce

também é crucial, pois permite o início imediato do tratamento e aumenta significativamente as chances de recuperação dos animais afetados. Além disso, é essencial continuar a promover a investigação e a disseminação de conhecimentos sobre a leishmaniose, de modo a melhorar as estratégias de controlo e tratamento, garantindo assim o bem-estar dos cães e a proteção da saúde pública.

O acompanhamento próximo de diversos casos de leishmaniose canina durante o estágio curricular permitiu adquirir conhecimentos aprofundados sobre a doença, tanto no que diz respeito ao reconhecimento clínico como às abordagens diagnósticas e terapêuticas.

Concluindo, a leishmaniose canina é uma doença grave e complexa, que exige uma abordagem multifacetada e requer estratégias integradas, que envolvam a prevenção do vetor, a vacinação, o tratamento adequado dos animais infetados e a consciencialização dos tutores. O controlo desta doença é uma tarefa coletiva que exige a colaboração entre as autoridades de saúde, os veterinários e a sociedade, visando a redução da sua incidência e a proteção da saúde animal e humana.

## Bibliografía

- Agut, A., Corzo, N., Murciano, J., Laredo, F. G., & Soler, M. (2003). Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record*, 153(21), 648-652.
- Akhoundi, M., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J., Marty, P., Delaunay, P., & Sereno, D. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 1-40.
- Alexandre-Pires, G., Britoa, M. T., Algueró, C., Rodrigues, C. M., Fonseca, I. P., & Santos-Gomes, G. (2010). Canine leishmaniosis: Immunophenotypic profile of leukocytes in different compartments of symptomatic, asymptomatic and treated dogs. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 137, 275–283.
- Allison, R. W. (2022). Laboratory Evaluation of Plasma and Serum Proteins. Em M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell, *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology* (pp. 484 - 497). Wiley Blackwell.
- Allison, R. W. (2022). Laboratory Evaluation of the Liver . Em M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell, *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology* (pp. 425-444). Wiley Blackwell.
- Almeida, M., Maia, C., Cristóvão, J. M., Morgado, C., Barbosa, I., Ibars, R. F., Campino, L., Gonçalves, L., Cortes, S. (2022). Seroprevalence and Risk Factors Associated with *Leishmania* Infection in Dogs from Portugal. *Microorganisms*, 10, 2262.
- Almeida, V., Lima, I., Fraga, D., Carrillo, E., Moreno, J., & dos-Santos, W. L. (2021). Hematological Changes in Dogs with Visceral Leishmaniasis Associated with Increased IFN- $\gamma$  and TNF Gene Expression Levels in the Bone Marrow. *Microorganisms*, 9, 1618.
- Alonso, A., Alcolea, P. J., Larraga, J., Peris, M. P., Esteban, A., Cortés, A., Ruiz-García, S., Castillo, J. A.; Larraga, V. (2023). A non-replicative antibiotic resistance-free DNA vaccine delivered by the intranasal route protects against canine leishmaniasis. *Front. Immunol*, 14.
- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., Moreno, J., & Nieto, J. (2004). Canine Leishmaniasis. Em J. R. Baker, R. Muller, & D. Rollinson, *Advances in Parasitology Vol. 57* (pp. 2-64). Elsevier.
- Álvarez, L., Marín-García, P.-J., Rentero-Garrido, P., & Llobat, L. (2022). Immune and Genomic Analysis of Boxer Dog Breed and Its Relationship with *Leishmania infantum* Infection. *Veterinary Sciences*, 9, 608.
- Baneth, G. (2002). A review of the treatment of canine leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: moving towards a solution*, 15-19.

- Baneth, G., Koutinas, A. F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., & Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *CelPress*, 324-330.
- Baneth, G., Petersen, C., Solano-Gallego, L., & Sykes, J. E. (2023). Leishmaniosis. Em J. E. Sykes, *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat, 5th Edition* (pp. 1179-1202). Elsevier.
- Baneth, G., Yasur-Landau, D., Gilad, M., & Nachum-Biala, Y. (2017). Canine leishmaniosis caused by *Leishmania major* and *Leishmania tropica*: Comparative findings and serology. *Parasites & Vectors*, 10, 113.
- Barbiéri, C. L. (2006). Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunology*, 271-345.
- Bates, P. A. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, 1097–1106.
- Beneke, T., Demay, F., Hookway, E., Ashman, N., Jeffery, H., Smith, J., Valli, J., Becvar, T., Myskova, J., Lestinova, T., Shafiq, S., Sadlova, J., Volf, P., Wheeler, R. J., Gluenz, E. (2019). Genetic dissection of a *Leishmania* flagellar proteome demonstrates requirement for directional motility in sand fly infections. *PLoS Pathogens*, 15(6).
- Birkenheuer, A. J. (2023). Babesiosis. Em J. E. Sykes, *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat* (pp. 1203 - 1217). Elsevier.
- Blume, G., Eloi, R., Silva, F., Eckstein, C., Santos, R., & Sant'Ana, F. (2019). Oral Lesions in Dogs with Visceral Leishmaniosis. *Journal of Comparative Pathology*, Volume 171, pp. 6-11.
- Bogdan, C., Röllinghoff, M., & Solbach, W. (1990). Evasion Strategies of *Leishmania* Parasites. *Parasitology Today*, 6(6):183-187.
- Bonfim, N. E., Scott, A. L., & Calderon, L. d. (2022). Leishmaniasis: Molecular Aspects of Parasite Dimorphic Forms Life Cycle. Em L. d. Calderon, *Leishmaniasis - General Aspects of a Stigmatized Disease*. IntechOpen.
- Braliou, G. G., Kontou, P. I., Boleti, H., & Bagos, P. G. (2019). Susceptibility to leishmaniasis is affected by host *SLC11A1* gene polymorphisms: a systematic review and meta-analysis. *Parasitology Research*, 2329–2342.
- Bray, R. S. (1974). *Leishmania*. *Annual Review of Microbiology*, 28:189-221.
- Brito, F., Alves, L., Maia, F., Santos, E., Laus, J., & Meunier, I. (2006). Ocular alterations in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 768-775.
- Campillo, M. C., Vázquez, F. A., Fernández, A. R., Acedo, C. S., Rodríguez, S. H., López-Cozar, I. N., Baños, P. D., Romero, H. Q., Varela, M. C. (1999). *Parasitología Veterinaria. (1ª edición)*. Madrid: McGraw-Hill Interamericana.

- Campino, L., & Maia, C. (2010). Epidemiologia das leishmanioses em Portugal. *Acta Medica Portuguesa*, 23: 859-864.
- Cecílio, P., Cordeiro-da-Silva, A., & Oliveira, F. (2022). Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with *Leishmania* parasites. *Communications Biology*, 5(1): 305.
- Cecílio, P., Pérez-Cabezas, B., Santarém, N., Maciel, J., Rodrigues, V., & Silva, A. C. (2014). Deception and manipulation: the arms of *Leishmania*, a successful parasite. *Frontiers in Immunology*, 1-16.
- Chew, D. J., Dibartola, S. P., & Schenck, P. A. (2010). *Canine and Feline Nephrology and Urology*. Elsevier.
- Clos, J., Grünebast, J., & Holm, M. (2022). Promastigote-to-Amastigote Conversion in *Leishmania* spp. - A Molecular View. *Pathogens*, 1-13.
- Colmenares, M., Kar, S., Goldsmith-Pestana, K., & McMahon-Pratt, D. (2002). Mechanisms of pathogenesis: differences amongst *leishmania* species. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 96.
- Dubie, T., & Mohammed, Y. (2020). Review on the Role of Host Immune Response in Protection and Immunopathogenesis during Cutaneous Leishmaniasis Infection. *Journal of Immunology Research*, vol. 2020, 18.
- Elliott, J., Grauer, G. F., & Westropp, J. L. (2017). *BSAVA Manual of Canine and Feline Nephrology and Urology*. BSAVA.
- EMA, E. M. (22 de 02 de 2022). *Letifend*. Obtido de European Medicines Agency: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/letifend> Acedido a 21 de abril de 2024.
- EMA, E. M. (2022). *NeioLeish*. Obtido de European Medicines Agency: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/neioleish> Acedido a 21 de abril de 2024.
- Fernandez-Gallego, A., Bernabe, L. F., Dalmau, A., Esteban-Saltiveri, D., Font, A., Leiva, M., Ortuñez-Navarro, A., Peña, M., Tabar, M., Real-Sampietro, L., Saló, F., Lloret, A., Bardagí, M. (2020). Feline leishmaniasis: diagnosis, treatment and outcome in 16 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(10):993-1007.
- Ferrer, L. (2002). The pathology of canine leishmaniasis. *Canine Leishmaniasis: moving towards a solution*, 21-24.
- Ferrer, L., Rabanal, R., Fondevila, D., Ramos, J. A., & Domingo, M. (1988). Skin lesions in canine leishmaniasis. *Journal of Small Animal Practice*, 381-388.
- Gharbi, M., Mhadhbi, M., Rejeb, A., Jaouadi, K., & Rouatbi, M. (2015). Leishmaniasis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. *Revue scientifique et technique/Office international des épizooties*, 613-626.

- Giannuzzi, A. P., Ricciardi, M., Simone, A. D., & Gernone, F. (2017). Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice*, 58, 125–138.
- Gossage, S. M., Rogers, M. E., & Bates, P. A. (2003). Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: implications for understanding the life cycle. *International Journal for Parasitology*, 33(10): 1027–1034.
- Goulli, A. F., Zribi, L., Sanhaji, R., Chabchoub, A., Bouratbine, A., Gharbi, M., & Abdelmelek, H. (2023). Study of ocular manifestations and humoral immune response in eyes of dogs with leishmaniasis. *Vet Med Sci.*, 625–637.
- Gradoni, L. (2002). The diagnosis of canine leishmaniasis. Em *Canine Leishmaniasis: moving towards a solution* (pp. 7-14). Intervet.
- Gradoni, L. (2018). A Brief Introduction to Leishmaniasis Epidemiology. Em F. Bruschi, & L. Gradoni, *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases* (pp. 1-13). Springer.
- Grant, D. C., & Forrester, S. D. (2001). Glomerulonephritis in Dogs and Cats: Glomerular Function, Pathophysiology, and Clinical Signs. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian*, 739-746.
- Grauer, G. F. (2003). Canine Glomerulonephritis. *NAVc clinician's brief*, 21-26.
- Gunn, A., & Pitt, S. J. (2022). *Parasitology. An Integrated Approach*. New York Academy of Sciences: Wiley.
- Hamed, S. A. (2019). Neurologic conditions and disorders of uremic syndrome of chronic kidney disease: presentations, causes, and treatment strategies. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 12:1, 61-90.
- Handman, E., Elso, C., & Foote, S. (2005). Genes and Susceptibility to Leishmaniasis. Em *Advances in Parasitology* (pp. 1-75).
- Harvey, C. E. (1998). Periodontal disease in dogs: Etiopathogenesis, Prevalence, and Significance. *Veterinary clinics of north america: small animal practice*, 1111-1128.
- Inceboz, T. (2019). Epidemiology and Ecology of Leishmaniasis. Em A. Rodriguez-Morales, *Current Topics in Neglected Tropical Diseases*. IntechOpen.
- Internacional Renal Interest Society (IRIS) (2023). Diagnosing, Staging, and Treating Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. Acedido a 12 de maio de 2024. Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html>
- Isola, J. G., Cadioli, F. A., & Nakage, A. P. (2012). Erliquiose canina – Revisão de literatura. *Revista científica eletrônica de medicina veterinária*, 18.

- Kost, W. d., Pereira, S. A., Figueiredo, F. B., Junior, A. A., Madeira, M. d., Miranda, L. d., Oliveira, R. V. C., Ferreira, L. C., Morgado, F. N., Menezes, R. C. (2021). Frequency of detection and load of amastigotes in the pancreas of *Leishmania infantum*-seropositive dogs: clinical signs and histological changes. *Parasites & Vectors*, 14: 321.
- Kumar, A. (2013). *Leishmania and Leishmaniasis*. New Delhi, India: Springer.
- Lainson, R., & Shaw, J. J. (1987). Evolution, classification and geographical distribution. Em W. Peteres, & R. Killick-Kendrick, *The Leishmaniasis in Biology and Medicine* (pp. 1-120). Londres: Academic Press.
- Lawyer, P. G., & Perkins, P. V. (2004). Leishmaniasis and Trypanosomiasis. Em B. F. Eldridge, & J. D. Edman, *Medical Entomology* (pp. 231-298). Springer.
- LeishVet. (2024) *Canine leishmaniasis: A brief for the practicing veterinarian*.
- Lewis, D. J. (1971). Phlebotomid Sandflies. *Bulletin of the World Health Organization*, 535-551.
- Lima, I. S., Solcá, M. S., Tafuri, W. L., Freitas, L. A., & dos-Santos, W. L. (2019). Assessment of histological liver alterations in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Parasites & Vectors*, 12:487.
- Maia, C., & Campino, L. (2018). Biomarkers Associated With *Leishmania infantum* Exposure, Infection, and Disease in Dogs . *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8: 302.
- Maia, C., & Campino, L. (2018). Leishmaniose em Portugal no início do século XXI. *Anais Instituto de Higiene e Medicina Tropical. Saúde Global e doenças tropicais*, 13: 25-28.
- Maroli, M., Feliciangeli, D., Bichaud, L., Charrel, R. N., & Gradoni, L. (2012). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. Em *Medical and Veterinary Entomology* (pp. 27, 123–147).
- Maurício, I. L. (2018). *Leishmania* taxonomy. Em L. G. Fabrizio Bruschi, *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases* (pp. 15-30).
- McConville, M. J., & Handman, E. (2007). The molecular basis of *Leishmania* pathogenesis. *International Journal for Parasitology*, 37, 1047–1051.
- Mendoza-Roldan, J. A., Latrofa, M. S., Iatta, R., Manoj, R. R., Panarese, R., Annoscia, G., Pombi, M., Zatelli, A., Beugnet, F., Otranto, D. (2021). Detection of *Leishmania tarentolae* in lizards, sand flies and dogs in southern Italy, where *Leishmania infantum* is endemic: hindrances and opportunities. *Parasites Vectors*, 14:461.
- Meuten, D., & Sample, S. (2022). Laboratory Evaluation and Interpretation of the Urinary System. Em M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell,

- Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology, Third Edition.* (pp. 343-401). John Wiley & Sons.
- Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., Solano-Gallego, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Oliva, G. (2017). Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniasis. *Trends in Parasitology*, 33(9): 718-730.
- Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary Sciences*, 9, 387.
- Moreno, A. M., Nieto, C. G., & Rodriguez, S. H. (1999). Parasitosis sistémica - Leishmaniosis Canina. Em M. Campillo, F. Vazquez, A. Fernandez, M. Acedo, S. Rodriguez, I. Lopez-Cozar, Baños, P. D., Romero, H. Q., M. Varela, *Parasitología Veterinaria* (pp. 651-665). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Nogueira, F. d., Avino, V. C., Galvis-Ovallos, F., Pereira-Chioccola, V. L., Moreira, M. A., Romariz, A. P., Molla, L. M., Menz, I. (2019). Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasites & Vectors Vol 12*, 79.
- Ogden, G., & Melby, P. (2009). Leishmania. Em M. Schaechter, *Encyclopedia of Microbiology* (pp. 663-673). San Diego State University, San Diego, CA, USA: Academic Press.
- Oliva, G., Roura, X., Crotti, A., Maroli, M., Castagnaro, M., Gradoni, L., Lubas, G., Paltrinieri, S., Zatelli, A., Zini, E. (2010). Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs . *Journal of the American Veterinary Medical Association, Vol 236, No. 11*, 1192-1198.
- Oliveira, V. V., Alves, L. C., & Junior, V. A. (2015). Transmission routes of visceral leishmaniasis in mammals. *Ciência Rural*, 45(9) 1622-1628.
- OMS, O. M. (12 de January de 2023). Obtido de Leishmaniasis: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> Acedido a 24 de março de 2024.
- Paltrinieri, S., Solano-Gallego, L., Fondati, A., Lubas, G., Gradoni, L., Castagnaro, M., Crotti, A., Maroli, M., Oliva, G., Roura, X., Zatelli, A., Zini, E. (2010). Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* , 1184-1191.
- Panahi, E., Stanistic, D. I., Peacock, C. S., & Herrero, L. J. (2022). Protective and Pathogenic Immune Responses to Cutaneous Leishmaniasis. Em L. d. Calderonon, *Leishmaniasis - General Aspects of a Stigmatized Disease*. IntechOpen.
- Pérez-cutillas, P., Muñoz, C., Puente, J. M.-D., Figuerola, J., Navarro, R., Ortuño, M., Bernal, L. J., Ortiz, J., Soriguer, R. C., Berriatua, E. (2020). A spatial ecology study in a high-diversity host community to understand blood-feeding behaviour

- in *Phlebotomus* sandfly vectors of *Leishmania*. *Medical and Veterinary Entomology*, 34(2), 164-174.
- Peris, M. P., Ortega-Hernández, P., Morales, M., Castillo, J. A., & Moreno, B. (2022). Atypical Lesions in Canine Leishmaniosis: Description of New Cases. *Animals*, 12(20), 2784.
- Peterson, M. E. (2007). Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs . *Clinical Techniques in Small Animal Practice* , 2-11.
- Pineda, C., Aguilera-Tejero, E., Morales, M. C., Belinchon-Lorenzo, S., Gomez-Nieto, L. C., Garcia, P., Martinez-Moreno, J. M., Rodriguez-Ortiz, M. E., Lopez, I. (2017). Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PLOS ONE*, 12(10).
- Pirajá, G. V., & Lucheis, S. B. (2014). A vigilância epidemiológica de flebotomíneos no planejamento de ações de controle nas leishmanioses. *Veterinária e Zootecnia*, 21(4): 503-515.
- Pontes, K. C., Viana, J. A., & Duarte, T. S. (2006). Etiopatogenia da uveíte associada a doenças infecciosas em pequenos animais. *Revista Ceres*, vol. 53, n. 309, pp. 618-626.
- Poulaki, A., Piperaki, E.-T., & Voulgarelis, M. (2021). Effects of Visceralising *Leishmania* on the Spleen, Liver, and Bone Marrow: A Pathophysiological Perspective. *microorganisms*, 9, 759.
- Quinnell, R. J., & Courtenay, O. (2009). Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*, 136(14):1915-1934.
- Quinnell, R. J., Kennedy, L. J., Barnes, A., Courtenay, O., Dye, C., Garcez, L. M., Shaw, M., Carter, S. D., Thomson, W., Ollier, W. E. (2003). Susceptibility to visceral leishmaniasis in the domestic dog is associated with MHC class II polymorphism. *Immunogenetics*, 55, 23–28.
- Rallis, T., Day, M. J., Saridomichelakis, M. N., Papazoglou, K. K.-M., Fytianou, A., & Koutinas, A. F. (2005). Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. *Journal of comparative pathology*, 145-152.
- Ramalho-Ortigão, J. M., Kamhawi, S., Joshi, M. B., Reynoso, D., Lawyer, P. G., Dwyer, D. M., Sacks, D. L., Valenzuela, J. G. (2005). Characterization of a blood activated chitinolytic system in the midgut of the sand fly vectors *Lutzomyia longipalpis* and *Phlebotomus papatasi*. *Insect Molecular Biology*, 14 (6), 703–712.
- Ribeiro, R. R., Michalick, M. S., Silva, M. E., Santos, C. C., Frézard, F. J., & Silva, S. M. (2018). Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *Biomed Res Int.*, 2018.

- Rogers, M. E. (28 de junho de 2012). The role of *Leishmania* proteophosphoglycans in sand fly transmission and infection of the mammalian host. *Frontiers of Microbiology.*, p. 3: 223.
- Rogers, M. E., & Bates, P. A. (2007). *Leishmania* Manipulation of Sand Fly Feeding Behavior Results in Enhanced Transmission. *PLoS Pathogens*, 3(6).
- Romoser, W. S. (1996). The Vector Alimentary Canal. Em W. C. Marquardt, & B. J. Beaty, *The Biology of Disease Vectors* (pp. 298-330). University Press of Colorado.
- Rosa, F. A., Leite, J. H., Braga, E. T., Moreira, P. R., Baltazar, F. H., Biondo, A. W., Padua, P. P. M., Vasconcelos, R. O., Camacho, A. A., Ferreira, W. L., Machado, G. F., Marcondes, M. (2013). Cardiac Lesions in 30 Dogs Naturally Infected With *Leishmania infantum* chagasi . *Veterinary Pathology* , Vol 51, 3, pp. 603-606.
- Salant, H., Nachum-Biala, Y., Feinmesser, B., Perelmutter, M., & Baneth, G. (2021). Early onset of clinical leishmaniosis in a litter of pups with evidence of in utero transmission. *Parasites & Vectors*, 14:326.
- Sanchez-Robert, E., Altet, L., Utzet-Sadurni, M., Giger, U., Sanchez, A., & Francin, O. (2009). Slc11a1 (formerly Nramp1) and susceptibility to canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Research*, 39(3): 36.
- Saridomichelakis, M. N. (2009). Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. *Veterinary Dermatology* , 20, 471 – 489.
- Sasani, F., Javanbakht, J., Samani, R., & Shirani, D. (2014). Canine cutaneous leishmaniasis. *Journal of Parasitic Diseases*, Vol 40, p. 57-60.
- Segarra, S., Miró, G., Montoya, A., Pardo-Marín, L., Teichenné, J., Ferrer, L., & Cerón, J. J. (2018). Prevention of disease progression in *Leishmania infantum*-infected dogs with dietary nucleotides and active hexose correlated compound. *Parasites & Vectors* , 11, 103.
- Sella, E. M., Nunes, D. S., & Sato, E. I. (1999). Cardiovascular manifestations in systemic lupus erythematosus. *Rev. bras. reumatol*, 39(3): 161-70.
- Serafim, T. D., Iniguez, E., & Oliveira, F. (2019). *Leishmania infantum*. *Trends in Parasitology | Parasite of the Month*.
- Service, M. (2012). *Medical Entomology for Students*. Liverpool School of Tropical Medicine, Liverpool, UK: Cambridge University Press.
- Service, M. (2012). Phlebotomine sand flies . Em *Medical Entomology for Students* (pp. 98 - 107). Cambridge University Press.
- Sharma, U., & Singh, S. (2008). Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *Journal of Vector Borne Diseases*, 45: 255-272.

- Sharma, U., & Singh, S. (2009). Immunobiology of leishmaniasis. *Indian Journal of Experimental Biology* Vol. 47, 412-423.
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Olivia, G., Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 4:86.
- Solano-Gallego, L., Montserrat-Sangrà, S., Ordeix, L., & Martínez-Orellana, P. (2016). Leishmania infantum-specific production of IFN- $\gamma$  and IL-10 in stimulated blood from dogs with clinical leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 9:317.
- Squarre, D., Chambaro, H. M., Hayashida, K., Moonga, L. C., Qiu, Y., Goto, Y., Oparaocha, E., Mumba, C., Muleya, W., Bwalya, P., Chizimu, J., Chembensofu, M., Simulundu, E., Mwasinga, W., Banda, N. B., Mwenda, R., Yamagishi, J., Nalubamba, K., Banda, F., Munyeme, M., Sawa, H., Fandamu, P., (2022). Autochthonous *Leishmania infantum* in Dogs, Zambia, 2021. *Emerging Infectious Diseases*, 28(4).
- Squires, R. A., Crawford, C., Marcondes, M., & Whitley, N. (2024). 2024 guidelines for the vaccination of dogs and cats – compiled by the Vaccination Guidelines Group (VGG) of the World Small Animal Veterinary Association (WSAVA). *Journal of Small Animal Practice*, 65(5), 277-316.
- Thrall, M. A., Meuten, D., Bohn, A. A., & Meichner, K. (2022). Cytology of Lymph Nodes. Em M. A. Thrall, G. Weiser, R. W. Allison, & T. W. Campbell, *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry, and Cytology* (p. 752-773). Wiley Blackwell.
- Thrall, M. A., Weiser, G., Allison, R. W., & Campbell, T. W. (2022). *Veterinary Hematology, Clinical Chemistry and Cytology*. Wiley Backwell.
- Travi, B. L., & Miró, G. (2018). Use of domperidone in canine visceral leishmaniasis: gaps in veterinary knowledge and epidemiological implications. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, Vol. 113 (11).
- Vasconcelos, T. C., Furtado, M. C., Belo, V. S., Morgado, F. N., & Figueiredo, F. B. (2017). Canine susceptibility to visceral leishmaniasis: A systematic review upon genetic aspects, considering breed factors and immunological concepts. *Infection, Genetics and Evolution*, 74.
- Veras, P. S., Santana, M. B., Brodskyn, C. I., Fraga, D. B., Solcà, M. S., Menezes, J. P. B., Leite, B. M. M., Teixeira, H. M. P. (2023). Elucidating the role played by bone marrow in visceral leishmaniasis. *Front. Cell. Infect. Microbiol.*, 13.
- Verçosa, B. L., Lemos, C. M., Mendonça, I. L., Silva, S. M., Carvalho, S. M., Goto, H., & Costa, F. A. (2008). Transmission potential, skin inflammatory response, and parasitism of symptomatic and asymptomatic dogs with visceral leishmaniasis. *BMC Veterinary Research*, 4, 45.

- Viñuelas, J., García-Alonso, M., Ferrando, L., Navarrete, I., I. Molanob, C. M., Carcelén, J., Alonso, C., Nieto, C. (2001). Meningeal leishmaniosis induced by *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. *Veterinary Parasitology* , 23–27.
- Walters, L. L., Irons, K. P., Guzman, H., & Tesh, R. B. (1993). Formation and Composition of the Peritrophic Membrane in the Sand Fly, *Phlebotomus perniciosus* (Diptera: Psychodidae). *Journal of Medical Entomology*, 30(1): 179-198.
- Wilson, R., Bates, M. D., Dostalova, A., Jecna, L., Dillon, R. J., Volf, P., & Bates, P. A. (2010). Stage-specific adhesion of *Leishmania* promastigotes to sand fly midguts assessed using an improved comparative binding assay. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 4(9).
- Wilson, T. M., Magalhães, L. F., Souza, R. R., Medeiros-Ronchi, A. A., & Limongi, J. E. (2017). Renal lesions in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Bioscience Journal*, 990-995.
- Woolcock, A., Keenan, A., Cheung, C., Christian, J., & Moore, G. (2017). Thrombocytosis in 715 Dogs (2011–2015). *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 31:1691–1699.
- Zarrouk, A., Boussaa, S., & Belqat, B. (2022). Distribution and Ecology of Phlebotomine Sand Flies (Diptera: Psychodidae) in Endemic and Nonendemic Area of Leishmaniasis in Northern Morocco. *Journal of Medical Entomology*, 2120–2129.

