

UNIVERSIDADE DE ÉVORA



Relatório de Estágio

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Medicina Interna e Cirurgia de Animais de Companhia

Inês Valério Mestre Lares da Costa
2010

Tutor

Dr. Nuno Miguel Lourenço Alexandre

Orientadora

Dra. Sandra Carmo



AGRADECIMENTOS

Ao meu tutor, Dr. Nuno Alexandre, pela gentileza em aceitar coordenar os meus estágios.

À Dra. Sandra Carmo por me ter orientado, ensinado e literalmente “empurrado” para dentro dos consultórios.

Ao Dr. Mário Mansinho, Dr. Dário Santinha, Dra. Mafalda Andrade e Dra. Patrícia Gomes, com quem tive o prazer de aprender. Não faltou ajuda, nem palavras de incentivo nem boa disposição... muito obrigado.

À Sara e à Magali, que transformaram os momentos no hospital veterinário em autêntico prazer, com todo o seu companheirismo e boa disposição. Principalmente com uma despedida inesquecível!

Ao meu pai e à minha mãe por me terem acompanhado e apoiado incondicionalmente durante todo este percurso, com todo o amor, carinho e paciência que só os pais sabem dar. Desculpem as dores de cabeça...

À minha irmã, pela compreensão, apoio e disponibilidade nos momentos bons e, principalmente, nos mais difíceis. És, sem dúvida, uma irmã especial e uma amiga.

À minha avó Lídia... sempre tão presente na minha vida. Creio mesmo que a minha alegria em atingir este objectivo em nada se compara à que ela sente.

Ao Ruben, que me acompanhou desde o início e soube apoiar, ouvir, repreender e animar nas alturas certas.

À Odete e à Salomé, pelo companheirismo e por todos os momentos passados. Vocês tornaram a minha experiência em Évora em algo para recordar sempre com muito carinho e ainda mais alegria.

À Mariana, que me acompanhou desde os primeiros momentos em Évora até hoje. Pela amizade que se construiu não só em momentos de riso e diversão, mas também nos mais difíceis.

A todos os meus amigos e amigas que contribuíram para a pessoa que sou hoje, com um agradecimento especial à Ana e à Teresa. Muito obrigado a todos.



ÍNDICE

AGRADECIMENTOS.....	i
ÍNDICE.....	ii
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	v
ÍNDICE DE TABELAS.....	vi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	viii
CIFRAS E SIGLAS.....	x
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. DESCRIÇÃO DO LOCAL E ACTIVIDADES DO ESTÁGIO.....	2
III. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS CASOS.....	2
2. MEDICINA PREVENTIVA.....	3
2.1. Protocolo de desparasitação de canídeos.....	4
2.2. Protocolo de desparasitação de felídeos.....	5
2.3. Protocolo de vacinação de canídeos:.....	5
2.4. Protocolo de vacinação de felídeos:.....	6
3. PATOLOGIA MÉDICA.....	7
3.1. Dermatologia.....	7
3.2. Doenças Parasitárias e Infecto-Contagiosas.....	9
3.3. Aparelho Digestivo.....	11
3.4. Sistema Músculo-Esquelético.....	12
3.5. Urologia.....	14
3.6. Oftalmologia.....	15
3.7. Oncologia.....	15
3.8. Cardiologia.....	17
3.9. Teriogenologia.....	18
3.10. Pneumologia.....	19
3.11. Toxicologia.....	20
3.12. Endocrinologia.....	21
3.13. Neurologia.....	22
4. PATOLOGIA CIRÚRGICA.....	23
5. MEIOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO.....	26
5.1. Análises Laboratoriais.....	26
5.2. Testes dermatológicos.....	27
5.3. Anatomohistopatologia.....	28



5.4. Imagiologia	29
5.5. Kit de diagnóstico rápido.....	30
5.6. Outros meios complementares de diagnóstico	31
IV. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: LEISHMANIOSE CANINA.....	33
1. INTRODUÇÃO.....	33
2. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO.....	34
2.1. HOSPEDEIROS RESERVATÓRIOS	34
2.2. VECTOR.....	35
3. EPIDEMIOLOGIA	37
3.1. DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DA LEISHMANIOSE	38
3.2. LEISHMANIOSE EM PORTUGAL	39
4. CICLO DE VIDA	41
5. RESPOSTA IMUNE.....	42
5.1. RESPOSTA IMUNE EFECTIVA	43
5.2. RESPOSTA IMUNE NÃO EFECTIVA	44
6. PATOGENIA.....	45
6.1. MECANISMOS DE EVASÃO NO VECTOR	45
6.2. MECANISMOS DE EVASÃO EXTRACELULAR	45
6.3. MECANISMOS DE EVASÃO INTRACELULAR.....	46
7. SINAIS CLÍNICOS.....	46
8. DIAGNÓSTICO	50
8.1. MÉTODOS PARASITOLÓGICOS	51
8.2. MÉTODOS SEROLÓGICOS.....	51
8.3. MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR	53
8.4. PROVAS COMPLEMENTARES.....	54
9. TRATAMENTO.....	55
9.1. ANTIMONIAIS PENTAVALENTES.....	56
9.2. ANÁLOGOS DAS PURINAS	57
9.3. ASSOCIAÇÃO ANTIMONIATO DE MEGLUMINA- ALOPURINOL	58
9.4. MILTEFOSINA.....	58
9.5. ASSOCIAÇÃO MILTEFOSINA- ALOPURINOL	59
9.6. ANFOTERICINA B	59
9.7. AMINOSIDINA.....	60
9.8. PENTAMIDINA	60



9.9. MARBOFLOXACINA	60
9.10. OUTROS FÁRMACOS E ASSOCIAÇÕES MEDICAMENTOSAS	61
9.11. IMUNOTERAPIA.....	62
9.12. TERAPIA DE SUPORTE E MONITORIZAÇÃO	63
10. PREVENÇÃO E CONTROLO.....	64
10.1. CONTROLO DO VECTOR	64
10.2. CONTROLO DOS HOSPEDEIROS RESERVATÓRIOS.....	65
10.3. CONTROLO DOS HOSPEDEIROS DEFINITIVOS	65
11. IMUNOPROFILAXIA	67
11.1. VACINAS VIVAS ATENUADAS.....	67
11.2. VACINAS MORTAS OU INACTIVADAS	68
11.3. VACINAS DE FRACÇÕES PURIFICADAS.....	69
11.4. VACINAS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES	70
11.5. VACINAS QUE UTILIZAM VECTORES RECOMBINANTES	71
11.6. VACINAS DE DNA.....	71
12. PROGNÓSTICO.....	72
V. CASO CLÍNICO	74
13. RESULTADOS	77
14. DISCUSSÃO	80
VI. BIBLIOGRAFIA	83



ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 : Distribuição percentual das áreas clínicas observadas, $n=830$	3
Gráfico 2: Frequência relativa das actividades de medicina preventiva desenvolvidas em gatos, $n=58$	4
Gráfico 3: Frequência relativa das actividades de medicina preventiva desenvolvidas em cães, $n=180$	4
Gráfico 4: Gráfico representativo da frequência relativa de cada área da Patologia Clínica, $n=413$	7
Gráfico 5: Gráfico representativo da frequência relativa de cada área da Patologia Cirúrgica, $n = 175$	23
Gráfico 6: Distribuição das frequências relativas referentes aos testes dermatológicos,, $n= 64$. 28	
Gráfico 7: Distribuição das frequências relativas referentes a anatomohistopatologia, $n= 47$	29
Gráfico 8: Distribuição das frequências relativas referentes à utilização de kits de diagnóstico	30



ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Frequência relativa das entidades clínicas de dermatologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	8
Tabela 2: Frequência relativa das entidades clínicas de doenças parasitárias e infecto - contagiosas e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	10
Tabela 3: Frequência relativa das entidades clínicas de gastroenterologia e glândulas anexas e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas	12
Tabela 4: Frequência relativa das entidades clínicas do sistema músculo-esquelético e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.	13
Tabela 5: Frequência relativa das entidades clínicas de urologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	14
Tabela 6: Frequência relativa das entidades clínicas de oftalmologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.	15
Tabela 7: Frequência relativa das entidades clínicas de oncologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	16
Tabela 8: Frequência relativa das entidades clínicas de cardiologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	18
Tabela 9: Frequência relativa das entidades clínicas de teriogenologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	18
Tabela 10: Frequência relativa das entidades clínicas de pneumologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	19
Tabela 11: Frequência relativa das entidades clínicas de toxicologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	20
Tabela 12: Frequência relativa das entidades clínicas de endocrinologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	22
Tabela 13: Frequência relativa das entidades clínicas de neurologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.....	22
Tabela 14: Frequência relativa parcial (FRP) das categorias de cirurgia ortopédica, cirurgia geral e de tecidos moles e pequenas cirurgias e outros procedimentos.....	24
Tabela 15: Distribuição das frequências relativas referentes às análises clínicas, $n= 735$	27
Tabela 16: Distribuição das frequências relativas referentes a imagiologia, $n= 197$	29
Tabela 17: Distribuição das frequências relativas a outros meios complementares de diagnóstico, $n=50$	31
Tabela 18: Propriedades anti-hemostática, vasodilatadora e imunomoduladora da saliva de dípteros vectores de leishmaniose.	36
Tabela 19: Distribuição geográfica das espécies de <i>Leishmania</i> responsáveis pela leishmaniose canina, com respectivos hospedeiros e vectores	38
Tabela 20: Estadio clínico da doença baseado em sinais clínicos e laboratoriais de respectivo prognóstico.....	73
Tabela 21: Valores das análises bioquímicas do Di Maria referentes ao dia 05 de	77
Tabela 22: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 05 de Novembro de 2009.....	77
Tabela 23: Valores das análises bioquímicas do Di Maria referentes ao dia 29 de Novembro de 2009.....	78
Tabela 24: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 8 de Janeiro de 2010.	78
Tabela 25: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 12 de Fevereiro	79



Tabela 26: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 9 de Junho de 2010 79

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Gato de rua de 4 meses com lesões alopecicas e pruríticas na zona da cabeça, axilas, cauda e abdómen causadas por <i>Microsporium gypseum</i> (visível no canto superior esquerdo).....	9
Figura 2: Leporídeo com infecção severa por ácaros da espécie <i>Psoroptes cuniculi</i> (canto superior direito da fotografia).	9
Figura 3: Esfregaço sanguíneo de cadela com 9 anos com plaqueta sanguínea exibindo uma mórula de <i>Anaplasma platys</i> . Coloração com Diff-Quick (ampliação de 100x).....	10
Figura 4: Esfregaço fecal de cão com 8 semanas com giardiose. Coloração com Diff-Quick (ampliação de 40x).....	10
Figura 5: Raio-x latero-lateral de cadela com 1 ano e meio, com corpo estranho esofágico.	11
Figura 6: Raio-x latero-lateral de cão com 2 anos com corpo estranho a nível do jejuno.	11
Figura 7: Raio-x com projecção latero-lateral de cão com dois anos com dilatação gástrica.	11
Figura 8: Cadela, Husky, de um ano com pancreatite.....	11
Figura 9: Raio-x ventro-dorsal de cão com fractura do íleo.....	13
Figura 10: Cão com 2 anos, com amputação traumática do membro anterior direito, a nível do 1/3 distal do húmero.....	14
Figura 11: Gato de 2 meses com dispneia devido a hérnia diafragmática.	14
Figura 12: Úlcera profunda secundária em gato com 7 meses.....	15
Figura 13: Prolapso ocular secundário a trauma num cão com 3 anos.	15
Figura 14: Raio-x latero-lateral de cão com 7 anos, apresentando massa com compressão da traqueia.....	17
Figura 15: Cadela com 11 anos com fibrosarcoma mandibular.....	17
Figura 16: Raio-x latero-lateral de cadela para controlo de gestação e estimativa do número de crias.	19
Figura 17: Cadela de um ano com intoxicação por organofosforados.	20
Figura 18 a/b/c: Nicolau: cão com dois anos atropelado por um comboio com (a) amputação parcial do membro anterior direito, seguida de (b) amputação cirúrgica do restante membro. (c) Nicolau após amputação do membro e correcção da fractura de ulna do membro contralateral.	25
Figura 19 a/b/c: a)Farol: cão com 4 anos que apresentava b) uma obstrução intestinal por c) corpo estranho (pedra).....	25
Figura 20: Máquina de raio-x.....	32
Figura 21: Máquina de hemograma	32
Figura 22: Laboratório de análises clínicas.....	32
Figura 23: Consultório de cães.....	32
Figura 24: Mapa da prevalência da leishmaniose canina em Portugal.....	40
Figura 25: Ciclo de vida da <i>Leishmania</i>	41
Figura 26: Botão de inoculação no pavilhão auricular de canídeo com leishmaniose.	48
Figura 27: Alopecia periocular com formação de úlceras em canídeo com leishmaniose.....	48
Figura 28: Despigmentação e úlcera do plano nasal em canídeo com leishmaniose	48
Figura 29: Onicogribose em canídeo com leishmaniose	48
Figura 30: Epistáxis em canídeo com leishmaniose causada por <i>Leishmania infantum</i>	50



Figura 31: Imagem de um macrófago contendo formas amastigotas de <i>Leishmania donovani</i> obtida a partir de punção de baço.....	51
Figura 32: Gráfico com a representação de proteinograma normal (limites máximo a azul escuro e mínimo a azul claro) e proteinograma característico de leishmaniose (a vermelho).....	54
Figura 33: Gráfico do proteinograma referente ao dia 05 de Novembro de 2009.....	77
Figura 34: Gráfico do proteinograma referente ao dia 08 de Janeiro de 2010.....	78
Figura 35: Gráfico do proteinograma do dia 12 de Fevereiro de 2010	79

CIFRAS E SIGLAS

ACTH – hormona adrenocorticotrópica	HIV – vírus da imunodeficiência humana
ALM – <i>Leishmania major</i> autoclavada	IFI – Imunofluorescência indirecta
ALT – Alanina aminotransferase	IFN-γ – Interferão gama
Alum – hidróxido de alumínio	Ig – Imunoglobulina
APC – Célula apresentadora de antígenos	IL – Interleucina
AST – Aspartato aminotransferase	IRA – Insuficiência renal aguda
BCG – Bacilo de Calmette-Guérin	IRC – insuficiência renal crónica
BID – Duas vezes ao dia	LACK – Proteína C Kinase activada
CD – células dendríticas	Leishmaniose
DAPP – dermatite alérgica à picada da pulga	LB - <i>Leishmania braziliensis</i>
DNA – Ácido desoxiribonucleico	LiESAp – Antígenos excretados-secretados de <i>Leishmania infantum</i>
ELISA – Ensaio de imunoadsorção enzimático (<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>)	LPG – Lipofosfoglicano
EUA – Estados Unidos da América	MAC – Complexo de ataque membranário
FAS – Fosfatase alcalina sérica	MHC II – Complexo maior de histocompatibilidade classe II
FeLV – Vírus da leucemia felina	MP – Matriz peritrófica
FIV – Vírus da imunodeficiência felina	MVA - vírus da vacínia modificado
FML – Ligando fucose-manose	NK – <i>Natural killer</i>
FR – Frequência relativa	NO – óxido nítrico
FRP – Frequência relativa parcial	ONLEISH – Observatório nacional de leishmaniose
GGT – Gama glutamiltransferase	OMS – Organização Mundial de Saúde
GIPL – Glicoinositolfosfolípido	PAAF – Punção aspirativa por agulha fina
gp63 – Glicoproteína de superfície 63	PCR – Reacção em cadeia de polimerase
GPI – Glicofosfatidinositol	RNA – Ácido ribonucleico
H1 – Histona 1	RT-PCR – Reacção em cadeia de polimerase em tempo real
H₂O₂ – Peroxido de Hidrogénio	
HASPB1 proteína hidrofílica de superfície B1	



rVV – Vírus da Vacínia recombinante

Sap - saponina

SID – Uma vez ao dia

T3 – Triiodotironina

T4 – Tiroxina

TGF- β – Factor transformador de crescimento beta

Th1 – Linfócitos T helper 1

Th2 – Linfócitos T helper 2

TNF- α – Factor de necrose tumoral alfa

Treg - Linfócito T regulador

TSH – Hormona tireo-estimulante

TSA – Testes de sensibilidade a antibióticos

TRYP - triparedoxina peroxidase

EU – União Europeia

UI – Unidades internacionais

UPC – Ratio proteína:creatinina urinária



I. INTRODUÇÃO

O presente relatório é referente ao estágio curricular, de domínio fundamental, necessário para a conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora.

O estágio teve a duração de quatro meses e meio, correspondente ao período de 14 de Setembro de 2009 a 31 de Janeiro de 2010, abrangendo a área de Medicina Interna e Cirurgia de Animais de Companhia, tendo sido realizado no Inemvet Hospital Veterinário em Olhão sob a orientação da Dra. Sandra Carmo.

O objectivo deste estágio era o contacto com a actividade profissional de forma a ganhar conhecimento teórico e competências práticas na área de Medicina Interna e Cirurgia de Animais de Companhia.

Este relatório descreve as actividades desenvolvidas durante o estágio e é constituído por duas partes distintas: a primeira trata detalhadamente a estatística dos casos observados durante o período de estágio; a segunda constitui uma monografia dedicada ao tema Leishmaniose Canina.



II. DESCRIÇÃO DO LOCAL E ACTIVIDADES DO ESTÁGIO

O Inemvet Hospital Veterinário dispõe de dois consultórios (um mais focado para a medicina felina e o outro para a medicina canina), um laboratório equipado para a realização de hemograma, leucograma e análises bioquímicas e citológicas, uma sala de preparação cirúrgica, uma sala de cirurgia, uma sala de radiologia, uma área destinada à traumatologia e dois internamentos: o de Infecto-contagiosos e o de Cirurgia/Medicina Interna.

Como estagiária, desde o início fui integrada no funcionamento normal do hospital, acompanhando os clínicos durante as consultas e ajudando na realização e interpretação de exames complementares na área clínica.

Na cirurgia foi-me possível acompanhar os animais desde a sua recepção até à entrega aos proprietários, auxiliando em todo o processo de preparação cirúrgica, participando na cirurgia como anestesista ou ajudante, e realizando a monitorização pós-cirúrgica do animal. Com o tempo e a evolução comecei a ser incentivada a assumir o papel de cirurgião principal em algumas cirurgias mais simples e a realizar consultas gerais (sempre com o acompanhamento e supervisão do Médico Veterinário responsável).

III. TRATAMENTO ESTATÍSTICO DOS CASOS

Para uma melhor organização e compreensão, o tratamento estatístico das actividades desenvolvidas durante o período de estágio está dividido em 3 áreas: medicina preventiva, patologia médica e patologia cirúrgica.

Deve-se ainda ter em conta que o número de casos aqui exposto não é o número real de casos que foram vistos no hospital, uma vez que o horário foi elaborado por turnos e não foi possível acompanhar todos os casos, assim como era impossível assistir a todas as consultas dentro do mesmo turno.

As frequências relativas (FR) apresentadas nas tabelas estão apresentadas em percentagem e foram calculadas de acordo com a fórmula:

$$FR = \frac{\text{Número de ocorrências}}{\text{Número total de ocorrências (n)}} \times 100$$

O gráfico 1 revela a patologia clínica como a área predominante no Hospital mas, ainda assim, observa-se o grande peso que a medicina preventiva tem na casuística final.

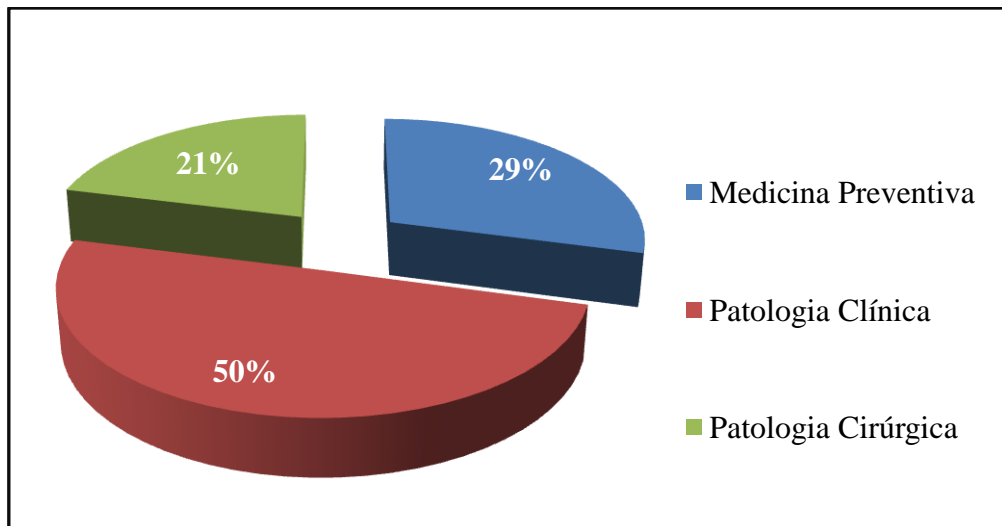


Gráfico 1 : Distribuição percentual das áreas clínicas observadas, $n=830$.

2. MEDICINA PREVENTIVA

Dentro desta área incluem-se várias acções como a vacinação, a desparasitação (externa e interna), a identificação electrónica, a emissão de passaporte animal e a profilaxia da Dirofilariose.

No entanto, foram também incluídos outros procedimentos, como *check up* renal e hepático, mesmo não constituindo estas verdadeiras medidas profiláticas. O *check up* renal consiste na avaliação da função renal através da realização de uma análise sanguínea com hemograma e hematócrito, e de análises bioquímicas incluindo o doseamento da ureia, da creatinina, do fósforo, das proteínas totais, da albumina e da globulina.

Os procedimentos de *check up* geriátrico permitem uma avaliação do estado do animal mais completa, incluindo electrocardiograma, hemograma e avaliação bioquímica, incluindo os parâmetros do *check up* renal mais a avaliação da alanina aminotransferase (ALT), da aspartato aminotransferase (AST), da gama- glutamiltransferase (GGT), da fosfatase alcalina sérica (FAS) e da glucose.

Como se pode observar nos gráficos 2 e 3, tanto nos felídeos como nos canídeos, o acto médico com maior expressão é a vacinação, apresentando taxas de 72 e 56%, respectivamente.

As desparasitações internas não estão aqui contabilizadas, mas todos os animais que se apresentam para vacina sem o protocolo em dia são desparasitados no acto da consulta.

A desparasitação externa pode ou não ser realizada no acto da consulta, mas é feito sempre um aconselhamento quanto aos produtos a utilizar.

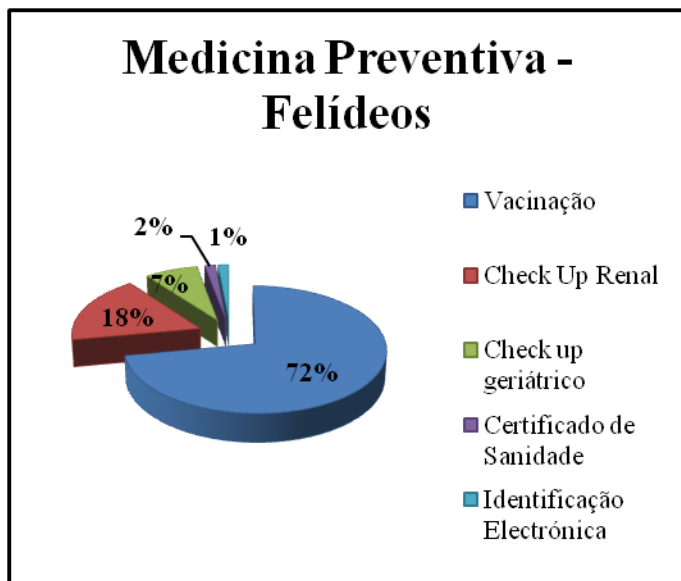


Gráfico 2: Frequência relativa das actividades de medicina preventiva desenvolvidas em gatos, $n=58$.

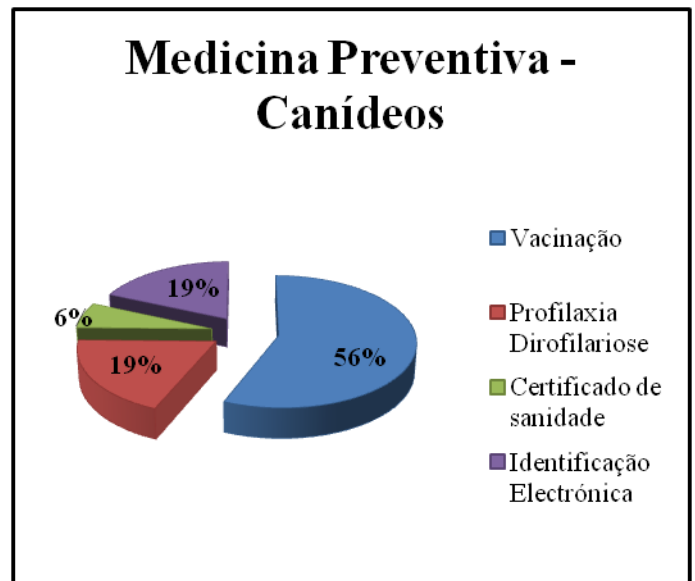


Gráfico 3: Frequência relativa das actividades de medicina preventiva desenvolvidas em cães, $n=180$.

2.1. Protocolo de desparasitação de canídeos

A desparasitação de canídeos rege-se pelas indicações do *Companion Animal Parasite Council™* (CAPC, 2009).

- ❖ Desparasitação das crias a cada 15 dias até ao desmame, logo após o desmame e um mês após desmame, mediante a administração de uma suspensão oral eficaz contra nemátodes contendo febantel e embonato de pirantel, na dose de 1 ml/kg (Drontal® Puppy suspensão oral) ou, quando tem a idade e peso indicados, mediante a administração de comprimidos de milbemicina e praziquantel eficazes contra nemátodes e céstodes (Milbemax®).
- ❖ Desparasitação interna dos adultos a cada 3 meses através da administração de comprimidos constituídos por febantel, embonato de pirantel e praziquantel (Drontal® Plus palatável ou Drontal® Plus XL para raças grandes e gigantes).
- ❖ A desparasitação externa recomendada nos adultos incide essencialmente sobre produtos com acção sobre ixodídeos, pulicídeos, culicídeos e flebótomos. As soluções *spot on* mais utilizadas têm aplicação mensal e são constituídas por

imidaclopride e permetrina (Advantix[®]). Dentro do mercado das coleiras as impregnadas de deltametrina (Scalibor[®]) foram as mais recomendadas.

Para a desparasitação externa em cachorros muito jovens recomendam-se soluções *spot on* contendo permetrina (PulvEX[®] Spot), para cachorros a partir das 2 semanas de idade.

2.2. Protocolo de desparasitação de felídeos

A desparasitação de felídeos também segue as indicações do *Companion Animal Parasite Council*TM (CAPC, 2009).

- ❖ Desparasitação interna no acto da primeira consulta (às 6-8 semanas de idade) com uma combinação de milbemicina e praziquantel (Milbemax[®] gatos pequenos) contra cestodes e nemátodes. Repetir esta administração a cada 15 dias até aos 3 meses.
- ❖ Desparasitação interna dos adultos contra cestodes e nemátodes com uma combinação de praziquantel e embonato de pirantel (Drontal[®] gatos) ou com uma solução *spot on* contendo emodepside e praziquantel (Profender[®] Solução tópica). À semelhança dos canídeos adultos, deve ser repetida em intervalos de 3 meses.
- ❖ A desparasitação externa mais recomendada é a aplicação mensal de uma solução de imidaclopride (Advantage[®]).

2.3. Protocolo de vacinação de canídeos:

A escolha da vacina a ministrar depende da idade do animal e das vacinas administradas anteriormente. Os seguintes protocolos encontram-se de acordo com o *Vaccination guidelines Group* (Day *et al*, 2010):

- ❖ Geralmente, os cachorros apresentam-se à consulta para a primeira vacina por volta das 6 semanas de idade, optando-se por uma suspensão bivalente: imunização para os vírus da esgana e da parvovirose. Regressam, então, às 8 semanas para vacinação hexavalente: imunização para adenovirose tipos I e II, parvovirose, esgana, parainfluenza, leptospirose e coronavirose.

Por vezes os proprietários optam por iniciar a vacinação mais tarde, pelo que quando se apresentam com o cachorro após as 8 semanas de idade a opção passa logo para vacina hexavalente;

- ❖ O reforço vacinal é feito um mês mais tarde com a mesma vacina aplicada às 8 semanas.
- ❖ A última vacinação é feita um mês após o último reforço e confere imunização contra o vírus da raiva. Este passo é realizado em simultâneo com a identificação electrónica, ficando o animal apto para ser registado na junta de freguesia.
- ❖ Por último, o animal tem de fazer um reforço anual. Este reforço é alternado entre uma imunização completa hexavalente ou apenas contra as valências que possuem um período de imunização mais curto (de um ano): imunização para parainfluenza e leptospirose.
Qualquer uma das opções tem de ser completada com a vacina da raiva.

2.4. Protocolo de vacinação de felídeos:

O protocolo vacinal de felídeos adoptado pelo Inemvet tem início às 6-8 semanas de idade da seguinte forma (Day *et al*, 2010):

- ❖ Imunização para *Chlamydomphila*, herpesvírus, calicivírus e vírus da panleucopénia;
- ❖ Reforço 3-4 semanas depois e início da imunização para vírus da imunodeficiência felina (FeLV) se for um “*outdoor*”, caso contrário não necessita desta vacina;
- ❖ Passadas outras 3-4 semanas novo reforço da vacina tetravalente e FeLV;
- ❖ Reforço anual com a mesma vacina.

É de referir ainda que a profilaxia para a dirofilariose aqui representada refere-se a injeções de moxidectina (Guardian® SR) e/ou a casos em que o animal vai iniciar um protocolo de prevenção e é necessário fazer um teste de rastreio. A suspensão deve ser administrada na dose de 0,05 ml de solução final por kg de peso vivo, a cada 6 meses.

Para a prevenção da dirofilariose, o mais recomendado é a administração mensal de um comprimido de ivermectina com pamoato de pirantel (Heartgard® plus). Esta forma de prevenção não está contabilizada na casuística porque, por regra, não é realizada pelo médico veterinário.

3. PATOLOGIA MÉDICA

Dentro desta área, o tratamento estatístico dos casos observados está dividido consoante a especialidade em que estes se inserem: dermatologia, endocrinologia, urologia, oftalmologia, cardiologia, sistema digestivo, sistema músculo-esquelético, neurologia, oncologia, teriogenologia, doenças parasitárias e infecto-contagiosas, toxicologia e pneumologia. Como se pode observar pelo gráfico 4, a área com maior expressão é a dermatologia (20%), seguida do sistema digestivo (15%) e das doenças infecciosas (15%).

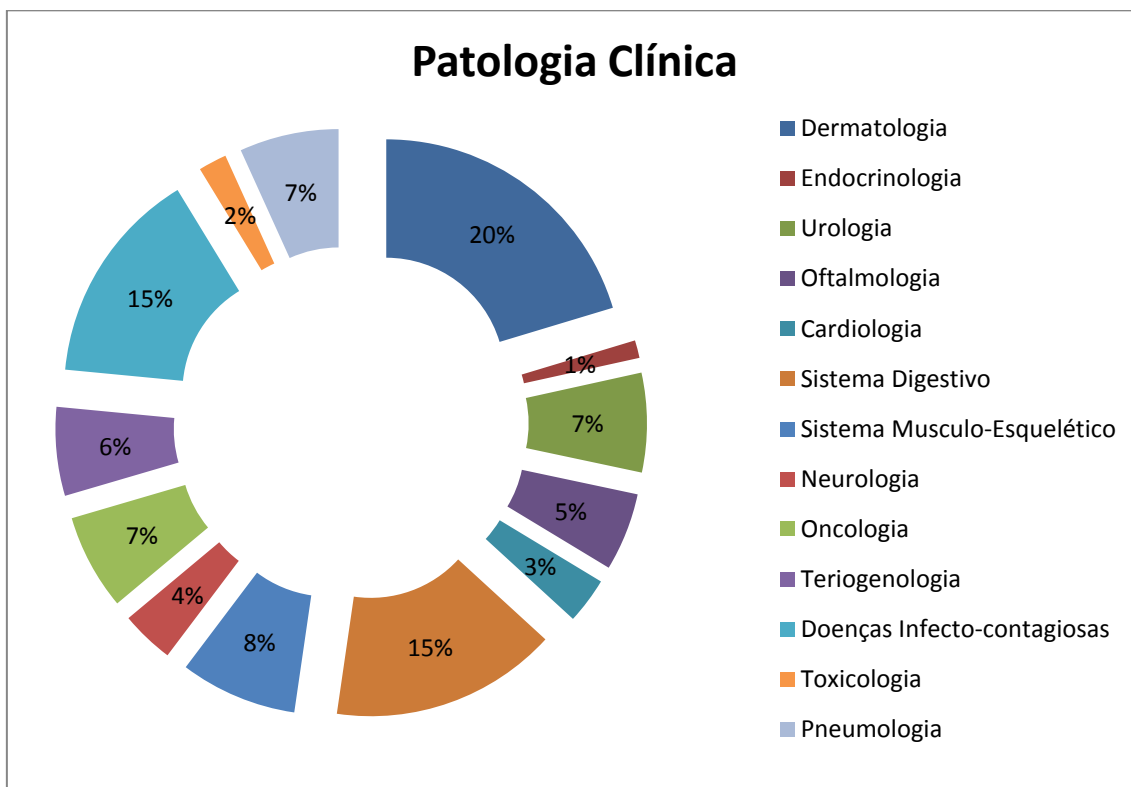


Gráfico 4: Gráfico representativo da frequência relativa de cada área da Patologia Clínica, $n=413$.

3.1. Dermatologia

A pele representa o maior órgão do organismo. Não só constitui uma importante barreira física a agentes externos como também desempenha uma série de funções essenciais, como as de termoregulação e de percepção sensorial.

Existem vários factores que podem levar à alteração da estrutura normal da pele, gerando uma grande variedade de sinais clínicos distintos. Quadros dermatológicos semelhantes podem ser causados por patologias de origem distinta (parasitária, infecciosa, endócrina, alérgica, neoplásica, etc.) A utilização de meios complementares de diagnóstico como o tricograma, raspagem cutânea, cultivo fúngico, análise citológica

de punção aspirativa por agulha fina (PAAF), teste da fita-cola, biopsia e screening (teste realizado que consiste na mensuração de imunoglobulinas séricas específicas), torna-se essencial para determinar a origem das lesões.

A tabela 1 representa os casos observados durante o período de estágio.

Tabela 1: Frequência relativa das entidades clínicas de dermatologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.					
Entidade Clínica	Tipo	FR (%)	FRP (%)		
			Canídeo	Felídeo	Exótico
Dermatofitose		6,3	80,0	20,0	0,0
Hipersensibilidade alimentar	Hipersensibilidade alimentar	6,3	80,0	20,0	0,0
	Atopia	5,1	100,0	0,0	0,0
	Angioedema da face	3,8	100,0	0,0	0,0
Sarna	Demodécica	2,5	100,0	0,0	0,0
	Sarcóptica	1,3	100,0	0,0	0,0
Impactamento dos sacos anais		7,6	100,0	0,0	0,0
Abcesso		3,8	66,7	33,3	0,0
Fleimão		1,3	100,0	0,0	0,0
Dermatite	Piodermatite	2,5	100,0	0,0	0,0
	Acral por lambedura	2,5	100,0	0,0	0,0
	DAPP	6,3	100,0	0,0	0,0
	Contacto	1,3	100,0	0,0	0,0
	Pododermatite interdigital	1,3	100,0	0,0	0,0
	Aguda húmida ("hot-spot")	5,1	100,0	0,0	0,0
Higroma		1,3	100,0	0,0	0,0
Complexo Granuloma Eosinofílico		1,3	0,0	100,0	0,0
Otohematoma		3,8	100,0	0,0	0,0
Otite Externa	<i>Malassezia</i>	12,7	100,0	0,0	0,0
	Mista	1,3	100,0	0,0	0,0
	Corpo Estranho	3,8	100,0	0,0	0,0
	<i>Otodectes cynotis</i>	8,9	14,3	57,1	28,6
Otite Média	Bacteriana	1,3	100,0	0,0	0,0
Hematoma		7,6	66,7	33,3	0,0
Seborreia idiopática do Cocker		1,3	100,0	0,0	0,0

É de ter em conta que existem algumas situações em que o paciente se apresentou à consulta com queixas de lesão dermatológica, mas que revelaram ser secundárias a patologias que foram incluídas na estatística de outras áreas clínicas, como é o caso de sinais dermatológicos de hiperadrenocorticismo e de leishmaniose. Como se pode

observar, foram vários os casos que se apresentaram à consulta com sinais clínicos de otite (25,2%), sendo a maioria causada por leveduras (12,0%).

As reacções de hipersensibilidade também tiveram grande representatividade, principalmente as de origem alimentar. Trata-se de uma reacção imunomediada a componentes específicos da dieta ou a aditivos alimentares (Medleau e Hnilica, 2001). Os alimentos mais passíveis de produzir este género de reacção são o leite, ovos, as proteínas animais de porco e galinha, e as vegetais provenientes do trigo, milho e soja (Bischoff e Crowe, 2005).

As figuras 1 e 2 representam, respectivamente, um gato acolhido da rua que apresentava lesões de dermatofitose por *Microsporum gypseum* e um leporídeo que se apresentava com uma infecção severa por *Psoroptes cuniculi*.

3.2. Doenças Parasitárias e Infecto-Contagiosas



Figura 1: Gato de rua de 4 meses com lesões alopecias e pruríticas na zona da cabeça, axilas, cauda e abdómen causadas por *Microsporum gypseum* (visível no canto superior esquerdo).



Figura 2: Leporídeo com infecção severa por ácaros da espécie *Psoroptes cuniculi* (canto superior direito da fotografia).

Dentro desta área clínica, as doenças com mais representatividade foram a parvovirose e a leishmaniose no caso dos canídeos (23 e 11,5%, respectivamente), e a imunodeficiência e leucemia felina (21,3 e 19,7%, respectivamente).

A elevada incidência de casos de vírus da imunodeficiência (FIV) e da leucemia felina em pacientes do hospital poderá estar directamente relacionada com a elevada população de gatos vadios que existe em Olhão, aumentando a probabilidade de

contacto com animais infectados. Para além disso, são também vários os animais que apresentam prova positiva para ambos os vírus.

É ainda de salientar o elevado número de doenças transmitidas por ixodídeos que, quando somadas, apresentam uma percentagem de 11,4. A figura 3 representa um esfregaço sanguíneo obtido a partir de um animal com uma infecção por *Anaplasma platys*.

Tabela 2: Frequência relativa das entidades clínicas de doenças parasitárias e infecto-contagiosas e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.

Entidade Clínica	Tipo	FR (%)	FRP (%)	
			Canídeos	Felídeos
FIV		21,3	0,0	100,0
FeLV		19,7	0,0	100,0
Coriza felino		6,6	0,0	100,0
Panleucopénia		1,6	0,0	100,0
Parvovirose		23,0	100,0	0,0
Botulismo		3,3	100,0	0,0
Giardiose (Figura 4)		1,6	100,0	0,0
Leishmaniose		11,5	100,0	0,0
Doenças transmitidas por ixodídeos	<i>Rickettsia conorii</i>	1,6	100,0	0,0
	<i>Anaplasma platys</i>	3,3	100,0	0,0
	<i>Ehrlichia canis</i>	4,9	100,0	0,0
	<i>Babesia canis</i>	1,6	100,0	0,0

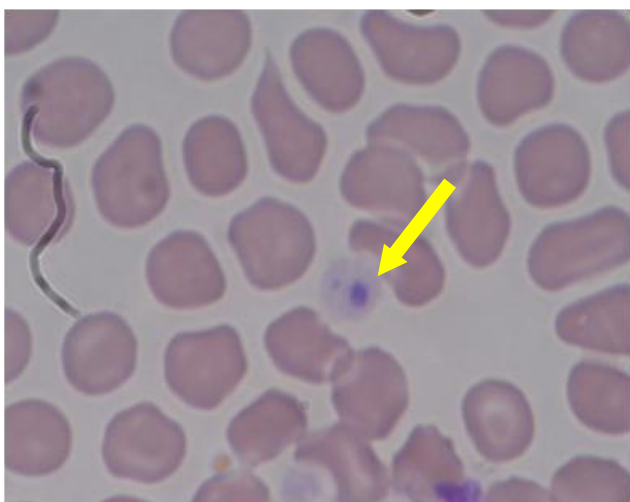


Figura 3: Esfregaço sanguíneo de cadela com 9 anos com plaqueta sanguínea exibindo uma mórula de *Anaplasma platys*. Coloração com Diff-Quick (ampliação de 100x).

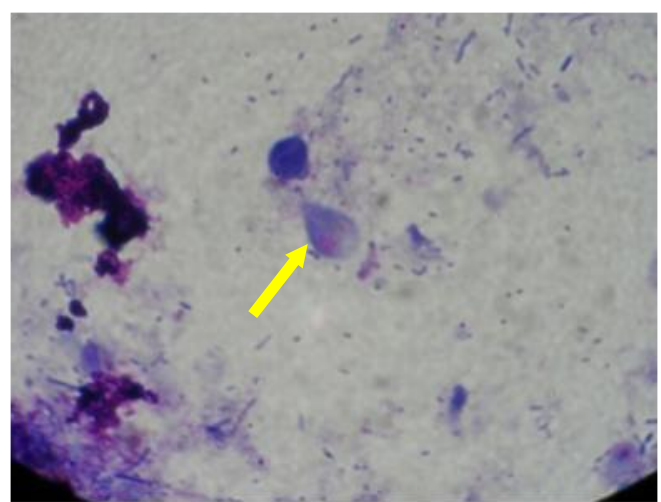


Figura 4: Esfregaço fecal de cão com 8 semanas com giardiose. Coloração com Diff-Quick (ampliação de 40x).

3.3. Aparelho Digestivo

Como se pode confirmar na tabela 3, a entidade clínica associada à boca mais diagnosticada foi a doença periodontal, sendo mesmo a patologia mais frequente em cães. No caso dos gatos, a estomatite crónica foi o principal motivo de consulta, sendo 66,7% dos casos de estomatite crónica positivos a FIV e/ou FeLV.

Quanto ao sistema gastrointestinal, a maioria dos casos observados resulta de erros alimentares, que originaram várias situações de fecaloma (14,3%) e de gastroenterite (17,2%). A maioria dos casos ocorreu por erros de maneio dos proprietários, revelando um grande desconhecimento relativamente à dieta adequada aos seus animais de estimação, ou ignorando os avisos dos médicos veterinários. É preciso referir, para uma melhor compreensão deste elevado número na casuística, que a área de clientes abrangida pelo Inemvet engloba algumas classes socioeconómicas que mantêm a mentalidade de que os cães podem e devem comer todo o tipo de alimento, o que associado à fraca selectividade por parte destes animais leva ao aparecimento destas patologias.

Como consequência desta fraca selectividade e alimentação errada observaram-se, ainda, casos de obstrução, tanto a nível esofágico (Figura 5) como a nível intestinal (Figura 6).



Figura 5: Raio-x latero-lateral de cadela com 1 ano e meio, com corpo estranho esofágico.

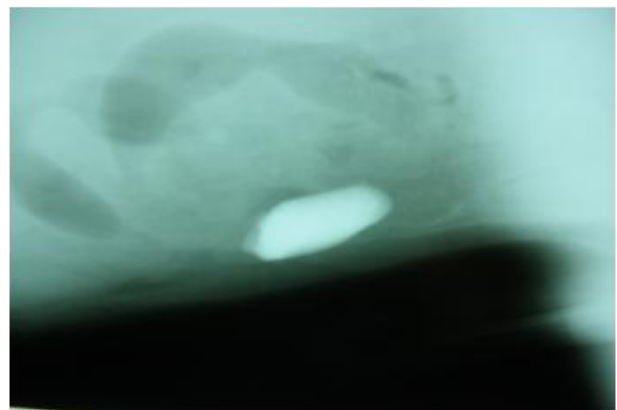


Figura 6: Raio-x latero-lateral de cão com 2 anos com corpo estranho a nível do jejuno.



Figura 7: Raio-x com projecção latero-lateral de cão com dois anos com dilatação gástrica.



Figura 8: Cadela, Husky, de um ano com pancreatite.

Tabela 3: Frequência relativa das entidades clínicas de gastroenterologia e glândulas anexas e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas

Entidade Clínica	Origem	FR(%)	FRP (%)	
			Canídeos	Felídeos
Abcesso periapical		5,7	50,0	50,0
Estomatite crónica		17,1	0,0	100,0
Doença periodontal		31,4	54,5	45,5
Fenda palatina congénita		2,9	0,0	100,0
Gastrite	Indiscrição alimentar	2,9	100,0	0,0
	Corpo Estranho	2,9	100,0	0,0
	Inespecífica	8,6	66,7	33,3
Gastroenterite	Indiscrição alimentar	11,4	75,0	25,0
	Hemorrágica	2,9	100,0	0,0
	Inespecífica	2,9	100,0	0,0
Enterite	Alimentar	2,9	100,0	0,0
	Parasitária	14,3	20,0	80,0
	Corpo Estranho	2,9	100,0	0,0
	Inespecífica	5,7	0,0	100,0
Colite		8,6	100,0	0,0
Fecaloma		14,3	100,0	0,0
Megacólon idiopático		2,9	100,0	0,0
Invaginação de intestino delgado		2,9	0,0	100,0
Obstrução Esofágica		2,9	100,0	0,0
Doença inflamatória intestinal		2,9	100,0	0,0
Síndrome de dilatação/volvo gástrico (Figura 7)		2,9	100,0	0,0
Hepatopatia por esteróides		5,7	100,0	0,0
Insuficiência hepática		20,0	57,1	42,9
Pancreatite Aguda (Figura 8)		5,7	100,0	0,0

3.4. Sistema Músculo-Esquelético

Como se pode observar pelos dados apresentados na tabela 4, houve uma grande predominância de fracturas nesta área, grande parte devido a atropelamentos, quedas ou lutas entre animais. As figuras 9 e 10 representam, respectivamente, uma fractura de íleo que ocorreu na sequência de uma luta entre dois cães e uma amputação traumática do membro anterior de um cão, consequência de um atropelamento.

As fracturas de rádio e ulna e de tibia e fíbula estiveram sempre associadas, respectivamente, pelo que os valores são sempre iguais entre si.

Tabela 4: Frequência relativa (FR) das entidades clínicas do sistema músculo-esquelético e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.

Entidade Clínica	Localização	FR (%)	FRP (%)		
			Canídeo	Felídeo	
Fractura	Membro torácico	Rádio	5,0	100,0	0,0
		Ulna	5,0	100,0	0,0
	Membro pélvico	Tíbia	5,0	0,0	100,0
		Fíbula	5,0	0,0	100,0
		Fémur	5,0	100,0	0,0
	Cintura Pélvica	Púbis	5,0	50,0	50,0
		Íleo	2,5	0,0	100,0
		Acetábulo	5,0	100,0	0,0
	Parede Costal	Costelas	2,5	0,0	100,0
	Crânio	Sínfise mandibular	5,0	50,0	50,0
		Ramo da mandíbula	2,5	0,0	100,0
		Maxilar	2,5	0,0	100,0
		Zigomático	2,5	0,0	100,0
		Luxação	Coxo-femural	2,5	100,0
Rótula			5,0	100	0
Sacro-ilíaca	2,5		100,0	0,0	
Displasia	Coxo-femural	12,5	20,0	0,0	
Ruptura Ligamento	Cruzado cranial	2,5	100,0	0,0	
Osteomielite	Articulação cotovelo	2,5	100,0	0,0	
Hérnia	Diafragmática (Figura 11)	2,5	0,0	100,0	
	Inguinal	7,5	100,0	0,0	
	Umbilical	10,0	25,0	0,0	
Poliartrite		2,5	100,0	0,0	



Figura 9: Raio-x ventro-dorsal de cão com fractura do íleo.



Figura 10: Cão com 2 anos, com amputação traumática do membro anterior direito, a nível do 1/3 distal do húmero.



Figura 11: Gato de 2 meses com dispnéia devido a hérnia diafragmática. (Fotografia cedida por Sara Ferreira)

3.5. Urologia

Tabela 5: Frequência relativa das entidades clínicas de urologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.

Entidade Clínica	Origem	FR	FRP (%)	
			Canídeos	Felídeos
Insuficiência Renal Aguda (IRA)	Insuficiência cardíaca	10,7	100,0	0,0
	Indeterminada	3,6	100,0	0,0
Insuficiência Renal Crónica (IRC)	Leishmaniose	3,6	100,0	0,0
	Indeterminada	10,7	33,3	66,7
Urolitíase		10,7	50,0	50,0
Infecção do tracto urinário inferior		3,6	0,0	100,0
Infecção do tracto urinário superior		3,6	0,0	100,0
Obstrução urinária		25,0	28,6	71,4
Rim poliquístico		3,6	0,0	100,0
Síndrome Urológica Felino		21,4	0,0	100,0
Laceração renal		3,6	0,0	100,0

Ao examinar a tabela 5 verifica-se que a maior fatia das patologias do sistema renal esteve associada a gatos, sendo o diagnóstico mais frequente o síndrome urológica felino (21,4%). Trata-se da designação que se dá ao conjunto de sinais clínicos que indica alteração do tracto urinário inferior, que ocorre frequentemente em gatos, independentemente da sua etiologia. São várias as causas que podem originar o aparecimento deste síndrome, sendo os sinais mais comuns a periúria, polaquíúria, disúria, hematória, estrangúria, cristalúria e obstrução da uretra.

No caso dos cães, as patologias renais mais frequentemente diagnosticadas foram as insuficiências renais aguda e crónica.

3.6. Oftalmologia

Uma anamnese bem estruturada acompanhada de uma boa caracterização dos sinais clínicos e de um exame oftálmico, são, muitas vezes, as ferramentas necessárias para estabelecer o diagnóstico de uma patologia oftálmica (Peiffer e Petersen-Jones, 2001). Segundo a tabela 6, as patologias oftálmicas mais frequentemente assistidas, tanto em cães como em gatos, foram as úlceras da córnea (maioritariamente traumáticas) e as conjuntivites (alérgicas no caso dos cães e infecciosa no caso dos gatos).

Tabela 6: Frequência relativa (FR) das entidades clínicas de oftalmologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.			
Entidade Clínica	FR (%)	FRP (%)	
		Canídeos	Felídeos
Úlcera da córnea (Figura 12)	35,0	57,1	42,9
Conjuntivite	25,0	60,0	40,0
Descemetocelo	5,0	100,0	0,0
Entropion	10,0	50,0	50,0
Prolapso ocular (Figura 13)	5,0	100,0	0,0
Prolapso glândula da 3ª pálpebra	5,0	100,0	0,0
Queratite superficial crónica	10,0	100,0	0,0
Agenesia ocular	5,0	0,0	100,0
Distriquiase	5,0	0,0	100,0
Sequestro corneal	5,0	0,0	100,0

3.7. Oncologia

São cada vez mais os casos de pacientes que se apresentam à consulta por motivos oncológicos, sendo a neoplasia mamária maligna o diagnóstico mais frequente em



Figura 12: Úlcera profunda secundária em gato com 7 meses.



Figura 13: Prolapso ocular secundário a trauma num cão com 3 anos.

cadelas (Rutteman *et al.*, 2001).

Nem todos os tumores apresentados na tabela 7 têm diagnóstico definitivo, uma vez que nem todos os proprietários estiveram dispostos a fazer a análise histopatológica, pelo que foram apresentados consoante a localização. A neoplasia da glândula mamária foi a mais observada, tendo 66,7% já metastizado para o pulmão.

A neoplasia designada como peri-traqueal pode não estar associada à traqueia propriamente dita, mas aos tecidos envolventes, provocando dispneia por compressão da traqueia (figura 14).

Tabela 7: Frequência relativa das entidades clínicas de oncologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas.

Entidade Clínica	Localização	FR (%)	FRP (%)	
			Canídeos	Felídeos
Schwanoma		3,2	100,0	0,0
Hemangiosarcoma esplénico		6,5	100,0	0,0
Linfoma		3,2	0,0	100,0
Carcinoma das células escamosas		3,2	0,0	100,0
Leiomioma (cérnix)		3,2	100,0	0,0
Epulis		3,2	100,0	0,0
Fribrosarcoma (Figura 15)		9,7	66,7	33,3
Neoplasia	Glândula mamária	25,8	75,0	0,0
	Peri-traqueal	3,2	100,0	0,0
	Mediastino	3,2	100,0	0,0
	Base do coração	3,2	0,0	100,0
	Fígado	12,9	100,0	0,0
	Cólon	3,2	100,0	0,0
	Pulmão	19,4	83,3	16,7
	Pénis	3,2	100,0	0,0



Figura 14: Raio-x latero-lateral de cão com 7 anos, apresentando massa com compressão da traquéia

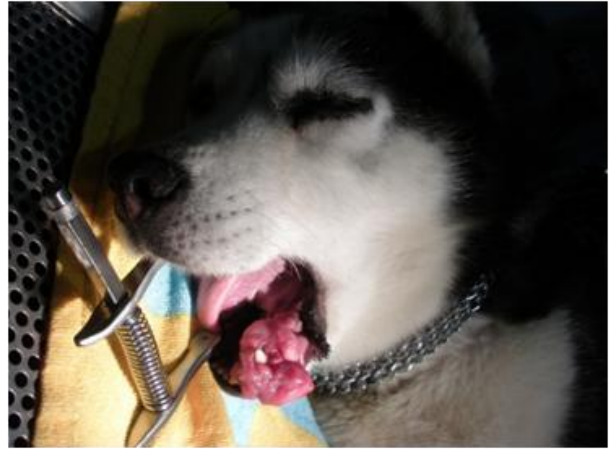


Figura 15: Cadelas com 11 anos com fibrosarcoma mandibular

3.8. Cardiologia

Não houve grande diversidade nas entidades clínicas de cardiologia identificadas, mesmo sabendo que dentro da insuficiência valvular ainda podemos encontrar algumas subentidades. Para além disso, como se pode observar, os animais afectados foram sempre cães.

Na tabela 8 estão representadas as entidades clínicas de cardiologia observadas durante o período de estágio. A patologia mais frequente foi a dirofilariose, que foi incluída nesta área pelas alterações graves a nível do coração que provoca, seguida das insuficiências valvulares (tendo sido 66.7% associadas à válvula mitral e 33,3% à válvula aorta), e das insuficiências cardíacas congestivas.

A dirofilariose é uma doença provocada pelo parasita *Dirofilaria immitis*, transmitida através de mosquitos dos géneros *Culex*, *Aedes* e *Anopheles* que, ao alimentarem-se do sangue dos hospedeiros, vão depositar as formas infectantes (Mehlhorn, 2008a). Uma vez na circulação sanguínea, migram até às artérias pulmonares, onde a sua acção mecânica vai levar ao desenvolvimento de lesões proliferativas no endotélio, que podem ocluir o lúmen das artérias, levando a hipertensão pulmonar. Esta hipertensão vai provocar dilatação e hipertrofia cardíaca direita compensatória. Para além disso, é frequente que parte dos parasitas se desloque até ao átrio e ventrículo direitos, levando a insuficiência das válvulas tricúspide e pulmonar (Atkins 2005; Venco, 2007).

Houve ainda alguns casos suspeitos, mas o diagnóstico não pôde ser feito, uma vez que não nos foi permitido realizar os exames complementares necessários por falta de

autorização dos proprietários. No entanto os sinais clínicos e a história clínica eram bastante sugestivos de patologia cardíaca

Tabela 8: Frequência relativa das entidades clínicas de cardiologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.

Entidade Clínica	FR (%)	FRP (%)	
		Canídeos	Felídeos
Insuficiência cardíaca dilatada	15,4	100,0	0,0
Insuficiência valvular	23,1	100,0	0,0
Insuficiência cardíaca congestiva	23,1	100,0	0,0
Dirofilariose	38,5	100,0	0,0

3.9. Teriogenologia

A tabela que se segue descreve os casos referentes a andrologia, ginecologia e obstetrícia observados durante o estágio.

Como se pode constatar pela tabela 9, a piómetra foi a patologia mais vezes diagnosticada em fêmeas (20%), seguida da pseudogestação (12%). Já no caso da andrologia, verificou-se uma predominância de casos associados à próstata, relativamente a outros órgãos do sistema reprodutor masculino.

Tabela 9: Frequência relativa das entidades clínicas de teriogenologia e frequência relativa parcial (FRP) das espécies observadas

Entidade Clínica	FR(%)	FRP (%)		
		Canídeo	Felídeo	
Andrologia	Prostatite	4,0	100,0	0,0
	Quisto/Abcesso Prostático	8,0	100,0	0,0
	Hiperplasia Benigna Prostática	4,0	100,0	0,0
	Neoplasia Pénis	4,0	100,0	0,0
	Criptorquidismo	8,0	100,0	0,0
	Trauma Prepúcio	4,0	100,0	0,0
	Ruptura Traumática de escroto com exteriorização testicular	4,0	0,0	100,0
Ginecologia e Obstetrícia	Piómetra	20,0	80,0	20,0
	Distócia	4,0	100,0	0,0
	Pseudogestação	12,0	100,0	0,0
	Vaginite	4,0	100,0	0,0
	Hiperplasia quística endométrio	8,0	0,0	100,0
	Leiomioma Cérvix	4,0	100,0	0,0
Controlo de Gestação (Figura 16)	12,0	100,0	0,0	



Figura 16: Raio-x latero-lateral de cadela para controlo de gestação e estimativa do número de crias.

3.10. Pneumologia

Segundo a tabela 10, as duas entidades clínicas que mais sobressaíram nesta área foram a neoplasia e edema pulmonar (ambos com 21,4%),

Tabela 10: Frequência relativa das entidades clínicas de pneumologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.

Entidade Clínica	Tipo	FR (%)	FRP (%)		
			Canídeo	Felídeo	Exótico
Bronquite		7,1	100,0	0,0	0,0
Traqueíte	Infecciosa	3,6	0,0	0,0	0,0
	Indeterminada	7,1	0,0	100,0	0,0
Traqueobronquite		7,1	50,0	0,0	50,0
Edema pulmonar		21,4	83,3	16,7	0,0
Hemotórax		10,7	66,7	33,3	0,0
Efusão pleural		7,1	50,0	50,0	0,0
Colapso da traqueia		3,6	100,0	0,0	0,0
Neoplasia pulmonar		21,4	83,3	16,7	0,0
Síndrome respiratório dos braquicéfalos		7,1	100,0	0,0	0,0
Enfisema subcutâneo		3,6	0,0	100,0	0,0

Os casos de hemotórax e efusão pleural aqui representados foram resultado de trauma por atropelamento, queda e/ou luta, ao passo que o edema pulmonar foi, essencialmente, de origem cardiogénica.

Quanto ao síndrome respiratório dos braquicéfalos, as alterações presentes eram a estenose das narinas e o prolongamento do palato mole.

3.11. Toxicologia

As intoxicações tiveram uma distribuição equilibrada relativamente às espécies observadas. O caso mais grave em canídeos corresponde à intoxicação por organofosforados, tendo apresentado uma evolução positiva (Figura 17). Em felídeos, a intoxicação de uma gata com 8 meses com permetrina *spot on* foi o caso mais grave, tendo sido fatal para o animal em questão.

A tabela 11 resume os casos de toxicologia observados durante o período de estágio.

Tabela 11: Frequência relativa das entidades clínicas de toxicologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.

Intoxicação	FR (%)	FRP (%)	
		Canídeos	Felídeos
Digoxina	20,0	0,0	100,0
Fungicidas	Indeterminado	20,0	100,0
Rodenticidas	Bromadiolona	20,0	100,0
	Indeterminado	20,0	100,0
Organofosforados	20,0	100,0	0,0
Paracetamol	40,0	0,0	100,0
Permetrina	20,0	0,0	100,0



Figura 17: Cadela de um ano com intoxicação por organofosforados.

3.12. Endocrinologia

Nem sempre o diagnóstico de uma endocrinopatia é um diagnóstico fácil. São vários os factores que podem levar à alteração dos níveis hormonais. Os casos de endocrinopatias observados foram exclusivamente em cães, tendo sido observados em mesmo número o hiperadrenocorticismo e o hipotireoidismo.

O hiperadrenocorticismo é uma alteração endócrina caracterizada pelo aumento dos níveis de glucocorticóides. Pode ser hipófiso ou adreno-dependente, ou ainda iatrogénico, resultando da terapia prolongada com glucocorticóides (Reusch, 2005). O hiperadrenocorticismo hipófiso-dependente é a causa mais comum de hiperadrenocorticismo espontâneo, ocorrendo em 80-85% dos casos (Nelson e Couto, 2009).

Os animais apresentam-se frequentemente com poliúria, polidipsia, polifagia, abdómen pêndulo, alopecia simétrica e bilateral, letargia, fraqueza muscular e calcinose cutis. O método de diagnóstico de eleição é o teste de supressão com doses baixas de dexametasona, uma vez que pode permitir a distinção entre o hiperadrenocorticismo adreno-dependente e o hipófiso-dependente. No entanto, esta distinção não é 100% fiável, uma vez que 20% dos indivíduos com hiperadrenocorticismo hipófiso-dependente podem apresentar uma curva de produção de cortisol semelhante à apresentada por indivíduos com hiperadrenocorticismo adreno-dependente. (Reusch, 2005) Para a monitorização dos pacientes durante o tratamento, o teste utilizado foi o da estimulação por hormona adrenocorticotrópica (ACTH).

Por outro lado, o hipotireoidismo resulta da diminuição da produção de tiroxina (T4) e de triiodotironina (T3) pela tiróide. O hipotireoidismo pode ser primário ou secundário a alterações no eixo hipotálamo-hipófise-tiróide (Scott-Moncrieff e Guptill-Yoran, 2005). No entanto, a forma mais comum em cães é primária e resulta de um processo imunomediado (tiroidite linfocítica) com destruição do parênquima glandular (Nelson e Couto, 2009). No geral os animais apresentam letargia, inactividade, perda de apetite com ganho de peso e alopecia simétrica, bilateral não prurítica. O diagnóstico definitivo é feito através da combinação dos sinais clínicos, achados do exame físico, parâmetros laboratoriais (hemograma e bioquímicas) e com o teste da função da glândula (T4 total e da hormona tireo-estimulante TSH). Entre os achados laboratoriais podemos encontrar hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, anemia não regenerativa, normocítica e normocrómica e aumento da AST e da ALT (Scott-Moncrieff e Guptill-Yoran, 2005).

O protocolo de tratamento é feito com levotiroxina na dose de 0,02 mg/kg cada 12 horas.

Na tabela 12 encontram-se as entidades clínicas de endocrinologia observadas..

Tabela 12: Frequência relativa das entidades clínicas de endocrinologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.

Entidade Clínica	FR (%)	FRP (%)	
		Canídeos	Felídeos
<i>Diabetes Mellitus</i>	20,0	100,0	0,0
Hiperadrenocorticismo	40,0	100,0	0,0
Hipotiroidismo	40,0	100,0	0,0

3.13. Neurologia

A fraca diversidade de diagnósticos aqui representada está relacionada com o facto de nem todos os casos referenciados revelarem ser de foro neurológico. Para além disso o diagnóstico de doenças de origem neurológica é, muitas vezes, difícil e, para além de um exame neurológico pormenorizado, é frequentemente necessário recorrer a técnicas de exame complementares específicas. Algumas dessas técnicas estão disponíveis no hospital, como a mielografia ou a colheita de líquido cefaloraquidiano, mas, mais uma vez, não existe muita cooperação por parte dos proprietários.

Como se pode observar na tabela 13, a hérnia discal e o síndrome vestibular periférico foram as entidades clínicas mais diagnosticadas, tendo uma representatividade de 18,8%..

Tabela 13: Frequência relativa das entidades clínicas de neurologia e frequência relativa parcial das espécies observadas.

Entidade Clínica	Origem	FR (%)	FRP (%)	
			Canídeo	Felídeo
Epilepsia primária		12,5	100,0	0,0
Síndrome Vestibular Periférico		18,8	66,7	33,3
Secção medular L7/S1		6,3	100,0	0,0
Polirradiculoneuropatia	Idiopática	6,3	100,0	0,0
	Botulismo	6,3	100,0	0,0
	Organofosforados	6,3	100,0	0,0
Hérnia discal		18,8	100,0	0,0
Discoespondilite		12,5	100,0	0,0
Encefalopatia hepática		6,3	100,0	0,0
Avulsão do plexo braquial		6,7	100,0	0,0

4. PATOLOGIA CIRÚRGICA

Da mesma forma que a patologia clínica, também a patologia cirúrgica se encontra dividida em três grupos, de acordo com o tipo de procedimento: cirurgia ortopédica, cirurgia de tecidos moles e pequenos procedimentos cirúrgicos. A frequência parcial de cada uma destas áreas cirúrgicas está representada no gráfico 5.

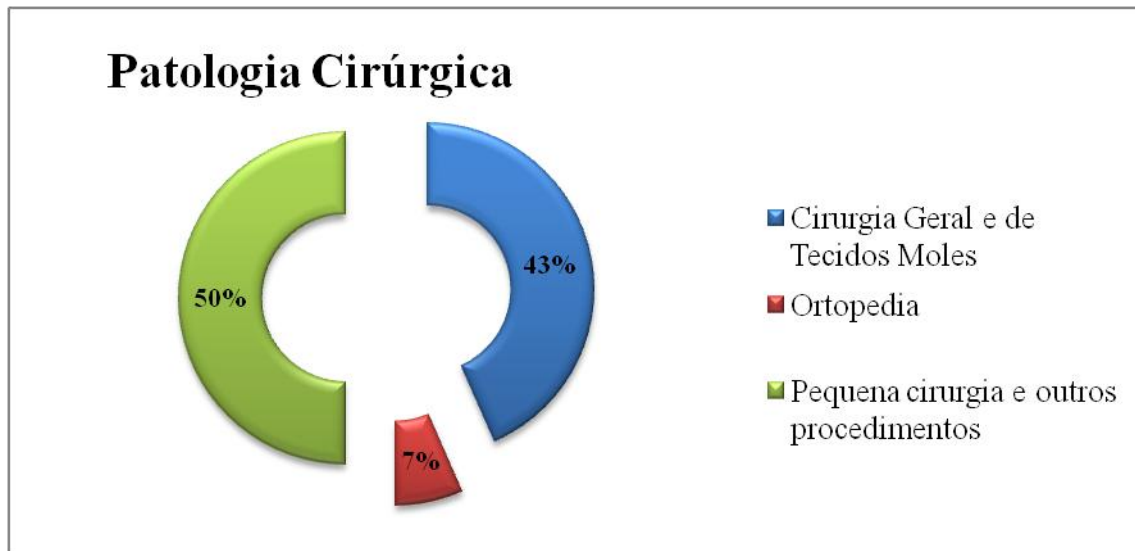


Gráfico 5: Gráfico representativo da frequência relativa de cada área da Patologia Cirúrgica, $n = 175$.

Na área da cirurgia ortopédica houve uma predominância evidente das osteossínteses, apresentando um total de 85,73% das intervenções nesta área.

Já na cirurgia de tecidos moles, as intervenções mais realizadas estão incluídas na teriogenologia. A ovariectomia obteve maior expressão (42,11%) sendo realizada maioritariamente em cadelas.

Na pequena cirurgia e outros procedimentos cirúrgicos menores encontram-se incluídos procedimentos mais simples, incluindo aqueles que são realizadas sob anestesia fixa ou sedação. Nesta área salienta-se a plastia de lacerações, revelando mais uma vez o elevado número de quedas, atropelamentos e lutas entre animais e o seu impacto no dia-a-dia do hospital.

Todos estes dados encontram-se resumidos na tabela 14.

Tabela 14: Frequência relativa parcial (FRP) das categorias de cirurgia ortopédica, cirurgia geral e de tecidos moles e pequenas cirurgias e outros procedimentos.

	Entidade Clínica	Localização	FR(%)	FRP(%)	
				Cão	Gato
Cirurgia Ortopédica	Amputação (Figura 18)	Membro Torácico Direito	11,11	100,00	0,00
	Osteossíntese	Tíbia	33,33	33,33	66,67
		Rádio	11,11	100,00	0,00
		Ulna	22,22	100,00	0,00
		Mandíbula	11,11	0,00	100,00
		Sínfise mandibular	11,11	0,00	100,00
Cirurgia Geral e de Tecidos Moles	Correcção de entropion	Bilateral	1,75	0,00	100,00
	Cesariana	Distócia	1,75	100,00	0,00
	Enucleação		1,75	100,00	0,00
	Enterotomia (Figura 19)		1,75	100,00	0,00
	Exeresse de nódulo cutâneo		1,75	100,00	0,00
	Gastropexia		1,75	100,00	0,00
	Gastrotomia		1,75	100,00	0,00
	Herniorrafia	Umbilical	1,75	100,00	0,00
		Inguinal	5,26	100,00	0,00
	Laparotomia exploratória		3,51	50,00	50,00
	Mastectomia		3,51	100,00	0,00
	Orquiectomia		14,41	41,18	58,82
	Ovariohisterectomia		42,11	66,67	33,33
Plastia de fenda palatina		1,75	0,00	100,00	
Pequenas Cirurgias e Outros Procedimentos	Abdominocentese		1,69	100,00	0,00
	Algaliação		9,32	45,45	54,55
	Cistocentese		5,08	16,67	83,33
	Colheita de medula óssea		3,39	75,00	25,00
	Destartarização		1,69	100,00	0,00
	Drenagem otohematoma		4,24	100,00	0,00
	Entubação por esofagostomia		0,85	0,00	100,00
	Extracção de dedos supranumerários		0,85	100,00	0,00
	Extracção dentária		0,85	100,00	0,00
	Nodulectomia		1,69	50,00	50,00
	Plastia de lacerações da pele		11,86	92,86	7,14
	Redução fechada	Luxação coxo-femural	0,85	100,00	0,00
		Fractura tíbia	0,85	0,00	100,00
	Pensos	Simples	24,58	65,52	34,48
		Compressivos	25,42	36,67	63,33
		Robert-Jones	3,39	100,00	0,00
	Ehmer	0,85	100,00	0,00	
Transfusão sanguínea		2,54	100,00	0,00	

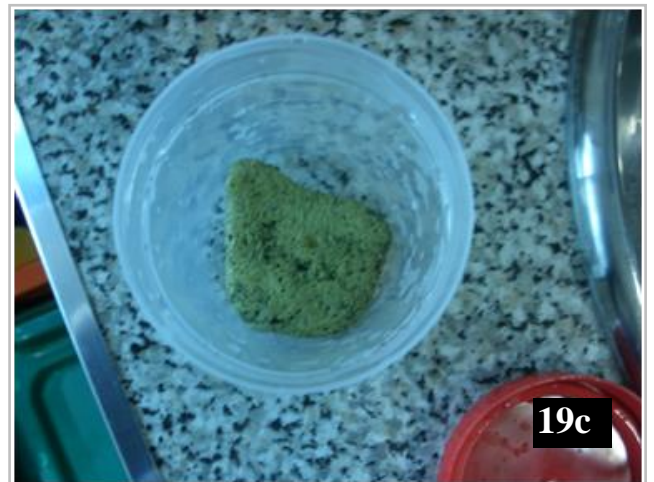
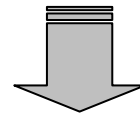
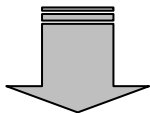
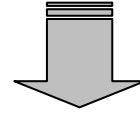
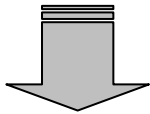


Figura 18 a/b/c: Nicolau: cão com dois anos atropelado por um comboio com (a) amputação parcial do membro anterior direito, seguida de (b) amputação cirúrgica do restante membro. (c) Nicolau após amputação do membro e correcção da fractura de ulna do membro contralateral.

Figura 19 a/b/c: a)Farol: cão com 4 anos que apresentava b) uma obstrução intestinal por c) corpo estranho (pedra).

5. MEIOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO

São várias as situações no dia-a-dia da prática clínica que levam a recorrer aos diversos meios complementares disponíveis, desde a recolha de informação necessária para o estabelecimento de um diagnóstico definitivo, até à monitorização do tratamento estabelecido e definição do prognóstico.

O Inemvet dispõe de um laboratório equipado com máquina de hemograma, dispositivo para análise quantitativa de parâmetros bioquímicos e microscópio óptico, incluindo os materiais necessários para fixação e coloração (Diff-Quick e Gram). Para além disso, é prática corrente no hospital a realização de um esfregaço sanguíneo de cada amostra de sangue colhida para hemograma e a realização de microhematócrito à parte, daí os valores serem bastante parecidos. Para além disso, a igualdade de valores de hemograma e leucograma deve-se ao facto de serem realizados no mesmo dispositivo e com a mesma amostra de sangue.

5.1. Análises Laboratoriais

As análises sanguíneas e bioquímica sérica constituem os meios complementares de diagnóstico mais frequentemente utilizados (15,50 e 21,22%, respectivamente). De facto, a recorrência ao laboratório foi constante, com realização e interpretação de hemogramas, leucogramas e análises bioquímicas, preparação e observação de vários esfregaços sanguíneos e citológicos e realização de análises de urina com observação de sedimento ao microscópio.

O hospital veterinário não se encontrava equipado para a realização de proteinogramas e análises serológicas, pelo que as amostras eram enviadas para um laboratório especializado através de uma empresa transportadora.

Na tabela 15 estão representadas as diferentes análises laboratoriais a que foi necessário recorrer durante o período de estágio.

Tabela 15: Distribuição das frequências relativas referentes às análises clínicas, $n = 735$
 ACTH – hormona adrenocorticotrófica; TSH – hormona estimulante da tiróide ; TSA – teste sensibilidade a antibióticos

Análises Laboratoriais		FR (%)
Sanguíneas	Hemograma	15,32
	Leucograma	15,32
	Esfregaço Sanguíneo	14,22
	Hematócrito	16,27
Bioquímica Sérica		24,64
Urianálise II		3,63
Mensuração Fenobarbital		0,63
Endocrinologia	Estimulação ACTH	0,32
	Supressão com doses baixas de dexametasona	0,16
	T4 total + TSH	0,32
Análises serológicas	<i>Leishmania infantum</i>	1,58
	<i>Ehrlichia canis</i>	0,63
	<i>Babesia canis</i>	0,47
	<i>Rickettsia conorii</i>	0,47
	Vírus da Raiva	1,26
	<i>Dirofilaria immitis</i>	0,63
Proteinograma		2,37
Parasitologia	Coprologia	0,79
Análise Bacteriológica + TSA		0,95

5.2. Testes dermatológicos

Os meios complementares de diagnóstico de patologias dermatológicas incluem os testes de primeira linha utilizados numa primeira abordagem às lesões. A raspagem cutânea, o tricograma, o teste da fita-adesiva, a lâmpada de Wood e o cultivo fúngico são procedimentos básicos que, muitas vezes, podem dar-nos um diagnóstico definitivo.

O tricograma dá-nos alguma informação acerca da natureza das lesões, como por exemplo relativamente ao prurido e ao estadio de desenvolvimento do folículo piloso. Se estivermos na presença de lesões dermatológicas secundárias a um processo patológico de origem endócrina, os pêlos vão estar, na sua maioria, em fase telogénica. Para além disso, a raspagem cutânea permite-nos a identificação de infeções por ácaros, enquanto o teste da fita-adesiva permite-nos pesquisar quanto a ectoparasitas adultos, como pulgas e piolhos, ou ovos. Para descartar a hipótese de dermatofitose, utiliza-se a lâmpada de Wood e o cultivo fúngico. De salientar que nem todos os fungos emitem fluorescência, pelo que a lâmpada de Wood não deve ser utilizada individualmente para avaliar quanto à presença de fungos (Foster e Foil, 2008).

O gráfico 6 representa a frequência relativa de cada teste realizado.

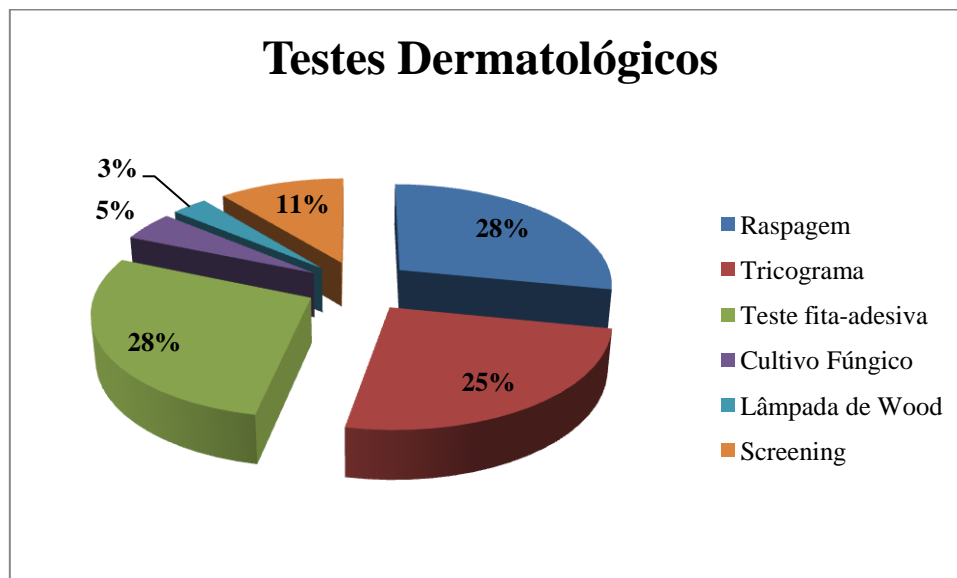


Gráfico 6: Distribuição das frequências relativas referentes aos testes dermatológicos, $n= 64$.

5.3. Anatomohistopatologia

A realização de análise citológica ou biopsia enquadra-se na análise de qualquer tipo de tecido ou fluído. No geral, realizaram-se mais análises citológicas do que biopsias (total de 89,36 %). Este facto deve-se à sua facilidade de execução, à possibilidade de obtenção imediata dos resultados e à colheita de amostras ser relativamente pouco invasiva. A análise citológica é realizada, mais frequentemente, quando se apresenta uma lesão do tipo inflamatória, hiperplásica ou neoplásica, permitindo mesmo, aos observadores mais experientes, identificar diferentes neoplasias específicas (Radin e Wellman, 1998). A grande desvantagem desta relativamente à biopsia é a de que não permite a observação da organização geral das células dentro dos tecidos, sendo por

isso, por vezes, inconclusiva. O gráfico 7 revela a predominância de análises citológicas a amostras do conduto auditivo (42%), seguida da punção aspirativa por agulha fina, com 34%).

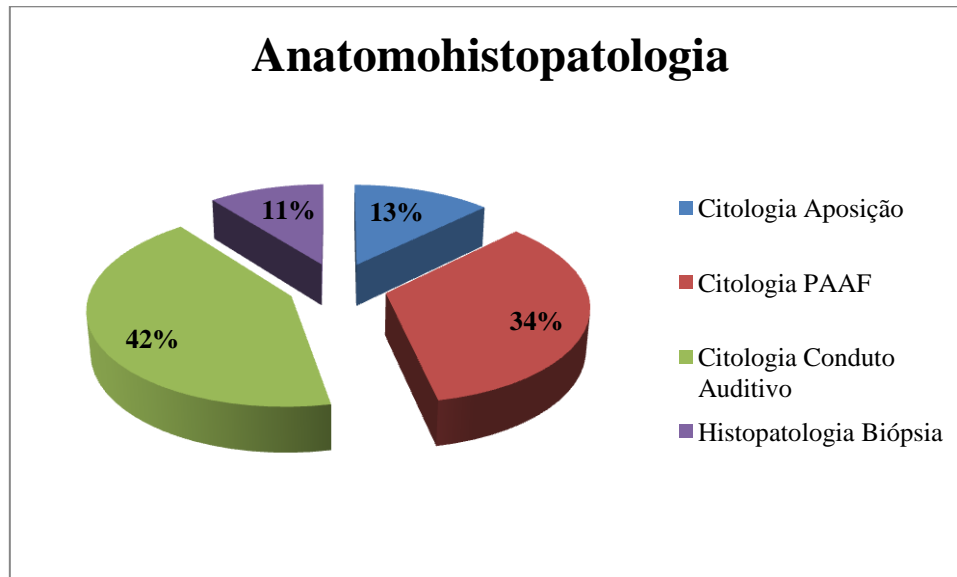


Gráfico 7: Distribuição das frequências relativas referentes a anatomohistopatologia, $n= 47$.

5.4. Imagiologia

A imagiologia é dos meios complementares de diagnóstico mais solicitados para a obtenção de informação necessária ao estabelecimento de um diagnóstico. Segundo a tabela 16, a técnica de raio-x simples foi a mais executada, estando aqui representados apenas os exames complementares que foram necessários para a emissão do diagnóstico definitivo. A estes ainda deveria acrescer todos os realizados após as cirurgias e durante o período de monitorização da evolução.

Exame	Tipo	FR (%)	
Ecografia	Abdominal	7,61	
	Obstétrica	1,52	
	Sumária	10,15	
Raio-x	Simplex	Abdómen	21,83
		Crânio	4,06
		Membro Torácico	11,17
		Membro Pélvico	15,74
		Região Pélvica	5,08
		Tórax	20,30
		Contraste	2,54

5.5. Kit de diagnóstico rápido

Os kits de diagnóstico rápido foram bastante utilizados na prevenção e diagnóstico de algumas doenças infecciosas. Os testes de dirofilariose incluem os realizados em despistes para início de prevenção contra a dirofilariose, sendo também por isso o que obteve maior expressão nos canídeos (32%), como se pode observar no gráfico 8.

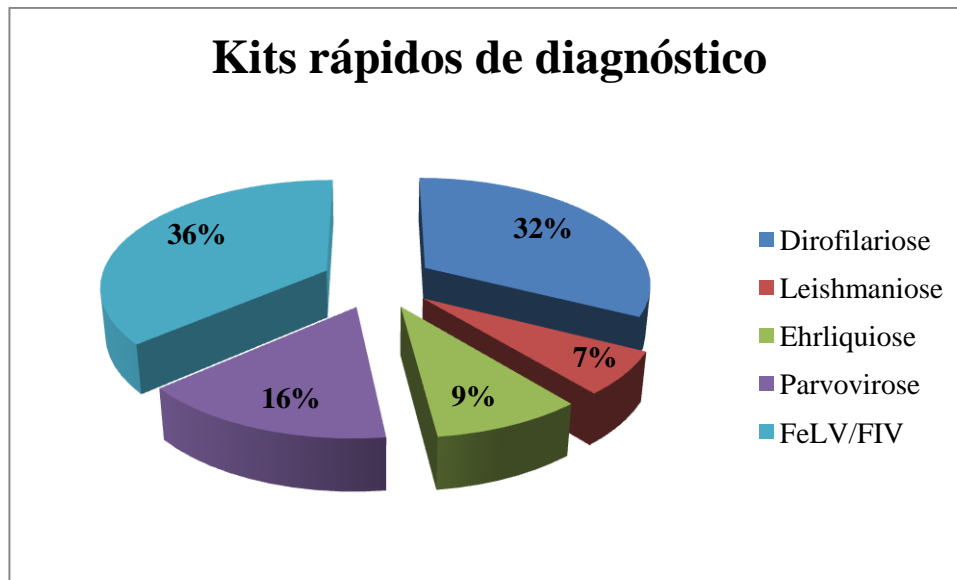


Gráfico 8: Distribuição das frequências relativas referentes à utilização de kits de diagnóstico rápido, $n=63$

Os sinais manifestados por um animal com parvovirose associados à história clínica e a um teste positivo de pesquisa de antígenos constituem a base necessária para estabelecer um diagnóstico forte. Assim, todos os animais jovens que apresentavam um quadro de gastroenterite hemorrágica eram testados para esta doença, chegando a ser diagnosticada em animais com aproximadamente 2 anos que não haviam sido vacinados. Desta forma, foram os testes de diagnóstico mais utilizados em canídeos, a seguir à dirofilariose, com uma expressão de 16%.

Quanto aos felídeos, como já foi referido anteriormente, Olhão é uma cidade com uma grande população de gatos vadios e, infelizmente, o número de animais positivos para FIV e/ou FeLV cresce cada vez mais. Ao hospital deslocaram-se vários proprietários com animais adoptados ou recolhidos da rua, pelo que o teste para despiste destas duas doenças foi o mais utilizado, representando 36% do total.

A fraca representatividade dos testes de erliquiose e de leishmaniose deve-se ao facto de que, a maioria dos casos de suspeita de destas doenças, eram confirmados através de análise serológica, e não por testes rápidos. O gráfico 8 representa a distribuição relativa de todos os testes de diagnóstico rápido realizados durante o período de estágio.

5.6. Outros meios complementares de diagnóstico

Na tabela 17 encontram-se descritas algumas técnicas auxiliares de diagnóstico que também são importantes e não poderiam deixar de ser referidas. O electrocardiograma é uma delas, realizada tanto em diagnóstico de patologias cardíacas, como em monitorização de tratamentos de dirofilariose ou para avaliação de animais antes e durante a cirurgia.

Os testes auxiliares de oftalmologia também são indispensáveis em algumas situações, para avaliar a presença e profundidade de úlceras da córnea (teste de fluoresceína), ou o nível de produção de lágrima (Teste de Schirmer).

Tabela 17: Distribuição das frequências relativas a outros meios complementares de diagnóstico, $n=50$

Área Clínica		FR (%)
Função cardiovascular	Electrocardiograma	36,00
	Pressão Sanguínea	18,00
Oftalmologia	Teste de Schirmer	8,00
	Oftalmoscopia	10,00
	Fluoresceína	20,00
Necrópsia		8,00



Figura 20: Máquina de raio-x (imagem adaptada de www.inemvet.com)



Figura 21: Máquina de hemograma (imagem gentilmente cedida por Sara Ferreira)



Figura 22: Laboratório de análises clínicas (imagem gentilmente cedida por Sara Ferreira)



Figura 23: Consultório de cães (imagem adaptada de www.inemvet.com)

IV. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA: LEISHMANIOSE CANINA

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose que continua a crescer e a desenvolver-se na população canina em Portugal, acarretando graves consequências para o seu estado de saúde e transformando os nossos animais de estimação em potenciais fontes de contaminação para outros animais e para a população humana.

A leishmaniose é um complexo de doenças, a maioria de carácter zoonótico, causado por várias espécies de protozoários do género *Leishmania*. Tem um grave impacto na saúde pública, uma vez que se encontra instalada em 4 dos 5 continentes: Europa, Ásia, África e América. A sua distribuição geográfica depende directamente da existência e da densidade populacional do seu vector, dípteros dos géneros *Phlebotomus* ou *Lutzomyia*.

O cão e o Homem são as espécies mais afectadas por este complexo de doenças, mas a mesma já foi descrita em outras espécies, embora com menos frequência. Existem mais de 20 espécies patogénicas para o homem, que podem gerar três formas clínicas diferentes: a cutânea, mucocutânea e a visceral (BRASIL. Ministério da Saúde, 2007). A vertente humana da doença tem ainda uma agravante. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), o número de co-infecções *Leishmania* – vírus da imunodeficiência humana (HIV) tem vindo a aumentar drasticamente, não só em África, mas também no sul da Europa. Este aumento está associado não só à imunodeficiência causada pelo HIV que deixa o sujeito mais susceptível a outras infecções, mas também à problemática da toxicod dependência. O consumo de drogas injectáveis levou ao aparecimento de um novo ciclo de transmissão antroponótico, em que o vector passa a ser a seringa (WHO, 2010).

Nos locais onde é endémica a sua prevalência é bastante elevada, embora nem todos os animais infectados desenvolvam sinais clínicos. Esta ausência de sinais e o elevado tráfego de animais entre países faz com que, muitas vezes, sejam diagnosticados casos em países não endémicos (Solano-Gallego *et al*, 2009; Baneth *et al*, 2008).

Apesar do parasita ter sido descoberto no início do século XX, apenas na década de 90 houve uma notória melhoria no tratamento e maneio clínico desta doença, com o desenvolvimento de métodos de diagnóstico mais sensíveis e específicos, assim como a descoberta de protocolos de tratamento mais eficazes e um controlo da doença mais apertado (Corrales e Moreno, 2006; Solano-Gallego *et al*, 2009).

2. ETIOLOGIA E TRANSMISSÃO

O agente etiológico da leishmaniose é um protozoário flagelado pertencente à família *Trypanosomatidae*. São parasitas obrigatórios das células do sistema retículo endotelial e têm duas formas principais: promastigota e amastigota. A primeira forma é fina, curta e flagelada e corresponde à fase de multiplicação extracelular no interior do tracto digestivo do vector. A segunda tem uma forma oval e corresponde à fase intracelular que afecta os macrófagos do hospedeiro vertebrado, porém é não flagelada (Guaguére *et al.*, 2008).

2.1. HOSPEDEIROS RESERVATÓRIOS

São várias as espécies de mamíferos que funcionam como reservatório deste parasita e que são responsáveis pela perpetuação desta doença. No entanto, para além do Homem, o animal mais afectado pela leishmaniose é o cão, uma vez que a maioria das outras espécies está bem adaptada à *Leishmania* e, por isso, não chega a desenvolver doença clínica.

Outras espécies susceptíveis são os canídeos selvagens, mas o seu papel no ciclo de transmissão ainda se encontra em debate. De qualquer forma, existe a hipótese de que estes mantenham um ciclo de transmissão selvático independente do cão doméstico.

Entretanto, a doença já foi descrita em outras espécies como gatos, cavalos e pequenos roedores (Gramiccia e Gradoni, 2009).

2.1.1. O papel do cão como reservatório

A elevada susceptibilidade à infecção e a proximidade afectiva que existe entre a espécie humana e os cães, torna estes no principal reservatório de *Leishmania infantum* para os primeiros.

Uma vez infectados, a evolução da doença pode ocorrer de duas formas: os animais têm uma resposta imunitária que lhes concede resistência e permanecem clinicamente sãos, ou então a resposta imunitária não é efectiva e começam a manifestar sinais clínicos de leishmaniose. Independentemente da forma como a infecção progride, os animais passam a ser fontes de infecção para os vectores, mesmo que não apresentem sinais.

Não existe predisposição em termos de género, mas pode haver alguma predisposição genética relacionada com polimorfismos do gene *Slc11a1* (gene que controla a replicação dos parasitas intracelulares através de alterações do ambiente dentro do fagossoma) (Sanchez-Robert *et al.*, 2008) ou de moléculas de histocompatibilidade

maior de classe II (MHC-II). Ainda que todos os animais possam desenvolver um quadro clínico de infecção, raças como Boxer, Pastor Alemão, Doberman Pinscher, Cocker Spaniel e Foxhound têm maior susceptibilidade, ao passo que o Podengo Ibicenco mostra ser resistente (Sanchez-Robert *et al*, 2008; Solano-Gallego *et al*, 2009). A idade também é um bom indicador para o risco de infecção. A prevalência em idades até aos três anos é mais elevada, descendo gradualmente nos anos que se seguem até que, aos 7-8 anos, tem um novo pico (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

O grau de susceptibilidade está relacionado, ainda, com o estilo de vida do hospedeiro e com a densidade populacional do vector. Em geral cães que vivem em ambientes rurais e que passam a maior parte do tempo no meio exterior estão mais expostos à picada de flebotómídeos do que aqueles que vivem em centros urbanos e que passam grande parte do tempo em casa (Moreno e Alvar, 2002).

2.2. VECTOR

Os principais vectores responsáveis pela transmissão da leishmaniose são os dípteros dos géneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*, pertencentes à família *Psychodidae*, subfamília *Phlebotominae*. São insectos pequenos com cerca de 1-2 milímetros, de pernas e peças bucais longas, corpo piloso e antenas erectas. Embora sejam também encontrados em regiões de climas amenos, a maioria das espécies tem distribuição tropical ou subtropical. Podem ser encontrados em diferentes habitats, desde desertos, a florestas e habitats peri-urbanos, escolhendo sempre para nicho locais escondidos e com abundância de detritos orgânicos, como tocas de animais, fendas em rochas e muros, bases e buracos em troncos de árvores, adegas e abrigos de animais domésticos.

São fracos voadores, pelo que a distância que percorrem entre o abrigo e a refeição é, geralmente, curta (Beaty *et al*, 1996).

Apenas a fêmea é hematófaga, realizando múltiplas refeições ao longo da vida e, uma vez infectada, inocula parasitas o resto da vida. Tem fraca selectividade, alimentando-se do sangue de quase todas as espécies de mamíferos de sangue quente, assim como de alguns pássaros. A sua actividade ocorre principalmente durante a noite e crepúsculo.

Ao alimentar-se corta a pele e os vasos sanguíneos do hospedeiro para que se forme um acumulado de sangue na região, ao mesmo tempo que injecta a sua saliva, que contém propriedades anti-hemostáticas, vasodilatadoras (Lerner *et al.*, 1991) e imunomoduladoras. Sabe-se hoje em dia que estas propriedades da saliva dos

flebotomídeos potenciam a infecção por *Leishmania*, quer por inibição de algumas células do sistema imune, ou por modulação do ambiente de citocinas (Giunchetti *et al*, 2008a). A tabela 18 enumera os efeitos conhecidos da saliva dos flebotomídeos.

Tabela 18: Propriedades anti-hemostática, vasodilatadora e imunomoduladora da saliva de dípteros vectores de leishmaniose. (informação extraída de Cavalcante, *et al*, 2003; Lerner, *et al*, 1991 e Titus, *et al.*, 2006)
NO – óxido nítrico; H₂O₂ – peróxido de hidrogénio; IFN- γ – interferão gama; IL– interleucina.

Propriedade	Efeito
Anti-hemostática	Inibe a agregação plaquetária
	Inibe a coagulação
Vasodilatadora	
Imunomoduladora	Inibe a activação de Linfócitos T
	Inibe a activação de macrófagos
	Inibe a produção de NO/H ₂ O ₂
	Inibe a produção de IFN- γ , IL-12,
	Estimula a produção de IL-4, IL-6, IL-10
	Inibe o sistema complemento

A sua participação no ciclo de vida da *Leishmania* é necessária, uma vez que é no seu intestino que ocorre a transformação das formas amastigotas em promastigotas (forma infectante) (Beaty *et al*, 1996). O epitélio intestinal destes vectores contém galectinas que se ligam às moléculas de lipofosfoglicanos (LPG) da superfície dos promastigotas nectomonas, impedindo-os de serem eliminados com o resto do alimento digerido (Niederwieser, 2004; Silva S.M., 2007).

Existem, no entanto, algumas zonas do mundo onde a leishmaniose continua a aumentar, mesmo havendo registo de uma baixa taxa de infecção nos flebótomos. Isto abre a possibilidade de envolvimento de outros mecanismos de transmissão. No sentido de atingir o maior conhecimento possível acerca do ciclo de transmissão desta doença, têm sido realizados alguns estudos para tentar averiguar a possibilidade de envolvimento de outros ectoparasitas. Alguns revelam a susceptibilidade e capacidade

de infecção de algumas carraças (Coutinho *et al.*, 2005) e pulgas (Coutinho e Linardi, 2007) em meio laboratorial, mas não provam que o mesmo ocorra no meio natural.

Para além disso, outras formas de infecção foram também já abordadas, como o contacto directo na presença de feridas cutâneas abertas, transmissão transplacentária e o contacto com produtos sanguíneos de animais infectados (Solano-Gallego, *et al.*, 2009).

3. EPIDEMIOLOGIA

Durante anos a leishmaniose foi uma doença ignorada, e o seu impacto em saúde pública subestimado. No entanto, o aumento contínuo do número de novos casos, tanto na espécie humana como nos canídeos domésticos, foi um factor que despertou para a importância desta doença. A OMS estima que ocorram por ano 1,5 a 2 milhões de novos casos de leishmaniose humana, embora apenas cerca de 600.000 sejam oficialmente registados.

Em medicina veterinária, a importância da leishmaniose reside no facto de ser uma das zoonoses com maior mortalidade canina a nível mundial (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A transição desta doença das zonas rurais para as urbanas deveu-se, em muito, às acções de desflorestação por parte da espécie humana para o alargamento dos centros urbanos (Amóra *et al.*, 2009). À medida que essas zonas foram habitadas, iniciou-se um contacto directo com locais naturais de reprodução dos flebotómídeos, assim como com reservatórios selvagens.

A distribuição geográfica das diferentes espécies de *Leishmania* está intimamente ligada com a distribuição geográfica das espécies de vector, uma vez que cada espécie de *Leishmania* é compatível apenas com alguns dípteros. Com efeito, existe uma especificidade elevada na relação parasita – vector, uma vez que o desenvolvimento do primeiro está dependente da existência de receptores específicos no tracto digestivo do segundo. A existência desses receptores no vector é que vai impedir a eliminação do parasita com o resto da refeição sanguínea (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Não quer isto dizer que os parasitas não consigam desenvolver-se dentro dos outros vectores, mas sim que acabam por ser eliminados junto com o alimento digerido (Niederwieser, 2004).

Existem, no entanto, algumas espécies de vectores menos selectivas, que se adaptam a mais do que uma espécie do parasita.

Na tabela 19 estão descritas as espécies de *Leishmania* passíveis de infectar canídeos domésticos associadas ao vector, hospedeiros reservatórios e área geográfica.

Tabela 19: Distribuição geográfica das espécies de *Leishmania* responsáveis pela leishmaniose canina, com respectivos hospedeiros e vectores (informação obtida a partir de: Mehlhorn, 2008b ; Solano-Gallego *et al.* 2009; Muñoz e Davies, 2006)

Espécie	Hospedeiros	Área(s) Geográfica(s)	Vector(es)
<i>Leishmania infantum</i>	Cães	Bacia mediterrânica	<i>Phlebotomus perniciosus</i> <i>Phlebotomus ariasi</i>
		Sul da Ásia, Irão, Arménia, Afeganistão	<i>Phlebotomus kandelakii</i>
		Ásia central, China	<i>Phlebotomus chinensis</i> <i>Phlebotomus alexandri</i>
<i>Leishmania chagasi</i>	Cães, gatos e raposas	Centro e sul da América	<i>Lutzomyia longipalpis</i> <i>Lutzomyia evansi</i>
<i>Leishmania donovani</i>	Cães e raposas	Este de África	<i>Phlebotomus orientalis</i> <i>Phlebotomus martini</i>
<i>Leishmania tropica</i>	Cães e roedores	Norte de África	<i>Phlebotomus sergenti</i> <i>Phlebotomus arabicus</i>
<i>Leishmania braziliensis</i>	Cães e Roedores	Centro e sul da América	<i>Lutzomyia wellcomei</i> , <i>Lutzomyia spinicrassa</i> <i>Lutzomyia whitmani</i> , <i>Lutzomyia yucumensis</i> <i>Lutzomyia carrerae</i> , <i>Lutzomyia llanosmartinsi</i> <i>Lutzomyia ovallesi</i> , <i>Lutzomyia intermedia</i> <i>Lutzomyia gomezi</i> , <i>Lutzomyia trapidoi</i> <i>Lutzomyia ylephiletor</i> , <i>Lutzomyia umbratilis</i>
<i>Leishmania peruviana</i>	Cães	Andes do Perú	<i>Lutzomyia peruensis</i> , <i>Lutzomyia verrucarum</i> <i>Lutzomyia ayacuchensis</i>
<i>Leishmania panamensis</i>	Cães, preguiças	América central	<i>Lutzomyia trapidoi</i> , <i>Lutzomyia ylephiletor</i> <i>Lutzomyia gomezi</i> , <i>Lutzomyia panamensis</i> <i>Lutzomyia hartmanni</i>

3.1. DISTRIBUIÇÃO MUNDIAL DA LEISHMANIOSE

Uma estimativa baseada em estudos de seroprevalência em Espanha, Itália, Grécia, França e Portugal revela que cerca de 2,5 milhões de cães estão infectados nestes países. É fundamental que se criem formas não só de controlar a doença dentro dos países endémicos, mas também de impedir que esta se propague ainda mais e venha a criar novos focos em áreas não endémicas. No entanto, não é uma tarefa fácil, uma vez que se trata de um parasita que, frequentemente, não desenvolve doença clínica no

hospedeiro. Na verdade, existem estudos desenvolvidos que demonstram a maioria dos animais infectados permanecem clinicamente assintomáticos durante muito tempo (Moreno e Alvar, 2002; Solano-Gallego *et al*, 2009). Estes portadores assintomáticos continuam a ser fontes de infecção para os vectores, o que associado ao elevado trânsito de animais do norte para o sul da Europa (e vice-versa) os torna numa preocupante fonte de propagação do parasita dentro da União Europeia (UE). A formação de novos focos endémicos pode ocorrer em locais em que a população de dípteros seja suficientemente densa.

A leishmaniose canina estende-se a cerca de 50 dos 80 países onde a leishmaniose humana está presente. Afecta principalmente três áreas geográficas: Brasil, China e os países da bacia mediterrânica (Corrales e Moreno, 2006), embora a área abrangente seja bastante maior. Países do norte e centro de África, centro e sul da América, Índia, Bangladesh e Nepal são também considerados áreas de risco de infecção. Para além disso, a área endémica está a estender-se para norte, havendo focos endémicos já no centro de França, Alemanha (Guaguére *et al*, 2008), Alpes (Maroli *et al.*, 2008) e em alguns estados dos Estados Unidos da América (EUA) (Foster e Foil, 2008; Scott *et al*, 2002).

3.2. LEISHMANIOSE EM PORTUGAL

Como já anteriormente foi referido, Portugal, ao pertencer ao conjunto dos países da bacia mediterrânica, representa um dos principais focos endémicos de leishmaniose canina. As espécies de flebotomos existentes em Portugal que desempenham a função de hospedeiro intermediário para esta doença são o *Phlebotomus perniciosus* e o *Phlebotomus ariasi*. As temperaturas amenas (15-20° célsius) e os índices de humidade relativa moderados que se fazem sentir no país reúnem as condições ideais para o desenvolvimento destes dois dípteros, o que faz com que esta doença seja endémica em grande parte do território continental. No entanto a prevalência de cada zona endémica varia, uma vez que as características climáticas não são constantes de distrito para distrito. Um estudo realizado no município do Alijó mostrou uma discrepância relevante entre as seroprevalências registadas nas freguesias localizadas mais a norte e as do sul, tendo sido mais elevadas no segundo caso. Esta diferença associa-se ao facto de as temperaturas médias serem mais baixas nas freguesias mais a norte, o que condiciona o desenvolvimento da população de vectores nessa área (Cardoso *et al.*, 2004).

Em Portugal, são consideradas áreas endémicas as regiões de Trás-os-Montes, Lisboa, Setúbal, Cova da Beira, os concelhos de Lousã e Évora e o Algarve. A figura 24 resume um estudo realizado pelo Observatório Nacional de Leishmaniose (ONLEISH) que foi complementado com informação de alguns estudos de seroprevalências anteriormente efectuados.

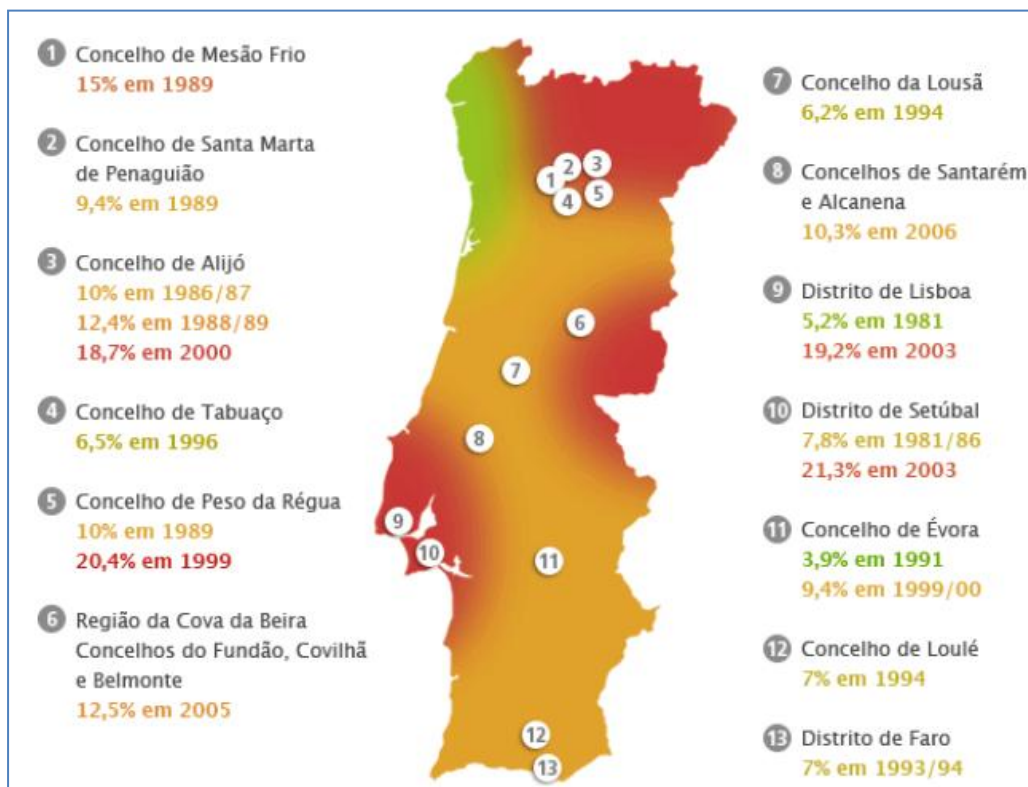


Figura 24: Mapa da prevalência da leishmaniose canina em Portugal (adaptado de: www.onleish.org)

Embora não possa haver uma comparação directa entre os diferentes concelhos/distritos, uma vez que os estudos foram efectuados em alturas diferentes (período varia de 1993/94 até 2006) e, muito provavelmente, com testes serológicos diferentes, ainda assim nota-se um aumento significativo nas seroprevalências dos concelhos/distritos em que se efectuaram mais do que um estudo. Isto pode levar-nos a crer que os valores de seroprevalência estimados há mais tempo podem já não reflectir a situação no momento.

4. CICLO DE VIDA

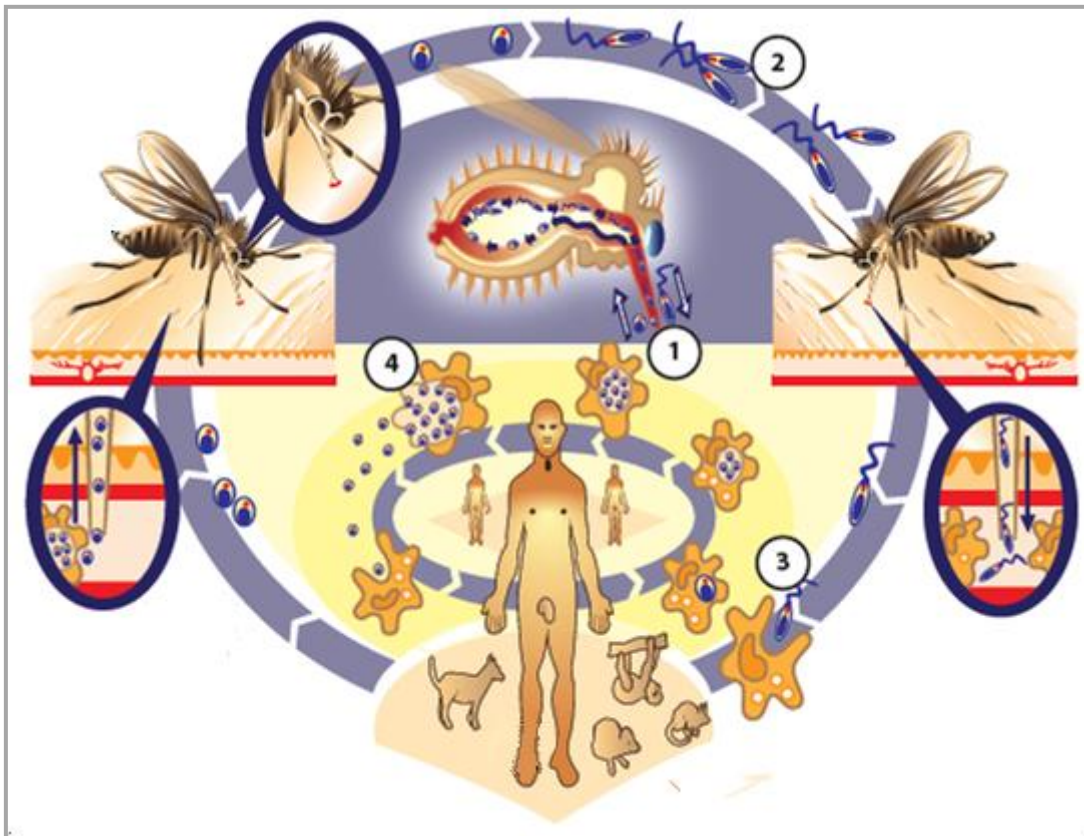


Figura 25: Ciclo de vida da *Leishmania* (adaptado de: <http://www.who.int/tdroid/diseases/leish/lifecycle.htm>)

A transmissão dá-se através da picada de flebotomídeos que, ao alimentarem-se de animais infectados, vão ingerir também as formas amastigotas que se encontram nos macrófagos (1). Uma vez dentro do tracto digestivo, levam cerca de 12 – 18 horas a transformarem-se em pequenas formas ovóides e com pouco movimento – promastigotas procíclicas - que iniciam uma fase de multiplicação por divisão binária que dura entre 30 a 60 horas. Toda esta primeira fase ocorre dentro de uma matriz peritrófica (MP) segregada pelo epitélio do intestino médio do vector. Após essa fase de multiplicação ocorre uma transformação em formas alongadas, finas e com relativa mobilidade – nectomonas – que aderem através do flagelo às microvilosidades do intestino médio. A forma infectante (promastigotas metacíclicas) é atingida cerca de 7 dias depois, altura em que se desloca até à faringe e probóscide do vector que, ao alimentar-se novamente, vai inocular as formas infectantes num novo hospedeiro (2) (Mehlhorn, 2008b; Silva F.S., 2007).

Ao entrar no organismo do hospedeiro os parasitas são fagocitados pelos macrófagos (3) e, dentro de vacúolos parasitóforos, iniciam o processo de transformação na sua

forma amastigota. Uma vez atingida essa forma iniciam novamente uma fase de multiplicação por divisão binária até que o macrófago rompe e liberta os amastigotas (4) na circulação sanguínea, começando um novo ciclo de infecção de macrófagos. (Mehlhorn, 2008b)

5. RESPOSTA IMUNE

A evolução e a severidade da infecção no hospedeiro dependem directamente da resposta imune específica do hospedeiro. Se os mecanismos de defesa activados forem eficazes, o animal permanece resistente à doença e acaba por eliminar o parasita, caso contrário vai haver disseminação da infecção por incapacidade de reacção do sistema imunitário e desenvolvimento de doença clínica.

Em geral, nos cães com resistência à infecção predomina uma resposta do tipo celular, enquanto nos animais susceptíveis predomina a imunidade humoral (Solano-Gallego, 2001). O tipo de resposta desencadeado depende do perfil de produção de citocinas que, por sua vez, varia consoante a constituição genética do hospedeiro, a virulência do parasita, o tamanho do inóculo e factores inerentes ao vector (Larangeira, 2008).

As células do sistema imunitário inato presentes no local da inoculação dos parasitas (principalmente macrófagos e células dendríticas) vão ser responsáveis pelo desencadeamento da resposta imunitária. Quando reconhecem a *Leishmania*, vão fagocitá-la e, uma vez activadas, produzem citocinas que vão atrair outras células do sistema imune (macrófagos, neutrófilos e células *natural killer* - NK). Os promastigotas que não conseguem atingir o meio intracelular são destruídos pelos neutrófilos, pelas células NK ou pelo sistema de complemento. Os promastigotas, ao ligarem-se a proteínas do sistema de complemento, activam-nas e iniciam uma cadeia de mecanismos de clivagem que culmina com a activação do complexo de ataque membranário (MAC), e consequente destruição dos parasitas (BRASIL. Ministério da Saúde, 2007; Peixoto, 2009).

Uma vez dentro dos macrófagos, os parasitas permanecem dentro de vacúolos parasitóforos, onde conseguem transformar-se e replicar-se graças aos seus mecanismos de evasão. Ao mesmo tempo, as células de Langerhans infectadas vão transportar os parasitas até aos linfonodos de drenagem e desempenhar uma função de células apresentadoras de antígeno (APC) aos linfócitos T imaturos, que vão posteriormente

migrar até aos tecidos lesados, iniciando-se a resposta imunitária secundária (BRASIL. Ministério da Saúde, 2007).

A capacidade de resistência à infecção encontra-se associada a um predomínio na activação de linfócitos $T_{\text{helper}} 1$ (Th1) $CD4^+$, produtores de citocinas como o interferão gama (IFN - γ), a interleucina 2 (IL - 2) e o factor de necrose tumoral alfa (TNF- α). Por outro lado, a susceptibilidade à doença encontra-se associada a um predomínio na activação de linfócitos $T_{\text{helper}} 2$ (Th2) $CD4^+$ (Baneth *et al.*, 2008).

Para além disso, o estado nutricional, a existência de outras infecções, a virulência do parasita e a prévia exposição ao organismo *Leishmania*, são também factores importantes que determinam a manifestação ou não de doença (Alvar *et al*, 2004).

5.1. RESPOSTA IMUNE EFECTIVA

De acordo com vários autores, os animais assintomáticos apresentam altos níveis de produção de linfócitos específicos, uma forte reacção de hipersensibilidade retardada e níveis de anticorpos variáveis (Niederwieser, 2004; Papa, 2007; Peixoto, 2009; Solano-Gallego, 2001).

Uma resposta protectora é uma resposta gerada por linfócitos Th1 $CD4^+$. Para que se desencadeie uma resposta deste tipo, é necessária a inclusão de alguns dos parasitas inoculados, por parte das APC (macrófagos e células dendríticas). Uma vez infectadas, estas células iniciam a produção de IL- 12 e, ao mesmo tempo, vão expressar os determinantes antigénicos através do MHC II (Larangeira, 2008; Silva F.S., 2007). Os linfócitos T $CD4^+$ vão reconhecer os antigénios e, num ambiente dominado pela IL- 12, vão diferenciar-se em linfócitos $CD4^+$ Th1. Estes linfócitos estão associados à activação de macrófagos através da produção de IFN- γ , TNF - α e IL - 2 (Larangeira, 2008; Solano-Gallego, 2001).

Os macrófagos, uma vez activados, vão iniciar uma série de reacções químicas com produção de substâncias tóxicas para os agentes patogénicos, como o ião superóxido, peróxido de hidrogénio e óxido nítrico (NO).

Ao mesmo tempo, a IL-12 vai aumentar a citotoxicidade das células NK, que são também produtoras de IFN - γ (Solano-Gallego, 2001; Papa, 2007).

O IFN - γ , para além da activação dos macrófagos, é ainda responsável pela regulação dos níveis de IL-12 e pela supressão dos linfócitos Th2 $CD4^+$ (Solano-Gallego, 2001).

Existe alguma participação dos linfócitos T CD8⁺ na resposta celular, mas os seus benefícios centram-se, principalmente, na produção de IFN – γ . (Papa, 2007) No entanto, os animais resistentes mostram um aumento significativo desta população de linfócitos, assim como há uma relação inversamente proporcional entre os níveis destas células e a carga parasitária (Reis *et al.*, 2006).

Os títulos de anticorpos neste tipo de resposta são variáveis mas a IL-2, entre outras funções, é responsável pela activação de linfócitos B e pela produção de imunoglobulinas G2a (IgG2a) (Nieto *et al.*, 1999; Papa, 2007; Solano-Gallego, 2001).

5.2. RESPOSTA IMUNE NÃO EFECTIVA

Quando o sistema imunitário específico é activado, não ocorre activação individual dos linfócitos Th1 ou Th2. Existe um equilíbrio entre os dois subgrupos, uma vez que há produção de citocinas activantes e supressoras da resposta celular. Por algum motivo, ocorre uma sobreposição da supressão relativamente à indução da resposta celular que leva à persistência da infecção (Peixoto, 2009). Desta forma, animais que apresentam doença activa têm elevados títulos de anticorpos mas baixa proliferação de linfócitos específicos contra *Leishmania* nem reacção de hipersensibilidade retardada.

O mecanismo pelo qual existe esta supressão da resposta efectora não é muito bem conhecido. Alguns estudos apontam para o papel dos linfócitos T reguladores (Treg) CD4⁺ e CD25⁺ na supressão da resposta Th1 (Palatnik-de-Sousa, 2008). Actuam através da produção de factor de transformação do crescimento β (TGF – β), que suprime todo o sistema imune, mas parece ser menos efectivo na supressão da resposta Th2. Simultaneamente, os linfócitos Treg vão libertar IL-10 que actua em sinergismo com o TGF – β na supressão da resposta Th1 (Liew, 1983).

Na presença de IL-4 ocorre diferenciação dos linfócitos T CD4⁺ no subgrupo Th2, com consequente produção de IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 e TGF – β .

As citocinas IL-10, IL-13 e o TGF- β vão inibir a diferenciação e proliferação de linfócitos Th1, inactivando os macrófagos, ao passo que a IL-4 também desempenha a mesma função mas devido ao efeito supressor que tem sobre o IFN – γ .

Por outro lado, as interleucinas 4 e 5 vão estimular a proliferação e diferenciação dos linfócitos B e a produção de imunoglobulinas, activando a resposta humoral. As imunoglobulinas (Ig) mais produzidas são a E e a G1 (Solano-Gallego, 2001).

Embora a presença de anticorpos anti- *Leishmania* não possa ser conclusivo acerca da evolução da doença, alguns estudos revelam uma correlação entre os níveis de IgG1 e o aparecimento de sinais clínicos (Nieto *et al*, 1999).

6. PATOGENIA

Quando o organismo de um ser vivo é invadido por um agente patogénico, inicia-se uma sequência de reacções que evoluem no sentido de destruir esse agente. Para que a *Leishmania* se consiga instalar no organismo e multiplicar-se, necessita de uma série de mecanismos de evasão a essas respostas naturais do hospedeiro.

Existem dois grupos de moléculas parasitárias envolvidas no processo infeccioso da doença: as de superfície e as intracelulares. O primeiro grupo é constituído principalmente por moléculas de LPG, a glicoproteína 63 (gp63) (ou protease de superfície de promastigota), as quitinases e as fosfatases, sendo este grupo fundamental nos mecanismos de invasão e evasão do hospedeiro. O segundo grupo é constituído pelas histonas, proteínas de choque térmico e proteínas ribossómicas que, ao contrário das primeiras, necessitam que haja destruição do parasita para que possam ser processadas pelo sistema imunitário (Peixoto, 2009).

6.1. MECANISMOS DE EVASÃO NO VECTOR

A enzima quitinase, produzida pelos promastigotas nectomonas, rompe a MP e liberta-os no lúmen intestinal do vector, evitando a sua eliminação junto com o restante alimento.

Complementando a acção desta enzima, as moléculas de LPG (componentes abundantes da superfície dos promastigotas) funcionam como âncora e ligam os parasitas ao intestino do vector, impedindo desta forma a sua eliminação (Niederwieser, 2004).

6.2. MECANISMOS DE EVASÃO EXTRACELULAR

Aquando da transformação em promastigotas metacíclicos ocorrem alterações na composição das moléculas de LPG que impedem a ligação do MAC.

Para além disso, asgp63 de superfície fazem a clivagem da proteína C3b do complemento na sua forma inactiva C3bi, que actua como opsonizante e se liga ao receptor do complemento CR3 nos macrófagos, facilitando a fagocitose sem que haja activação do complemento (Castellano, 2005; Lorangeira, 2008).

6.3. MECANISMOS DE EVASÃO INTRACELULAR

O LPG inibe a proteína quinase C e impede a sua translocação até à membrana plasmática. Esta constitui uma enzima chave para o mecanismo de destruição por explosão oxidativa (Castellano, 2005).

Supõe-se, ainda que não esteja provado, que as moléculas de LPG inibem a fusão do fagossoma ao lisossoma, protegendo o promastigota da acção das enzimas proteolíticas e do pH ácido lisossomal. No caso de esta inibição falhar, a gp63 é responsável pela inactivação das mesmas enzimas (Larangeira, 2008).

Os amastigotas possuem várias enzimas de superfície que impedem o mecanismo de explosão oxidativa, como a superóxido dismutase (que combina os radicais superóxido formando oxigénio molecular e peróxido de hidrogénio) e a catalase (que degrada o peróxido de hidrogénio em oxigénio e água) (Rodriguez, 2003).

O LPG e moléculas de glicoinositolfosfolípido (GIPL) inibem de forma selectiva a IL-12 produzida pelos macrófagos. Ao controlar a expressão desta citoquina (principal indutora da produção de IFN- γ e da diferenciação dos linfócitos T), o parasita vai impedir o desenvolvimento de uma resposta imune efectiva (Castellano, 2005).

AS GPIs (proteínas ancoradas via glicofosfatidinositol) como a gp63 têm a capacidade de clivar as MHC classe II, diminuindo a sua expressão na superfície das APCs (Larangeira, 2008).

Por último, a *Leishmania* tem a capacidade de inibir a expressão da molécula B7-1 presente na membrana do macrófago. Esta molécula tem uma função co-estimulatória necessária para a apresentação aos linfócitos Th imaturos, ligando-se à proteína CD28 presente na membrana dos linfócitos Th e estimulando a sua diferenciação (Castellano, 2005; Larangeira, 2008).

7. SINAIS CLÍNICOS

A leishmaniose é uma doença sistémica que manifesta sinais de acordo com os órgãos afectados. Uma vez inoculada na pele, a *Leishmania* é transportada até aos órgãos do sistema reticuloendotelial, como os linfonodos e o baço. A partir daqui disseminam-se, por via linfática ou sanguínea, até ao fígado e rins, atingindo depois os outros tecidos, dos quais se destacam a pele, os olhos e a medula óssea.

O quadro clínico é muito variável devido à multiplicidade dos mecanismos patogénicos e à individualidade das respostas imunitárias (Corrales e Moreno, 2006).

As manifestações clínicas podem ser classificadas segundo dois grandes grupos: cutâneas ou viscerais. No entanto, ao contrário dos humanos, não existe uma verdadeira divisão entre as duas formas, sendo frequente a manifestação de ambos os tipos de lesão em simultâneo (Silva F.S., 2007).

No início da manifestação da doença o animal apresenta um quadro de síndrome geral inespecífico, manifestando perda de peso progressiva, astenia, febre, atrofia muscular (sobretudo nos músculos temporal e masséter), anorexia e linfadenomegália localizada ou generalizada (Corrales e Moreno, 2006). Esta hiperplasia ganglionar deve-se não só ao aumento do tamanho e do número de folículos linfóides, mas também à hipertrofia e hiperplasia dos macrófagos medulares (Baneth *et al.*, 2008).

Dentro das **manifestações cutâneas**, podemos ter manifestações cutâneas localizadas ou generalizadas.

A manifestação cutânea localizada de leishmaniose corresponde ao botão de inoculação (figura 26), que é uma lesão primária que ocorre no local de multiplicação inicial do parasita. Consiste numa lesão assimétrica, não prurítica e que aparece aos 20 dias de infecção. A sua evolução passa por três fases: lesão eritemo-escamosa, seguida de lesão úlcero-crostosa e lesão pré-cicatricial. As zonas mais comuns correspondem às zonas do corpo com menos pêlo, como o pavilhão auricular, lábios e zona abdominal (Corrales e Moreno, 2006; Guaguére *et al.*, 2008).

As lesões dermatológicas generalizadas ocorrem devido à disseminação orgânica do parasita. Observa-se frequentemente dermatite esfoliativa com alopecia, formação de úlceras crónicas nas zonas das orelhas e olhos (figura 27), transições mucocutâneas, proeminências ósseas e almofadas plantares, despigmentação nasal (figura 28), hiperqueratose e onicogribose (figura 29) (Guaguére *et al.*, 2008; Silva F.S., 2007). Menos frequentemente podem observar-se formas nodulares e pustulares da doença (Guaguére *et al.*, 2008). A primeira é caracterizada pelo aparecimento de nódulos pequenos, ulcerados ou não, indolores e não pruríticos nas zonas com pouco pêlo. Ocorrem mais frequentemente em raças de pêlo curto como o Boxer (Guaguére *et al.*, 2008). A forma pustular é caracterizada por uma erupção generalizada com lesões semelhantes a foliculite bacteriana mas com pústulas estéreis (Corrales e Moreno, 2006).



Figura 26: Botão de inoculação no pavilhão auricular de canídeo com leishmaniose. (adaptado de: aristocao.com)



Figura 27: Alopecia periocular com formação de úlceras em canídeo com leishmaniose. (adaptado de: lucianodinizvet.blogspot.com)



Figura 28: Despigmentação e úlcera do plano nasal em canídeo com leishmaniose (adaptado de: Flickr.com)



Figura 29: Onicogribose em canídeo com leishmaniose. (adaptado de: Flickr.com)

As alterações histopatológicas da pele correspondem a um infiltrado inflamatório composto por macrófagos, com alguns linfócitos e células plasmáticas. Foram descritos nove padrões inflamatórios cutâneos associados à leishmaniose, sendo os três mais comuns a perifoliculite granulomatosa, a dermatite perivascular superficial e profunda e a dermatite intersticial (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Os restantes padrões descritos são a dermatite de interface liquenóide, a dermatite nodular, a paniculite lobular, a foliculite supurativa e a dermatite pustulosa intraepidérmica (Scott, Miller e Griffin, 2002).

As **manifestações viscerais** estão dependentes dos órgãos afectados e do grau de lesão desses órgãos.

A afecção renal ocorre em quase todos os cães infectados com leishmaniose, incluindo os animais assintomáticos. Alguns estudos chegam a identificar lesões histológicas em 100% dos animais avaliados (Solano-Gallego *et al*, 2009). A deposição de imunocomplexos nos glomérulos provoca uma glomerulonefrite, inicialmente de carácter agudo, mas que pode evoluir para um síndrome nefrótico ou mesmo uma insuficiência renal (Corrales e Moreno, 2006). O aumento da creatinina e da ureia séricos só ocorre quando a maioria dos nefrónios estão afectados (Baneth *et al.*, 2008). A insuficiência renal crónica é a principal causa de morte em cães com leishmaniose (Solano-Gallego *et al*, 2009).

Os parasitas multiplicam-se nas células de Kupffer provocando lesão dos hepatócitos e, conseqüentemente, uma hepatite crónica activa e, ocasionalmente, hepatomegália, vómitos, poliúria/polidipsia e ascite (Corrales e Moreno, 2006; Noli, 1999).

A esplenomegália varia de ligeira a intensa, e pode nem sempre estar presente (10-53% dos casos). É provocada pelo aumento do número de monócitos e macrófagos parasitados e por alterações na estrutura da microcirculação causadas pelos parasitas. Para além disso, observa-se uma desorganização da estrutura da polpa branca e diminuição da zona cortical, que se encontra intensamente parasitada.

As oftalmopatias são, muitas vezes, o primeiro sinal aparente da doença. Envolvem, maioritariamente, o segmento anterior do olho, como por exemplo a dermatite peri-orbitária com blefarite associada, queratoconjuntivite seca (devido à acção destrutiva dos parasitas nos ductos lacrimais, causando retenção e diminuição da produção de lágrima), conjuntivite granulomatosa e uveíte anterior. Outras alterações menos comuns são o descolamento da retina e/ou hemorragias retinianas secundárias a hipertensão arterial (Noli, 1999; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A atrofia muscular progressiva deve-se ao desenvolvimento de polimiosite crónica caracterizado pela presença de amastigotas nas células musculares e depósitos de IgG no tecido muscular (Baneth *et al*, 2008).

Os animais apresentam-se, por vezes, com poliartrites erosivas e não-erosivas, em que os ossos envolvidos revelam lesões de osteólise a nível cortical e medular (Baneth *et al*, 2008).

Em 6-10% dos casos observa-se epistáxis, geralmente unilateral (figura 30) (Baneth, *et al*, 2008). Esta manifestação resulta da presença de lesões ulcerativas na mucosa nasal associado a deficiência na coagulação. .

A lesões respiratórias não são frequentes em animais com leishmaniose, mas encontram-se descritas. O processo inflamatório pulmonar pode desenvolver-se segundo dois mecanismos. Um é consequente da imunossupressão causada pela doença, que leva ao desenvolvimento de pneumonias por infecções bacterianas oportunistas (Silva F.S., 2007). O outro



Figura 30: Epistáxis em canídeo com leishmaniose causada por *Leishmania infantum* (adaptado de Flickr.com)

mecanismo está relacionado com a patogenia da doença e foi descrito por Gonçalves e colaboradores (2003) como uma pneumonite intersticial crónica, difusa e intensa, com um infiltrado composto por macrófagos, linfócitos e plasmócitos (Gonçalves *et al.*, 2003).

Outras alterações como diarreia (devido a colite ulcerativa granulomatosa), patologia cardíaca, tromboembolismo e neuropatias (devido à presença de anticorpos no líquido cefalorraquidiano) são menos frequentes (Corrales e Moreno, 2006; Noli, 1999).

8. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de leishmaniose é difícil não só devido ao quadro inespecífico, mas também à caracterização histopatológica (muito semelhante a outras doenças infecciosas e auto-imunes) e à inexistência de um teste que nos ofereça 100% de especificidade e de sensibilidade (Noli, 1999).

No entanto, o quadro clínico e uma anamnese completa com dados como o habitat, tipo de actividade do animal, tempo de exposição ao vector e zona geográfica, formam um conjunto base válido para orientar o diagnóstico. Em zonas endémicas, ou durante epidemias, é um diagnóstico diferencial a ter em conta sempre que haja pelo menos um sinal clínico característico de leishmaniose.

8.1. MÉTODOS PARASITOLÓGICOS

Os métodos de diagnóstico directo têm uma especificidade de 100% mas uma sensibilidade baixa. Consistem na pesquisa e identificação do organismo em preparações citológicas.

A citologia e a histopatologia constituem os métodos mais rápidos. As análises citológicas obtidas por PAAF podem ser feitas a partir do gânglio linfático e/ou da medula óssea (da junção costo-condral, crista-ilíaca ou fémur) (Noli, 1999). A sensibilidade do teste é de cerca 60-75% e 30-50%, respectivamente para amostras colhidas de medula e de linfonodos.

O melhor método de coloração é o de May-gruenewald-Giemsa, onde os parasitas aparecem com forma oval pequena, citoplasma azul pálido e núcleo grande (figura 31) (Noli, 1999; Maia e Campino, 2008).

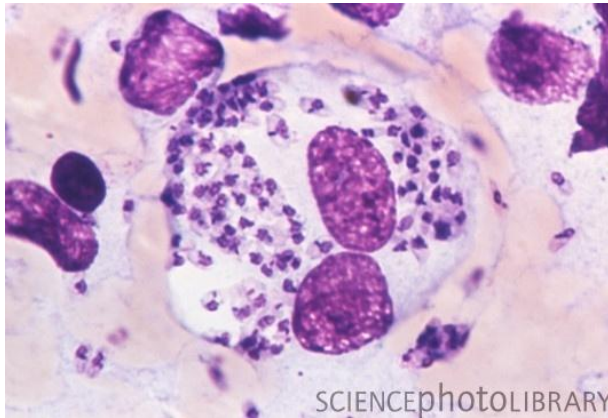


Figura 31: Imagem de um macrófago contendo formas amastigotas de *Leishmania donovani* obtida a partir de punção de baço (adaptado de: <http://www.sciencephoto.com>).

A imunohistoquímica é uma técnica que permite identificar os antígenos em células e tecidos, através da sua

reação com anticorpos específicos. Os anticorpos previamente conhecidos são marcados com cromogénios e, quando ligados aos antígenos, vão emitir cor permitindo a sua visualização ao microscópio óptico (Maia e Campino, 2008; Peixoto, 2009). Esta técnica aumenta a sensibilidade da histopatologia para 92% (Moreira *et al*, 2007).

Para além destes testes, pode ainda ser feita uma cultura e isolamento a partir de tecidos infectados em meios, como o Novy- MacNeal-Nicolle, onde se observam as formas promastigotas). No entanto, devido a factores como a demora na obtenção de resultados, a susceptibilidade à contaminação microbiológica e a dependência da carga parasitária da amostra, não um método muito utilizado (Maia e Campino, 2008).

8.2. MÉTODOS SEROLÓGICOS

Os testes de detecção de anticorpos específicos anti-*Leishmania* têm altos níveis de sensibilidade e de especificidade. No entanto, não podem ser utilizados como único meio de diagnóstico, uma vez que podem gerar resultados falsos positivos em animais assintomáticos que tenham contactado com o agente, ou falsos negativos em animais

que estejam numa fase pré-patente e ainda não tenham iniciado a produção de anticorpos (Noli, 1999). De todos os testes serológicos apresentados, os mais utilizados são a imunofluorescência indirecta e o teste imunoenzimático ELISA.

A imunofluorescência indirecta (IFI) é considerada o teste serológico de eleição para o diagnóstico de *Leishmania*, devido à sua alta sensibilidade e especificidade. É utilizada para estudos epidemiológicos, prática clínica e para o seguimento da doença durante e após o tratamento (Maia e Campino, 2008). Tem uma sensibilidade de 83 a 100% e especificidade entre 74 e 100% (Silva S.M., 2007). Consiste na detecção de anticorpos específicos anti-*Leishmania* através de conjugados (anti-imunoglobulina + fluorocromo) e observação ao microscópio de fluorescência.

O teste ELISA (*Enzyme-linked immunosorbent assay* ou Ensaio de imunoabsorção enzimática) tem uma elevada sensibilidade em animais assintomáticos (94,1 - 100%) e sintomáticos (100%) (Maia e Campino, 2008), e uma especificidade compreendida no intervalo 88-100% (Silva S.M., 2007). Utiliza uma solução conhecida de antigénios à qual se adiciona a amostra de soro, ocorrendo ligação dos anticorpos específicos. No fim adiciona-se o conjugado (anti-imunoglobulina + enzima) que, na presença das imunoglobulinas específicas, vai ligar-se a estas e reagir com o cromogéneo.

Immunoblot é uma técnica qualitativa que utiliza proteínas isoladas por electroforese em gel de poliacrilamida e transferidas para uma membrana de nitrocelulose. Esta membrana é mergulhada na amostra de soro a testar, formando um precipitado na presença de anticorpos específicos (Isaza *et al*, 1997).

Os testes rápidos de imunocromatografia têm baixa especificidade (61-75%) mas são altamente atractivos pela imediata apresentação de resultados. Utilizam uma banda impregnada com o antigénio rK39 e, para alguns autores, são a forma ideal para utilizar quando se pretende resultado imediato (Maia e Campino, 2008; Silva, 2005).

O teste de aglutinação directa utiliza diluições em série da amostra contendo os anticorpos (soro ou plasma) aplicadas em quantidades constantes de partículas de antigénio insolúveis, na sua forma íntegra ou fragmentada. Apesar de alguns autores referirem que é também um bom método para utilizar em campo, necessita de um período de incubação de 18 horas, o que constitui uma limitação. A sua especificidade e sensibilidade são inferiores à dos testes de IFI e ELISA (84.9 – 100 e 70.6%-100%, respectivamente) (Maia e Campino, 2008; Silva, 2005).

A citometria de fluxo é uma técnica utilizada para contar, examinar e classificar partículas microscópicas suspensas em meio líquido em movimento, analisando as características físicas e/ou químicas de cada célula. O citómetro de fluxo mede as propriedades de dispersão de luz pelas células e a emissão de luz dos anticorpos associados a fluorocromos ligados à superfície das células. Permite analisar tanto a resposta humoral como a celular, uma vez que é possível marcar as diferentes subpopulações de células da linhagem branca (Maia e Campino, 2008).

O teste de Montenegro detecta uma reacção de hipersensibilidade retardada à *Leishmania*. Desde que foi descoberta a existência de uma resposta celular específica contra *Leishmania*, estes testes têm sido utilizados para controlos epidemiológicos pois detectam animais infectados que não apresentam sinais clínicos. Consiste na inoculação intradérmica de uma suspensão de promastigotas inactivados, sendo positivo quando há formação de uma pápula de diâmetro superior a 5 milímetros às 48-72h seguintes (Maia e Campino, 2008).

A medição dos níveis de IFN γ produzidos pelas células mononucleares é um bom método para avaliar o nível de resposta celular no hospedeiro.

8.3. MÉTODOS DE BIOLOGIA MOLECULAR

Dentro dos métodos de diagnóstico existem ainda as técnicas de biologia molecular para pesquisa do parasita, nomeadamente a reacção em cadeia de polimerase (PCR). É um método qualitativo muito sensível que consiste na amplificação de uma sequência de oligonucleótidos específicos de *Leishmania*, utilizando uma reacção de polimerização mediada por uma enzima termo-resistente (Taq polimerase). Tem como grande vantagem o facto de ser possível utilizar um grande leque de amostras como sangue, aspirados de medula óssea ou linfonodos, biopsias de pele e urina, mas as amostras a partir de medula óssea, pele e linfonodos são as que conferem maior sensibilidade (Silva S.M., 2007).

Se, por outro lado, queremos ter uma estimativa do número de parasitas, podemos utilizar a técnica *real-time* PCR (RT-PCR). Esta é uma técnica quantitativa que utiliza um marcador de flúor que, no final de cada ciclo de amplificação do ácido nucleico, vai emitir um sinal fluorescente que é captado por um sistema óptico e convertido em gráfico. As vantagens desta técnica em relação ao PCR convencional são o menor risco de contaminação, maior sensibilidade e menor tempo de execução (Maia e Campino,

2008). É um método óptimo para monitorizar a carga parasitária do animal durante o tratamento.

8.4. PROVAS COMPLEMENTARES

Existem determinadas provas que, apesar de inespecíficas, podem auxiliar no diagnóstico da leishmaniose.

O hemograma evidencia anemia normocítica normocrómica (não regenerativa) em cerca de 50 a 70% dos pacientes, devido a perdas sanguíneas por epistaxis e ulcerações da pele, à presença de uma infecção crónica ou insuficiência renal crónica. Alguns casos podem desenvolver trombocitopenia por supressão da medula óssea (Silva S.M., 2007; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

O leucograma permanece inalterado em grande parte dos casos mas, quando ocorre alteração, observa-se mais frequentemente leucopenia com eosinopenia, neutropenia e linfocitose.

A coagulação e a fibrinólise são afectadas pelo próprio parasita, verificando-se um aumento do tempo de trombina e do tempo de tromboplastina parcial activada, e aumento dos produtos de degradação do fibrinogénio. (Abreu, 2008)

No perfil bioquímico hepatorenal podemos observar um aumento da ALT, da AST e da FAS se houver compromisso do fígado, ou da ureia e da creatinina no caso de haver compromisso dos rins (Silva S.M., 2007).

Na maioria dos casos existe perda proteica através da urina, o que pode ser comprovado através de urianálise. O rácio proteína: creatinina urinário apresenta valores superiores a 0,5 (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Para além disso, observa-se, ainda, um aumento das proteínas totais, com hipoalbuminémia e hiperglobulinémia. (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

O maior destaque das provas complementares vai para o proteinograma (figura 32) que consiste na determinação dos valores das diferentes fracções proteicas: albumina e globulinas alfa (α), beta (β) e gama (γ).

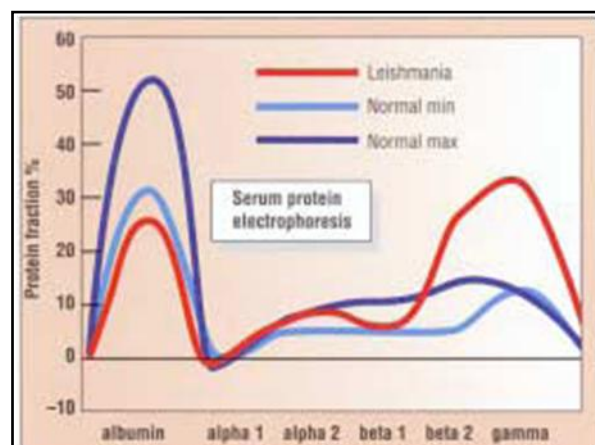


Figura 32: Gráfico com a representação de proteinograma normal (limites máximo a azul escuro e mínimo a azul claro) e proteinograma característico de leishmaniose (a vermelho). (adaptado de Noli, 1999)

Em animais com leishmaniose existe uma hiperproteinémia marcada por hiperglobulinémia, especialmente das β e γ , permanecendo as α em níveis normais. As β -globulinas 1 e 2 aumentam logo na fase inicial da doença, seguida das γ -globulinas. Para além disso, também há diminuição da albumina sérica devido a má nutrição, doença hepática ou a perdas na urina devido às nefropatias (Noli, 1999; Solano-Gallego *et al*, 2009).

Estas provas, ainda que não sejam feitas para o diagnóstico, devem ser sempre feitas antes de instituir o tratamento.

9. TRATAMENTO

Apesar de o tratamento para a leishmaniose canina atingir a cura da doença clínica, raramente consegue eliminar completamente infecção, o que faz com que, muitas vezes, haja recidiva. Na verdade, alguns cães mostraram ser fontes de infecção para os flebotómídeos mesmo após tratamento (Palatnik-de-Sousa *et al*, 2004). Isto faz com que o abate de animais seropositivos seja praticado em alguns países onde a doença é endémica, como é o caso da China e do Brasil, numa tentativa de interromper o ciclo peri-doméstico (Palatnik-de-Sousa *et al*, 2004). No entanto existe ainda muita controvérsia em torno desta medida, uma vez que é uma medida de controlo dispendiosa (requer programas de vigilância, testes de diagnóstico serológico e o abate dos animais infectados) e o seu impacto na doença humana é limitado (Nascimento *et al*, 2008). Alguns estudos efectuados sugerem que a adopção desta medida por si só não chega para a interrupção da transmissão, sendo necessário controlar também a população de vectores e de animais errantes e outros canídeos silvestres nas zonas endémicas. Outro facto que dificulta a adopção desta medida é o de muitos animais seropositivos serem assintomáticos, o que leva a uma difícil aceitação por parte dos proprietários que mantêm uma relação afectiva muito próxima com o seu animal de estimação (Almeida, 2009; Nascimento *et al.*, 2008).

Em Portugal, a eutanásia dos animais é apenas praticada nos casos em que os donos não optem pelo tratamento, ou uma vez que a doença é mortal e, sem tratamento, eleva os riscos de transmissão. Esta afirmação encontra-se de acordo com o Decreto-Lei nº314/2003 de 17 de Dezembro.

Por outro lado, a opção de tratar os animais infectados também é bastante debatida. As sucessivas recidivas implicam a repetição de ciclos de tratamento ineficazes que podem levar à selecção de linhagens de parasitas resistentes aos medicamentos actuais. Isto

constitui um perigo não só para os cães mas também para a saúde humana porque as opções terapêuticas são iguais para ambas as espécies (Larangeira, 2008).

Desta forma, a realização ou não de tratamento deve ser bem avaliada e ponderada. Normalmente, em casos severos da doença é recomendada a eutanásia. Esta decisão é baseada em vários factores, como o carácter crónico e incurável da doença e o aumento da possibilidade de transmissão ao Homem e a outros animais. Para além disso é necessário avaliar o sentido de responsabilidade dos proprietários dos animais para garantir que o tratamento é efectuado correctamente, já que vai ter de continuar durante toda a vida do animal.

Uma vez que não existe cura completa para a leishmaniose, considera-se um tratamento eficaz aquele que provoque remissão completa dos sinais clínicos com diminuição da carga parasitária. Para que isto ocorra tem de haver a estimulação de uma resposta celular específica e diminuição das concentrações de anticorpos.

A escolha do tratamento deve ser sempre precedida de um perfil bioquímico para avaliar a evolução das lesões em órgãos como o fígado e os rins. Para além disso, devem realizar-se testes para avaliar o título de anticorpos (como a imunofluorescência indirecta, apesar do seu fraco valor quando utilizada individualmente na monitorização da doença), e um proteinograma, de modo a ter valores de referência para controlar a evolução da doença durante e depois do tratamento.

9.1. ANTIMONIAIS PENTAVALENTES

O antimoniato de meglumina e o stibogluconato de sódio constituem, desde há vários anos, a primeira linha de escolha para o tratamento da leishmaniose canina, apesar de actualmente a tendência estar a direccionar-se para a associação entre fármacos diferentes.

O seu mecanismo de acção não é muito bem conhecido, mas pensa-se que inibem selectivamente as enzimas da *Leishmania* responsáveis pela oxidação de ácidos gordos e pela glicólise, bloqueando o seu metabolismo (BRASIL. Ministério da Saúde, 2007).

Não é absorvido quando administrado por via oral, mas a sua administração por via parenteral é rapidamente absorvida e, em poucas horas, a maior parte já foi eliminada na urina. A via subcutânea é a mais indicada pois confere maior biodisponibilidade e tempo de semi-vida (Noli, 1999). Uma vez absorvido converte-se na sua forma

trivalente, que é mais tóxica para o hospedeiro e para o parasita do que a pentavalente (Neves, 2008).

O antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) deve ser administrado numa dose de 75 - 100 mg/kg uma vez ao dia (SID) durante 3 a 4 semanas. Existem, no entanto, autores que defendem que o tratamento deve ser feito em séries de 15 dias com intervalos iguais (Corrales e Moreno, 2006; Paixão, 2008).

O stibogluconato de sódio (Pentostam[®]) tem uma administração diária de 10-50 mg/kg/dia, por via subcutânea, durante 10 – 30 dias (Noli, 1999).

O primeiro tem menos efeitos tóxicos sobre o fígado e o pâncreas que o segundo (Neves, 2008), mas ambos podem desencadear efeitos adversos como febre, mialgias, artralgias, diarreias, apatia, inapetência e toxicidade hepática, renal e/ou cardíaca (Corrales e Moreno, 2006).

A formulação de antimoniato de meglumina encapsulado em lipossomas é vantajosa no sentido em que permite obter maiores concentrações no soro, menor excreção renal e um nível de toxicidade mais baixo. Para além disso, os lipossomas são fagocitados pelos macrófagos, permitindo-lhe exercer a sua acção no fagolisossoma onde o parasita se encontra (Valladares *et al*, 2001).

Infelizmente, o uso prolongado destes fármacos no tratamento da leishmaniose canina e humana, levou ao aparecimento de resistências em alguns parasitas (BRASIL. Ministério da Saúde, 2007).

9.2. ANÁLOGOS DAS PURINAS

O alopurinol é um análogo da hipoxantina que, depois de metabolizado pela *Leishmania*, origina uma forma inactiva de inosina. Este análogo da inosina é incorporado no ácido ribonucleico (RNA) do parasita, alterando a sua síntese proteica e induzindo a síntese de proteínas anormais. Estes fármacos não são tóxicos para o hospedeiro porque, ao contrário do parasita, os mamíferos conseguem sintetizar purinas (Baneth e Shaw, 2002; Noli, 1999).

O seu efeito é leishmanioestático no sentido em que impede a multiplicação dos parasitas e, quando utilizado em terapia monovalente, o nível de remissão dos sinais clínicos é semelhante ao do antimoniato de meglumina, sendo incapaz de eliminar completamente os parasitas do organismo do hospedeiro (Baneth e Shaw, 2002; Lamothe, 2010).

O método de administração mais adequado varia consoante os autores, mas deve ser administrada uma dose 15-30 mg/kg SID ou dividida em duas tomas diárias (BID), por via oral, durante pelo menos 6 a 12 meses (Baneth e Shaw, 2002; Lamothe, 2010; Silva S.M., 2007; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Durante o período de administração deste fármaco é necessário monitorizar os rins e o fígado, uma vez que o seu uso prolongado pode levar ao aparecimento de xantinúria e formação de urólitos de xantina (Baneth e Shaw, 2002).

Vários autores referem a importância e eficácia de uma terapêutica de manutenção com alopurinol para evitar recidivas de doença em pacientes em que a cura foi bem sucedida (Baneth e Shaw, 2002; Noli, 1999; Silva S.M., 2007). No entanto, foi feito um estudo na Grécia cujo resultado revelou que era uma terapia ineficaz em zonas endémicas, desencorajando mesmo o uso deste protocolo sob pena de se virem a desenvolver resistências (Saromichelakis *et al.*, 2005).

9.3. ASSOCIAÇÃO ANTIMONIATO DE MEGLUMINA- ALOPURINOL

A associação entre o antimoniato de meglumina e o alopurinol é um dos protocolos de tratamento mais utilizados, hoje em dia, em medicina veterinária (Ciaramella e Corona, 2003b; Silva, 2007). Os dois fármacos têm acção sinérgica culminando num aumento da eficácia e diminuição do número de recidivas da doença. Por um lado temos o efeito leishmanicida da meglumina, enquanto por outro o alopurinol inibe o desenvolvimento dos parasitas que resistiram ao tratamento com o primeiro. Apesar de não conseguir eliminar toda a carga parasitária, este protocolo com os dois fármacos associados revela um maior declínio da carga parasitária do que quando utilizados individualmente, diminuindo a infecciosidade para os flebotómídeos (Silva S.M., 2007).

9.4. MILTEFOSINA

A miltefosina (Milteforan[®]) é um agente alquilfosfolípido que foi primeiro estudado quanto às suas propriedades anti-neoplásicas. A sua acção está relacionada com a alteração da biossíntese de glicolípidos e de glicoproteínas da membrana do parasita, induzindo a morte do parasita. Actua através da inibição da síntese de fosfolípidos da membrana das células cancerígenas e da *Leishmania* (Corrales e Moreno, 2006). Para além das propriedades leishmanicidas, também tem alguma acção imunoestimuladoras, uma vez que induz a activação de linfócitos T e de macrófagos, estimulando a produção

de compostos de oxigénio e azoto responsáveis pela morte dos parasitas (Baneth e Shaw, 2002).

Tem a vantagem de não produz efeitos tóxicos no rim e no fígado, pelo que constitui uma boa opção para pacientes com insuficiência renal. Os animais sob tratamento com este fármaco podem desenvolver efeitos secundários de origem gastrointestinal como vómitos, diarreia e anorexia, mas geralmente são de carácter auto-limitante (Corrales e Moreno, 2006). A dose recomendada é de 2-3 mg/kg/dia, por via oral, durante 28 dias.

9.5. ASSOCIAÇÃO MILTEFOSINA- ALOPURINOL

A associação de miltefosina com alopurinol também é uma boa opção terapêutica. Um estudo realizado em Itália em 28 cães testou um protocolo com uma dose de 2 mg/kg/dia de miltefosina, administrada por via oral durante 30 dias, e uma dose de 10 mg/kg/dia de alopurinol, por via oral, durante 12 meses. Os resultados demonstram uma boa eficácia (na remissão da doença, mas este tratamento não consegue eliminar os parasitas existentes nos linfonodos, pelo que alguns dos animais tiveram recidiva da doença (Manna *et al.*, 2009).

9.6. ANFOTERICINA B

Macrólido poliénico produzido pelo *Streptomyces nodosus*. Foi primeiramente utilizado como anti-fúngico mas também é activo contra os organismos da leishmaniose. Liga-se à fracção ergosterol da membrana celular dos parasitas, causando a sua ruptura e, consequentemente, a morte do parasita (Baneth e Shaw, 2002). Embora em menor grau, existe alguma afinidade entre esta substância e o colesterol dos mamíferos que, em parte, explica o seu efeito nefrotóxico. Para além de provocar lesão directa nas células dos túbulos renais, produz um efeito de vasoconstrição com diminuição da taxa de perfusão renal (Sherding, 2006). Outros efeitos secundários incluem flebite, hipertermia e vómitos (Noli, 1999).

Existem vários protocolos utilizados mas o mais utilizado foi publicado por Lamothe (1997) que recomenda uma dose de 0,5 – 0,8 mg/kg diluídos em 10 a 20 ml de soro glicosado, por via intravenosa lenta (5- 10 minutos) cada três dias, até alcançar uma dose cumulativa total de 8- 10 mg/Kg (Corrales, 2007). Durante a sua utilização deve haver uma monitorização atenta da função renal e, sempre que os valores de creatinina ultrapassarem os 2,5 mg/dl deve-se suspender o tratamento (Sherding, 2006).

O potencial tóxico e o protocolo de difícil execução fazem da anfotericina B uma dose de segunda escolha, reservando-lhe apenas os casos resistentes ao tratamento com antimoniato de meglumina (Noli e Auxilia, 2005).

Entretanto foram desenvolvidas formulações lipídicas de anfotericina B, destacando-se a sua incorporação em lipossomas (AmBisome[®]) que permitem a sua administração em doses mais altas (3 mg/kg). A anfotericina B lipossomal é bastante menos nefrotóxica, mas a sua utilização em animais de companhia é limitada devido ao seu elevado custo (Noli, 1999).

9.7. AMINOSIDINA

O sulfato de aminosidina é um antibiótico aminoglicosídeo que tem sido utilizado para o tratamento da leishmaniose visceral humana em África e na Europa. Apesar de a sua eficácia ser semelhante à do antimoniato de meglumina, é um fármaco com elevada nefrotoxicidade e ototoxicidade. Alguns autores afirmam que a dose efectiva para a remissão dos sinais clínicos é uma dose tóxica para o animal (Baneth e Shaw, 2002). No entanto, outros afirmam que a sua utilização numa dose de 5 mg/kg BID, por via subcutânea, durante 3 a 4 semanas tem uma taxa de sucesso elevada (86,6 – 100%) e é bem tolerada pela maioria dos animais (efeitos secundários reversíveis sobre os rins e aparelho vestibular foram observados em 5- 8% dos animais) (Manna *et al.*, 2009).

9.8. PENTAMIDINA

É uma molécula eficaz na cura da doença mas a maioria dos animais tem recidiva alguns meses após o tratamento. A sua administração intramuscular causa dor e irritação na zona da injeção e tem como principais efeitos secundários hipotensão, taquicardia e vómito. O protocolo terapêutico requer oito injeções com uma dose de 4 mg/kg, por via intramuscular, a cada três dias (Baneth e Shaw, 2002).

9.9. MARBOFLOXACINA

A marbofloxacina (Marbocyl[®]) é uma fluoroquinolona de terceira geração de uso exclusivamente veterinário. Inibe a enzima topoisomerase II das bactérias, necessária para a duplicação do ácido desoxirribonucléico (DNA) (Rougier *et al.*, 2008). Tem elevada biodisponibilidade, quando administrada por via oral, e difunde-se amplamente no organismo. Pensa-se que tem capacidade de se manter intracelularmente, sendo transportada pelos macrófagos e outros fagócitos até aos locais de infecção. Para além

da actividade directa sobre os parasitas, um estudo *in vitro* orientado por Vouldoukis (2006) revela que a marbofloxacina pode ter actividade imunomoduladora, induzindo a produção de monóxido de azoto (Vouldoukis *et al*, 2006).

O tempo de semi-vida deste fármaco é longo, o que permite que seja aplicada uma vez ao dia. Um outro estudo em animais infectados naturalmente mostra que uma dose de 2 mg/kg, por via oral durante 28 dias foi eficaz na remissão da doença, diminuição da carga parasitária e não provocou reacções adversas nos animais. Apesar de ainda ser necessária uma pesquisa mais aprofundada sobre os mecanismos de acção da marbofloxacina, parece ser uma alternativa promissora para o tratamento da leishmaniose canina (Rougier, *et al*, 2008).

9.10. OUTROS FÁRMACOS E ASSOCIAÇÕES MEDICAMENTOSAS

Outras substâncias têm vindo a ser investigadas quanto ao seu uso para o tratamento da leishmaniose canina. O **cetoconazol** revelou uma efectividade mais baixa que o antimoniato de meglumina na redução da carga parasitária hepática, mas desenvolveu uma forte acção contra os parasitas presentes no baço. (Baneth e Shaw, 2002) É necessário desenvolver uma maior base científica quanto a este anti-fúngico, mas um estudo realizado em 14 cães com leishmaniose houve 70% de sucesso na remissão da doença clínica (Noli e Auxilia, 2005).

Um protocolo com uma dose de 5 mg/kg de **buparvaquona**, por via intramuscular a cada 4 dias, num total de 4 injeções, foi testado em 7 cães para o tratamento da leishmaniose visceral. Todos os animais permaneceram sintomáticos e positivos à pesquisa de parasitas (Vexenat *et al*, 1998). O **metronidazol** também tem vindo a ser estudado em associação com outros fármacos (espiramicina e enrofloxacina). É considerado um bom agente leishmanicida *in vitro* contra a leishmaniose visceral humana (Ciaramella e Corona, 2003b). A combinação de metronidazol com espiramicina (Stomorgyl), para além de utilizada em afecções buco-dentárias e faríngeas de origem infecciosa em cães e gatos, também pode ser utilizada para tratar cães com leishmaniose, não sendo, no entanto, das terapêuticas mais eficazes. Num estudo publicado por Pennisi *et al*. (2005), a combinação de 25 mg/kg de metronidazol e 150000 UI/kg de espiramicina foi administrada a 14 cães por via oral, uma vez ao dia, durante 13 semanas. Um grupo controlo constituído por 13 cães foi tratado com uma associação de antimoniato de meglumina com alopurinol. A associação de metronidazol

com espiramicina atingiu uma remissão de doença de 57%, mas todos os animais permaneceram PCR positivos (Pennisi *et al.*, 2005).

A associação de metronidazol numa dose de 10 mg/kg com enrofloxacina a 20 mg/kg também foi estudada por Bianciardi *et al.* (2004). Este protocolo foi administrado a 12 animais, uma vez por dia, durante 4 semanas. Outro grupo controlo de 12 cães foi tratado com antimoniato de meglumina, durante o mesmo período. A remissão da doença ocorreu em 70% dos animais tratados com a associação, sem registo de efeitos secundários, mas 50% dos animais apresentaram recidiva nos 3 meses seguintes ao tratamento.

O mesmo estudo também testou um protocolo monovalente com enrofloxacina, numa dose de 20 mg/kg, durante as mesmas 4 semanas, mas apenas 50% dos animais atingiram a cura clínica, ocorrendo a mesma taxa de recidivas (50%) da doença.

9.11. IMUNOTERAPIA

A imunoterapia pode ser utilizada como coadjuvante da terapia convencional, numa tentativa de estimular a resposta celular do sistema imunitário. De acordo com o tipo de acção, podemos dividir os imunomoduladores em dois grupos: os imunoestimulantes e os imunossuppressores.

2.1.2. Imunoestimulantes

Os imunoestimulantes são substâncias que actuam no sistema imunológico promovendo o aumento da resposta orgânica contra microorganismos como vírus, bactérias e protozoários, mediante a produção de interferão e seus indutores (Appolinário *et al.*, 2007).

Como já foi referido anteriormente, é fundamental que haja uma resposta celular eficaz para que haja remissão dos sinais. Como já foi provado em vários estudos, os animais que manifestam sinais clínicos desenvolvem uma resposta celular mediada por linfócitos Th2. A inclusão de citoquinas na terapêutica destes cães seria uma boa forma de despoletar uma resposta mediada por linfócitos Th1, bem como de aumentar a capacidade fagocítica dos macrófagos (Noli, 1999). Em humanos com leishmaniose, verificou-se que a utilização de IFN- γ permite diminuir a dose de antimoniato devido ao aumento da taxa de morte intracelular do parasita.

2.1.3. Imunossupressores

As substâncias imunossupressoras actuam no sistema imunológico inibindo-o total ou parcialmente (Kindt *et al*, 2006). O seu uso, no tratamento da leishmaniose, tem como objectivo diminuir a concentração de complexos de antigénio-imunoglobulina para diminuir as lesões causadas pela deposição destes imunocomplexos (Alvar *et al*, 2004). Os corticosteróides são os fármacos de acção imunossupressora mais utilizados no tratamento da leishmaniose canina, sendo esse uso sempre associado a um protocolo de terapêutica específica (Ciaramella e Corona, 2003b). A sua utilização reserva-se a animais em que a terapia com antimonio de meglumina não seja indicada, como é o caso de animais com insuficiência renal devido a deposição de imunocomplexos (Alvar *et al.*, 2004). Recomenda-se a dose diária de 1 mg/kg de prednisolona associada a alopurinol, até que os valores de creatinina e ureia séricos normalizem (Appolinário *et al.*, 2007; Noli, 1999).

9.12. TERAPIA DE SUPORTE E MONITORIZAÇÃO

A terapêutica de suporte instituída depende do estado clínico do animal quando se apresenta à consulta. Dependendo do tipo de lesão pode ser necessário iniciar uma terapia para equilibrar o estado clínico do animal antes de se iniciar o tratamento.

A insuficiência renal é a manifestação mais vezes encontrada em animais infectados. Deve-se iniciar de imediato uma fluidoterapia adequada para corrigir os desequilíbrios electrolíticos e estimular a diurese (e, conseqüentemente, a excreção de substâncias azotadas). Para além disso, o paciente deve iniciar uma dieta com baixo teor de proteínas, fósforo e sódio.

As manifestações cutâneas da leishmaniose podem, frequentemente, levar ao desenvolvimento de piodermas secundárias, pelo que é necessário instituir uma antibioterapia eficaz para o tratamento (Ciaramella e Corona 2003b).

A monitorização do tratamento pode ser feita através de análises serológicas por IFI, verificando-se uma diminuição progressiva da concentração de IgG e de IgA associada à remissão dos sinais clínicos (Solano-Gallego *et al*, 2009). No entanto, esta informação não pode ser utilizada individualmente, pois nem sempre a regressão dos sinais clínicos é acompanhada de diminuição do título de anticorpos, pelo que se deve também controlar o proteinograma. A eficácia do tratamento traduz-se na normalização dos valores de globulinas (Ciaramella e Corona, 2003b; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Um animal considera-se curado quando apresentar valores de bioquímica e hemograma normalizados, remissão completa das manifestações clínicas e dois testes PCR – negativos com um intervalo de 6 meses.

10. PREVENÇÃO E CONTROLO

Uma vez que os tratamentos existentes não são eficazes na eliminação dos parasitas, a melhor forma de controlar a propagação desta doença é adoptando medidas que previnam a infecção ou que permitam um diagnóstico precoce. Essas medidas têm como objectivo interromper o ciclo de transmissão a vários níveis.

10.1. CONTROLO DO VECTOR

As estratégias de controlo de vectores incidem apenas sobre as formas adultas, já que existe ainda pouca informação acerca dos locais onde as formas larvares permanecem e se desenvolvem (Beaty *et al*, 1996). Estas medidas visam a diminuição da população de vectores e a diminuição do contacto entre vector e hospedeiro (Maroli, 2010).

Uma boa forma de controlar as espécies de flebotómídeos peri-domésticas é através do uso de insecticidas de acção residual nos domicílios e nos canis. O primeiro insecticida a ser utilizado no controlo de vectores da leishmaniose foi o dicloro-difenil-tricloroetano, mas os mais utilizados recentemente têm sido os organofosfatos (chlorpyrifos-methyl), carbamatos (propoxur) e outros piretróides (deltametrina, cipermetrina, alfa-cipermetrina e lambda-cialotrina) (Maroli, 2010). Por outro lado, novas pesquisas estão a apontar para o uso de bioinsecticidas e de plantas insecticidas para evitar a aproximação dos vectores às áreas domésticas (Amóra *et al.*, 2009).

Outras formas de controlar esta doença incluem regras básicas de higiene e sanidade por parte da população humana, que permitem reduzir a formação de microhabitats favoráveis perto das habitações e dos abrigos dos animais. A limpeza periódica dos canis e outros pontos de abrigo, a limpeza frequente dos quintais e terrenos e o acondicionamento adequado dos desperdícios orgânicos, diminuem as condições propícias para a formação de nichos por parte dos vectores (Amóra *et al.*, 2009; Solano-Gallego *et al*, 2009). Em áreas onde a população de flebótomos é muito densa é de ponderar o uso de redes de malha fina para proteger os acessos às casas e aos canis. Por último, mas não menos importante, deve-se sempre evitar a exposição directa durante os períodos de maior actividade dos dípteros.

10.2. CONTROLO DOS HOSPEDEIROS RESERVATÓRIOS

Dentro deste grupo incluem-se várias espécies, incluindo domésticas e silvestres. No entanto, para haver um controlo dos reservatórios silvestres seria necessário saber exactamente quais são, determinar os que de entre eles estão infectados e eliminá-los. Da mesma forma, o controlo dos reservatórios peri-domésticos (cães errantes) também não é fácil, embora sejam um reservatório muito importante da doença (Cortes *et al.*, 2007). Esta forma de actuação não é muito viável, pelo que os cães domésticos continuam a ser os principais reservatórios onde as medidas de controlo são exercidas (Maroli, 2010).

Como já foi referido anteriormente, existem alguns países (onde o número de casos de leishmaniose humana é mais relevante) que adoptaram um programa de vigilância e abate dos animais seropositivos. No entanto, esta medida é algo controversa e continua a ser tema de debate, não sendo praticada na maioria dos países endémicos (Gramiccia *et al.*, 2009; Nascimento *et al.*, 2008; Palatnik-de-Sousa *et al.*, 2004).

Uma melhor abordagem, para além do controlo do vector e da protecção directa dos hospedeiros definitivos, seria adoptar um programa de rastreio anual nos cães domésticos, no sentido de diagnosticar os casos positivos de forma precoce e tratá-los mais eficazmente (Chappuis *et al.*, 2007).

10.3. CONTROLO DOS HOSPEDEIROS DEFINITIVOS

Nunca é demais lembrar que um animal saudável é um animal protegido. Um cão bem alimentado, vacinado e desparasitado tem mais probabilidades de conseguir reagir eficazmente contra infecções.

São vários os autores que depositam a esperança de conseguir controlar eficazmente esta doença através do desenvolvimento de uma vacina eficaz. Enquanto isso não acontece, a pesquisa segue outra vertente em que se estudam produtos químicos para serem aplicados aos animais como medida preventiva individual. (Ciaramella e Corona, 2003b) O uso de insecticidas tópicos tem vindo a aumentar nos últimos anos, mostrando ser eficaz na diminuição do número de picadas de flebótomos e proporcionando uma boa protecção individual. Os insecticidas podem apresentar-se sob a forma de coleira, pipeta ou loção, e possuem duas formas de acção: uma repelente, que impede que haja a ingestão de sangue, e uma insecticida, que elimina o vector no caso de este se conseguir

alimentar. Em ambos os casos o ciclo de transmissão é interrompido, sendo no entanto a primeira forma de acção mais eficaz na protecção do animal (Alvar *et al*, 2004).

As coleiras impregnadas com deltametrina (Scalibor[®] Protector Bands) têm obtido os melhores resultados. A fricção da coleira com o pêlo vai libertando gradualmente o insecticida, que é absorvido pela pele e distribui-se pela gordura subcutânea, cobrindo toda a superfície do corpo em uma a duas semanas (Alvar *et al.*, 2004; Solano-Gallego *et al*, 2009). O seu efeito repelente vai até aos 98% e o efeito insecticida até 66%, quando testados às 34 semanas (Alvar *et al*, 2004). Num estudo publicado por David *et al* (2001) os colares de deltametrina revelaram-se verdadeiramente eficazes contra a espécie *Lutzomyia longipalpis* (América central), com um efeito repelente de 99,3% às 4 semanas, 100% às 8 e 12 semanas, e de 96% às 16 e 20 semanas. O efeito insecticida atingiu o máximo de 96% às 4 semanas, descendo gradualmente até às 35 semanas, quando apresentou um efeito insecticida de 35%. O mesmo estudo foi feito para a espécie *Lutzomyia migonei* (centro e sul da América), com resultados semelhantes ao primeiro (David *et al*, 2001).

Outras formulações estudadas também apresentam bom efeito repelente e insecticida mas durante um período de tempo mais curto. Recentemente tem sido estudada uma combinação de imidaclopride 10% com permetrina 50% (Advantix[®]) (Otranto *et al*. 2007; Otranto *et al*, 2010). Otranto *et al*. (2007) estudou o efeito desse tratamento com períodos de aplicação de 15 e de 28 dias. O tratamento aplicado duas vezes por mês proporcionou maior protecção ao grupo de teste, com eficácia entre os 90,73 e os 100%, ao passo que o outro protocolo obteve uma eficácia de 88,9 – 90,36%.

A solução de permetrina a 65% (ExSpot[®]), que se aplica no dorso do animal, tem um efeito repelente que não vai além dos 77% às sete semanas, e o efeito insecticida ficou nos 67% após um mês da aplicação (Alvar *et alet al*, 2004; Gramiccia *et alet al*, 2009).

Combinações de algumas moléculas com piriproxifeno (um inibidor do crescimento do insecto) ainda estão em fase de estudo (Alvar, *et al*, 2004) mas uma publicação de Mercier *et al* (2003) demonstra uma boa eficácia do tratamento de cães adultos com uma combinação de permetrina e piriproxifeno, a cada 3-4 semanas, e a cada 2 semanas no caso de animais jovens.

11. IMUNOPROFILAXIA

Quase todos os autores têm a mesma opinião: uma vacina eficaz seria a melhor estratégia para controlar a infecção e a propagação desta doença (Alvar *et al*, 2004; Dunning 2009; Moreno *et al.*, 2007; Silva S.M., 2007) .

Para que seja efectiva, uma vacina contra a *Leishmania* deve ser capaz de induzir uma resposta imunitária celular forte e duradoura. Já foram estudados vários antigénios e protocolos de imunização. Desde vacinas constituídas por parasitas mortos inteiros ou fraccionados, vivas atenuadas, proteínas sintéticas e recombinantes, péptidos sintéticos, antigénios não proteicos, imunogéneos expressos em bactérias ou vírus e, por fim, DNA. (Alvar *et al*, 2004)

Para que uma vacina possa ser comercializada tem de ter sucesso num conjunto de fases de teste. Na fase I avalia-se a segurança da vacina e a imunogenicidade, através de comparação de grupos de animais vacinados e grupos controlo. Na fase II avalia-se a protecção induzida pela vacina. Segue-se a fase III, onde se analisa a eficácia da vacina perante a infecção natural. Por último, a fase IV, inicia-se uma fase de vigilância terapêutica, que começa após a aprovação do produto, servindo para avaliar a segurança a grande escala e determinar reacções adversas raras (Palatnik-de-Sousa, 2008).

A maioria destas vacinas tem sido estudada em modelos murinos e, um pequeno número, em humanos. A primeira tentativa de imunização de um cão através de um protocolo testado em ratos resultou na exacerbação da doença. (Alvar, *et al*, 2004) Este obstáculo ocorreu em vários ensaios, em que protocolos de imunização que se mostraram promissores em modelos murinos, ao serem transpostos para o modelo canino, geraram resultados nada satisfatórios (Corrales e Moreno, 2006).

11.1. VACINAS VIVAS ATENUADAS

São vacinas constituídas por parasitas modificados de forma a reduzir a virulência. O seu interesse reside no facto de que estas formas atenuadas mantêm alguma capacidade de multiplicação, pelo que mimetizam uma infecção natural e desenvolvem o mesmo tipo de resposta imune (Dunning, 2009; Kindt *et al*, 2006). Este tipo de vacinas tem a vantagem de, com uma única imunização, produzir uma resposta imune duradoura com produção de células de memória. No entanto, o uso deste tipo de vacinas trouxe vários problemas, como a exacerbação de lesões e mesmo imunossupressão (Handman, 2001). O seu uso é algo controverso, especialmente quando não se conhece o perfil genético da

estirpe que estamos a utilizar e há possibilidade de o parasita conseguir reverter a um fenótipo virulento (Dunning, 2009).

A infecção com formas promastigotas de *Leishmania major* atenuadas representa o método mais eficaz para a indução de uma resposta imune contra *Leishmania major* e *Leishmania tropica* (Gradoni, 2001).

Uma vacina de *Leishmania mexicana* com eliminação dos genes que codificam as proteases-cisteína cpa e cpb também foi testada com sucesso.

O grande problema destas vacinas, para além dos já mencionados, está relacionado com questões logísticas de produção em grande escala e de distribuição.

11.2. VACINAS MORTAS OU INATIVADAS

Outra forma de aproximação à descoberta de uma vacina eficaz contra a leishmaniose é através da inativação dos parasitas por calor ou métodos químicos. Neste caso, o parasita perde a capacidade de se replicar, o que faz com que a distribuição no organismo do hospedeiro seja reduzida. A maior desvantagem deste tipo de vacinas, é o facto de desencadarem uma resposta maioritariamente humoral (Kindt *et al*, 2006). No entanto, Giunchetti e colaboradores (2008b), testou uma vacina inactivada com adjuvante BCG, que mostrou desencadear resposta humoral e celular, com elevada proliferação de linfócitos Th1 e CD8⁺.

As vacinas mortas/inactivadas testadas em humanos são compostas por promastigotas inteiros ou fraccionado, inactivados e acompanhados de um adjuvante ou não (bacilo de Calmette-Guérin – BCG).

A vacina mais simples testada é composta por promastigotas de *Leishmania major* e BCG, mas apenas 35% dos indivíduos desenvolveram resposta celular específica (Handman, 2001).

Preparações de promastigotas de *Leishmania major* autoclavados (ALM) e precipitados em hidróxido de alumínio (alum) com BCG estão na fase III de teste. Um teste feito em 347 cães (165 foram grupo-controlo) revelou uma protecção de 69% (Gradoni, 2001).

Vacinas preparadas com promastigotas de *Leishmania major* (inactivadas com mertiolato) e BCG foram utilizadas nas fases I e II de testes contra *Leishmania infantum*. Foram administradas três doses intradérmicas, com vinte e um dias de intervalo, a dez cães. Nove mostraram-se resistentes à infecção, após inoculação intravenosa de *Leishmania infantum*, com o desenvolvimento de uma forte reacção

celular caracterizada por elevada proliferação linfocítica. Entretanto, iniciou-se a fase III dos testes, mas os resultados não têm sido promissores (Giunchetti *et al*, 2008b; Gradoni, 2001).

A descoberta de que a IL-12 é a principal citocina responsável por uma resposta celular do tipo Th1, levou à sua inclusão em vacinas combinadas com protozoários inactivados. Foram testadas diferentes doses da recombinante humana IL-12 numa preparação com protozoários de *Leishmania amazonensis* (inactivados pelo calor) e hidróxido de alumínio, que se revelaram sem efeitos secundários para os primatas. Na mesma experiência foram testadas imunizações com apenas antígeno, só com hidróxido de alumínio e IL-12, com antígeno e IL-12 e com antígeno e alumínio. É necessária uma dose mínima de 1µg de IL-12 para que haja desenvolvimento de resposta protectora e uma cura mais rápida das lesões. Todos os primatas que levaram uma combinação de antígeno com hidróxido de alumínio e 2 µg de IL-12 desenvolveram uma resposta imunitária protectora (Kenney *et al*, 1999).

Outra componente que está a ser testada com algumas vacinas de antígenos inactivados é a saliva dos vectores. Giunchetti *et al* (2008a) testou uma vacina constituída por promastigotas de *Leishmania braziliensis* (LB), saponina (Sap) e extractos de glândula salivar (Sal) de *Lutzomyia longipalpis* (LBSapSal). A inclusão da fracção Sal parece ser benéfica pois há formação de anticorpos específicos, contra proteínas da saliva, que neutralizam as acções anti-hemostática e imunomoduladora da mesma. Para além desta resposta, a imunização com LBSapSal induz uma forte imunidade humoral e celular, com aumento dos linfócitos CD8⁺ e da produção de NO (responsável pela morte dos parasitas nos macrófagos).

11.3. VACINAS DE FRACÇÕES PURIFICADAS

São constituídas por macromoléculas específicas e purificadas, provenientes dos agentes patogénicos (Kindt *et al*, 2006).

A Leishmune[®] foi a primeira vacina contra a leishmaniose canina a ser licenciada, mas apenas se encontra disponível no Brasil. É uma vacina composta por uma fracção enriquecida de glicoproteínas, conhecida como “ligando fucose-manose” (FML), que se encontra nas formas amastigotas e promastigotas da *Leishmania donovani*. Em associação a este antígeno encontra-se um adjuvante: a saponina (Gradoni, 2001). Durante a fase III de testes, a vacina gerou uma resposta protectora (linfoproliferação responsiva à proteína gp63 e formação de um elevado título de anticorpos IgG2a

específicos contra a fracção FML) em 80% dos animais (Dantas-Torres, 2006). Para além do efeito de imunização do animal, esta vacina tem um efeito de bloqueio de transmissão. Um estudo sobre a vacina FML revelou que o antígeno desta compete pela ligação ao intestino, diminuindo a ligação de promastigotas procíclicos. Esta capacidade do antígeno de se ligar é dose dependente (Palatnik-de-Sousa *et al.*, 2004). O protocolo de administração desta vacina consiste em três doses, aplicadas com 21 dias de intervalo.

Uma outra opção ainda em estudo é a vacina com antígenos excretados-secretados de *Leishmania infantum* (LiESAp) associados ao adjuvante dipéptido muramil. Lemesre e colaboradores (2007) testaram esta vacina em 205 cães com um protocolo de administração de três doses, duas com três semanas de intervalo e a terceira um ano após a segunda imunização. A vacina mostrou ser bem tolerada, sem reacções adversas generalizadas ou localizadas e, com base em testes de PCR e de observação do parasita a partir de amostras de medula óssea, mostrou ter uma eficácia de 92%. Um aumento da actividade de IFN- γ está na base desta resposta protectora, com produção elevada de IgG2 e de NO pelos macrófagos activados (Lemesre *et al.*, 2007).

11.4. VACINAS DE PROTEÍNAS RECOMBINANTES

São constituídas por proteínas purificadas obtidas a partir de genes clonados de *Leishmania* e expressos através de vectores biológicos (Kindt *et al.*, 2006).

A desvantagem destas proteínas é que podem perder a conformação inicial, que se vai traduzir numa imunização deficiente.

O efeito protector das proteínas recombinantes histona 1 (H1) e proteína hidrofílica de superfície B1 (HASP B1) foi estudado em quarenta e oito cães. Prepararam-se vacinas monovalentes de cada um dos antígenos e uma bivalente, todas elas combinadas com Montanide™. Os animais vacinados apenas contra H1 revelaram um efeito protector 62,5% aos 16 meses após infecção intravenosa com promastigotas de *Leishmania infantum*, ao passo que ambas as vacinas HASP B1 mostraram uma eficácia de 50%. No mesmo estudo, foi testada uma vacina constituída por poliproteína recombinante de subunidades (TSA, LeIF e LmSTI1), também conhecida por Leish-111f, e monoril fosfolípido em emulsão estável (MPL®-SE), que mostrou ser ineficaz (protecção em 29% dos casos) (Moreno *et al.*, 2007).

A proteína Q (obtida a partir da fusão das proteínas ribossomais Lip2a, Lip2b e P0 e da histona HA2 foi testada em cães artificialmente infectados com *Leishmania infantum*. A vacina foi preparada com o adjuvante BCG e aplicada, resultando numa protecção de 90% (Barbiéri, 2006).

11.5. VACINAS QUE UTILIZAM VECTORES RECOMBINANTES

Os genes que codificam alguns antígenos podem ser introduzidos em vírus ou bactérias atenuados, que vão replicar-se no hospedeiro e expressar o antígeno correspondente ao gene (Kindt *et al*, 2006).

Já foram feitas algumas tentativas de desenvolver vacinas através de vírus e bactérias recombinantes. O gene que codifica a gp63 foi introduzido em *Salmonella typhimurium* atenuada e administrado por via oral, desenvolvendo uma resposta imunitária protectora contra *Leishmania major* (Gradoni, 2001; Handman, 2001).

A proteína de membrana PSA-2 (antígeno de superfície do parasita 2) de *Leishmania donovani* foi introduzida em vírus da vacínia e inoculada em ratos, proporcionando uma resposta protectora contra *Leishmania major* (Handman, 2001).

11.6. VACINAS DE DNA

As vacinas de DNA consistem na inoculação directa (na pele ou músculo) de plasmídeos com DNA que codificam antígenos específicos. As células musculares e dendríticas captam o DNA e expressam os antígenos, estimulando uma resposta humoral e celular (Kindt *et al*, 2006).

As vantagens deste tipo de vacinas é que têm uma tecnologia de produção simples e de baixo custo com possibilidade de produção em larga escala, não necessitam de refrigeração, logo de fácil transporte, e possibilitam a combinação de vários genes numa única vacina (Dunning, 2009).

Um estudo publicado em 2001 testou a imunização de ratos com DNA plasmídico de *Leishmania donovani* que codifica o homólogo do receptor da proteína c kinase activada (LACK). Os resultados revelaram uma forte reacção mediada por linfócitos Th1 mas, no entanto, a vacina mostrou-se ineficaz na protecção contra a infecção. Esta falha na protecção levar a crer que, apesar de uma resposta do tipo Th1 ser fundamental para o desenvolvimento de resistência, pode não ser suficiente (Melby *et al*, 2001).

Carrión, Folgueira e Alonso (2008) fizeram a comparação entre uma vacinação com plasmídeos que codificam as histonas H2A, H2B, H3 e H4, e uma vacinação com células dendríticas (CD) transportando essas mesmas histonas. A vacina de DNA não desenvolveu resposta protectora, ao passo que a imunização com as CD mostrou uma diminuição da carga parasitária no fígado e baço. No entanto as vacinas com CD não são muito aceites, pelo que estão em estudo vacinas com as mesmas histonas mas com formulações diferentes (Carrión *et al*, 2008).

Recentemente conseguiu-se melhorar a eficácia das vacinas de DNA através de uma técnica de vacinação com revacinação heteróloga. Ou seja, faz-se uma primeira imunização com o DNA plasmídico que codifica a proteína que se quer testar, seguida de outra imunização com a proteína recombinante ou expressada através de um vector (*heterologous prime-boost*).

Esta técnica tem sido testada em várias situações, como a vacinação com DNA-LACK com um reforço da mesma proteína expressa no vírus Ankara (vírus da vacínia modificado - MVA) e no vírus da vacínia recombinante (rVV). Os resultados mostraram que ambos os protocolos desencadearam resposta protectora Th1 caracterizada por baixo título de anticorpos (e destes, com maior produção de IgG2), boa proliferação de células específicas, baixa produção de IL-4 e IL-10 e aumento da produção de IFN- γ . Ao contrário do que era esperado, a resposta à vacinação com o MVA foi mais efectiva do que com o rVV (Ramos *et al*, 2008).

Dentro da mesma técnica, foi também testada a eficácia da vacinação com DNA/MVA expressando a triparedoxina peroxidase (TRYP) e o LACK. Foram também comparadas duas doses, para cada protocolo (100 e 1000 μ g). A imunização com TRYP com a dose mais alta desencadeou uma resposta protectora, com produção de IFN- γ , teste de reacção de hipersensibilidade retardada positivo e aumento de IgG total, com maior expressão de IgG2. A resposta desencadeada pela imunização com a proteína LACK não foi tão efectiva. Teve também aumento da produção de IFN- γ , mas fraca produção de anticorpos (Carson *et al*, 2009).

12. PROGNÓSTICO

O prognóstico da leishmaniose canina é sempre reservado, variando de acordo com a sua situação clinicopatológica (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Alguns parâmetros da história clínica são importantes, pois dão-nos uma noção da progressão da doença, como por exemplo o tempo decorrido desde o início dos sinais até ao diagnóstico e a incidência de recidivas (caso se aplique) (Guaguére *et al*, 2008).

Também os achados laboratoriais são essenciais para o estabelecimento de um prognóstico, uma vez que nos indicam a gravidade lesional dos sistemas. Valores de ureia e creatinina que, mesmo após terapia, se mantêm elevados, são de mau prognóstico. Já o aumento do valor das enzimas hepáticas ALT e AST não tem o mesmo valor de prognóstico, uma vez que tendem a normalizar após o tratamento (Ciaramella e Corona, 2003a). A tabela 20 descreve os 4 estadios da doença e relaciona os sinais clínicos e os achados laboratoriais com o prognóstico.

Tabela 20: Estadio clínico da doença baseado em sinais clínicos e laboratoriais de respectivo prognóstico.

¹ – rácio proteína creatinina urinária;

² – insuficiência renal crónica;

³ – animais com titulação negativa – média positiva devem ser confirmados com outra técnica de pesquisa de antigénio (citologia, imunohistoquímica ou PCR)

⁴ – títulos elevados de anticorpos são conclusivos

(adaptada de: Solano-Gallego, *et al*, 2009)

Estadio	Serologia ³	Sinais Clínicos	Exames Laboratoriais	Prognóstico
I	Título Negativo – baixo positivo	Sinais clínicos ligeiros: linfadenomegália; dermatite papular	Geralmente normais	Bom
II	Título Baixo-Elevado	Sinais clínicos do estadio I mais: lesões cutâneas difusas: úlceras, onicogribose; anorexia; perda de peso; febre, epistáxis.	Anemia não regenerativa; hipergamaglobulinémia; hipoalbuminémia. Subestadio a – perfil renal normal; Subestadio b – UPC ¹ = 0,5-1; Creatinina <1,4 mg/dl	Bom – reservado
III	Título médio-elevado ⁴	Sinais clínicos dos estadios I e II mais sinais de lesão causada por imunocomplexos: vasculite; artrite; uveíte; glomerulonefrite.	Achados do estadio II mais: Estadio I de IRC ² : UPC ¹ > 1 ou estadio II de IRC ² : Creatinina = 1,4-2 mg/dl	Reservado – mau
IV	Título médio-elevado ⁴	Sinais clínicos dos estadios I, II e III mais: tromboembolismo pulmonar; síndrome nefrótico.	Estadio III de IRC ² : creatinina = 2-5mg/dl ou IV: creatinina > 5 mg/dl; Síndrome nefrótico; UPC ¹ > 5	Mau

V. CASO CLÍNICO

Anamnese

O canídeo Di Maria é um macho fértil de 3 anos de idade, raça indeterminada e 9,7kg de peso.

O Di Maria é um cão com acesso ao exterior que vive no concelho de Olhão, encontra-se vacinado contra as principais doenças infecciosas caninas (leptospirose, parvovirose, adenovírus, esgana, parainfluenza e raiva) e com desparasitação em atraso. A história clínica é curta mas reporta dois casos de hipersensibilidade, sendo uma delas uma reacção de hipersensibilidade do tipo I à coleira desparasitante Scalibor[®].

Dia 1: 05 de Novembro de 2009

O Di Maria apresentou-se à consulta com uma claudicação mais evidente a nível do membro posterior direito desde o dia anterior, perda de apetite, perda de peso e algumas lesões dermatológicas.

Ao exame clínico os parâmetros básicos estavam normais, com mucosas rosadas e húmidas, auscultação cardíaca e respiratória sem alterações e tempos de repleção capilar e retracção da prega cutânea normais. Verificou-se linfadenomegália dos linfonodos poplíteos e a manipulação revelou dor em várias articulações do membro torácico e do membro pélvico, sendo mais exuberante a nível das articulações coxo-femorais. Quanto às alterações dermatológicas eram caracterizadas por nódulos de pequeno tamanho localizados na cabeça e dermatite ulcerativa nos pavilhões auriculares.

Recorreu-se, então, à radiologia para avaliar as articulações dos membros, mas não eram visíveis alterações osteo-articulares.

Procedeu-se a uma colheita de sangue para análise bioquímica onde se observou aumento das proteínas totais que se encontravam a 11,8 g/dL e da ureia (36,6 UI /l), com albuminémia no limite normal mínimo (2,5 g/dl) e hiperglobulinémia acentuada (9,3 g/dl). Os restantes resultados podem ser consultados na tabela 21. Sendo uma zona endémica e tendo em conta os sinais clínicos, a altura do ano e a falta aparente de protecção eficaz contra a picada de flebótomos, optou-se por enviar uma amostra de soro para laboratório para proteinograma e pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania*. Enquanto aguardava o resultado do teste, receitou-se uma terapia com firocoxib

(Previcox[®]), um anti-inflamatório não esteróide para a dor e inflamação articular, com uma administração oral de um comprimido de 57mg por dia.

O resultado do teste serológico revelou uma reacção positiva à *Leishmania* na titulação de 1/320, enquanto o proteinograma mostrava uma curva típica de patologias infecciosas, com diminuição da albumina e aumento das β e γ globulinas (valores apresentados na tabela 22 e figura 33).

Iniciou-se, então, um tratamento com alopurinol a uma dose de 30 mg/kg/dia, num total de 300 mg/dia, dividida em duas tomas diárias e aconselhou-se o uso de desparasitantes externos que fossem também eficazes para a prevenção do flebótomo.

Dia 2: 13 de Novembro de 2009

O paciente regressou à consulta para controlo, no qual se verificou um agravamento das lesões dermatológicas e um aumento da dor articular. Nessa altura iniciou-se, então, um tratamento com associação de alopurinol e antimoniato de meglumina (Glucantime[®]) nas seguintes doses:

- ❖ Alopurinol 300mg: ½ comprimido cada 12 horas, indefinidamente
- ❖ Glucantime: 75mg/kg/dia, o que dá uma injeção de 2,5 mL por dia, durante 30 dias.

Para além disso, receitou-se a aplicação de pomada de betametasona, clotrimazol e gentamicina (Quadriderme[®]) nas áreas de pele lesada e receitou-se uma terapêutica com metilprednisolona (Medrol[®] 4mg). Esta consiste na administração, por via oral, de um comprimido a cada 12 horas durante uma semana, passando para um comprimido por dia durante a semana seguinte, diminuindo para ¼ de comprimido por dia durante 4 dias e terminando com duas administrações de 1/4 de comprimido a cada 48 horas. Ficou marcado um novo controlo para análise bioquímica após 15 dias.

Dia 3: 29 de Novembro

O Di Maria voltou para o controlo bioquímico, revelando uma descida das proteínas totais (7,9g/dl) e das globulinas elevado (4,9 g/dl), tal como uma normalização da albuminémia. Não havendo qualquer sugestão de toxicidade pelo antimoniato de meglumina o tratamento prosseguiu com a dose acima referida até perfazer um mês, altura em que viria para um novo controlo com proteinograma e pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania*. Os restantes resultados apresentam-se na tabela 23.

Dia 4: 13 de Dezembro

Terminado o tratamento injectável, o paciente apresentou-se para um controlo. Ao exame físico verificou-se remissão dos sinais articulares e das lesões dermatológicas, apresentando apenas algum grau de hiperqueratose nos pavilhões auriculares. Foi feita nova colheita para proteinograma e pesquisa de anticorpos mas, por erros externos ao hospital, teve de ser repetida e os resultados só estiveram disponíveis no dia **08 de Janeiro**. O resultado do novo perfil de *Leishmania* (titulação de anticorpos e proteinograma) voltou com uma titulação ainda positiva a 1/320, ao passo que o proteinograma mostrou, de facto, uma diminuição de globulinas embora alguns valores estivessem ainda no limite máximo ou mesmo acima (resultados disponíveis na tabela 24 e figura 34). Tomou-se a decisão de fazer mais um mês de tratamento com injeções subcutâneas de antimoniato de meglumina, na mesma dose. Às duas semanas de tratamento foi feita nova analítica de controlo sem evidência de lesão a nível renal ou hepático, mas ainda com hiperglobulinémia (4,7 g/dl). A colheita de soro ficou marcada para dia 12 de Fevereiro, altura em que o tratamento injectável já teria acabado.

Dia 5: 12 de Fevereiro de 2010

O Di Maria voltou para fazer nova análise completa, com proteinograma e titulação de anticorpos. Os resultados voltaram novamente a revelar titulação positiva a 1/320. No entanto, os valores das globulinas voltaram ao normal, excepto as beta-gloubulinas que se encontravam ligeiramente aumentadas (tabela 25, figura 35). Posto isto e, uma vez que se conseguiu obter uma remissão completa do quadro lesional, decidiu-se manter apenas a medicação com alopurinol na mesma dose, marcando-se um novo controlo 3 meses após esta consulta.

Dia 6: 9 de Junho

Os resultados obtidos já eram os esperados para um cão com leishmaniose controlada, com título positivo apenas a 1/80 e o proteinograma com os valores normalizados (consultar valores na tabela 26).

13. RESULTADOS

Tabela 21: Valores das análises bioquímicas do Di Maria referentes ao dia 05 de Novembro de 2009.

Parâmetros	Resultados	Valores normais
ALT / GPT (UI/l)	36.6	10-70
Creatinina (mg/dl)	0.74	0.4-1.4
Ureia (mg/dl)	37.7	6-24
Proteínas Totais (g/dl)	11.8	5.2-7.2
Albumina (g/dl)	2.5	2.5-4.3
Globulinas (g/dl)	9,3	2.5-4.3

Tabela 22: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 05 de Novembro de 2009.

Parâmetros	Resultados (g/dl)	Valores Normais (g/dl)
Albumina	2.66	2.30-3.50
Alfa 1	0.11	0.50-0.80
Alfa 2	0.30	0.50-0.80
Beta 1	1.05	0.50-1.10
Beta 2	1.75	0.30-0.70
Gama	6.23	0.50-1.80
Proteínas Totais	12.10	5.10-7.80

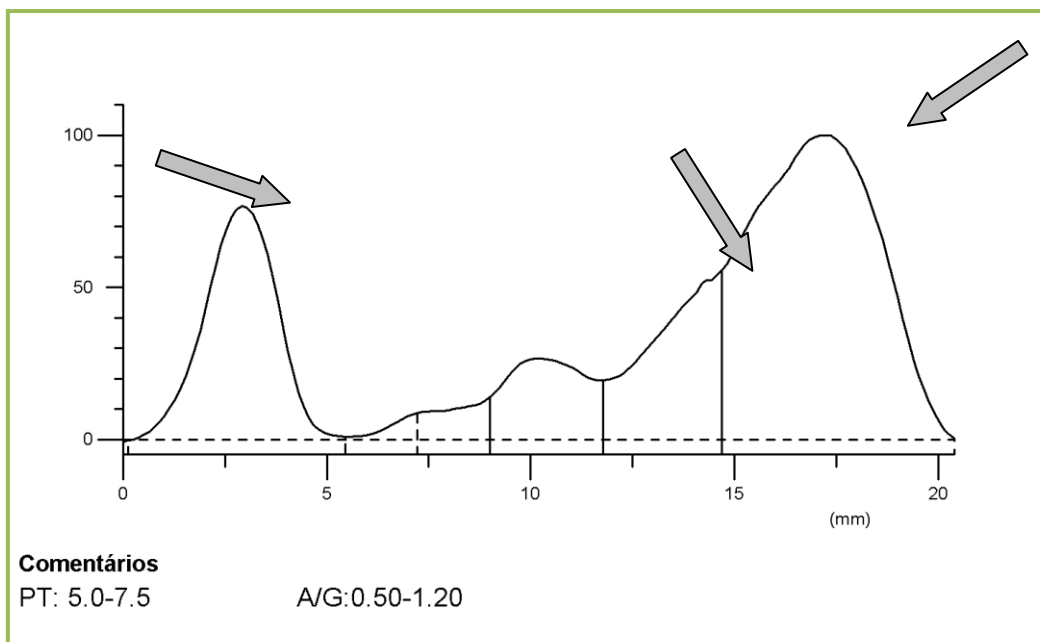


Figura 33: Gráfico do proteinograma referente ao dia 05 de Novembro de 2009

Tabela 23: Valores das análises bioquímicas do Di Maria referentes ao dia 29 de Novembro de 2009.

Parâmetros	Resultados	Valores normais
ALT / GPT (UI/l)	36.6	10-70
ALP / FAS	80	20-200
Creatinina (mg/dl)	1	0.4-1.4
Ureia (mg/dl)	11	6-24
Glucose	96	65-120
Albumina (g/dl)	3	2.5-4.3
Globulinas	4.9	2.5-4.3
Proteínas Totais	7.9	5.2-7.2

Tabela 24: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 8 de Janeiro de 2010.

Parâmetros	Resultado (g/dl)	Valores Normais (g/dl)
Albumina	2.47	2.30-3.50
Alfa 1	0.29	0.50-0.80
Alfa 2	0.92	0.50-0.80
Beta 1	0.60	0.50-1.10
Beta 2	1.12	0.30-0.70
Gama	1.4	0.50-1.80
Proteínas Totais	6.8	5.10-7.80

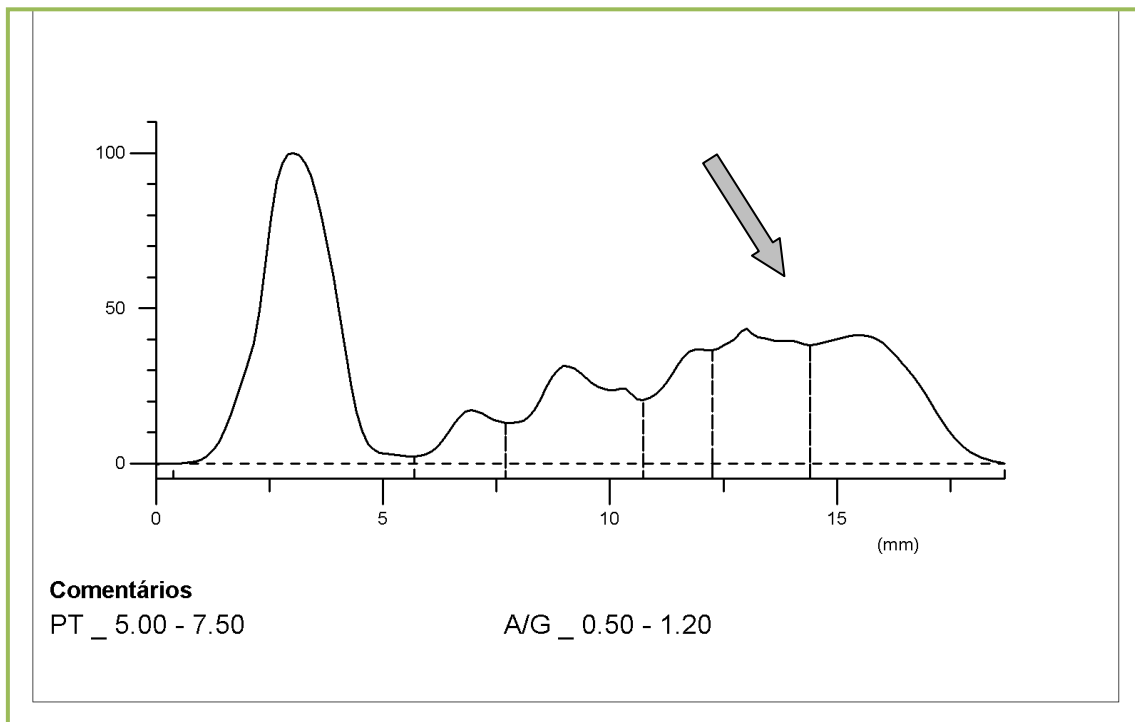


Figura 34: Gráfico do proteinograma referente ao dia 08 de Janeiro de 2010

Tabela 25: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 12 de Fevereiro		
Parâmetros	Resultado (g/dl)	Valores Normais (g/dl)
Albumina	2.61	2.30-3.50
Alfa 1	0.32	0.50-0.80
Alfa 2	0.59	0.50-0.80
Beta 1	0.74	0.50-1.10
Beta 2	0.77	0.30-0.70
Gama	1.17	0.50-1.80
Proteínas Totais	6.20	5.10-7.80

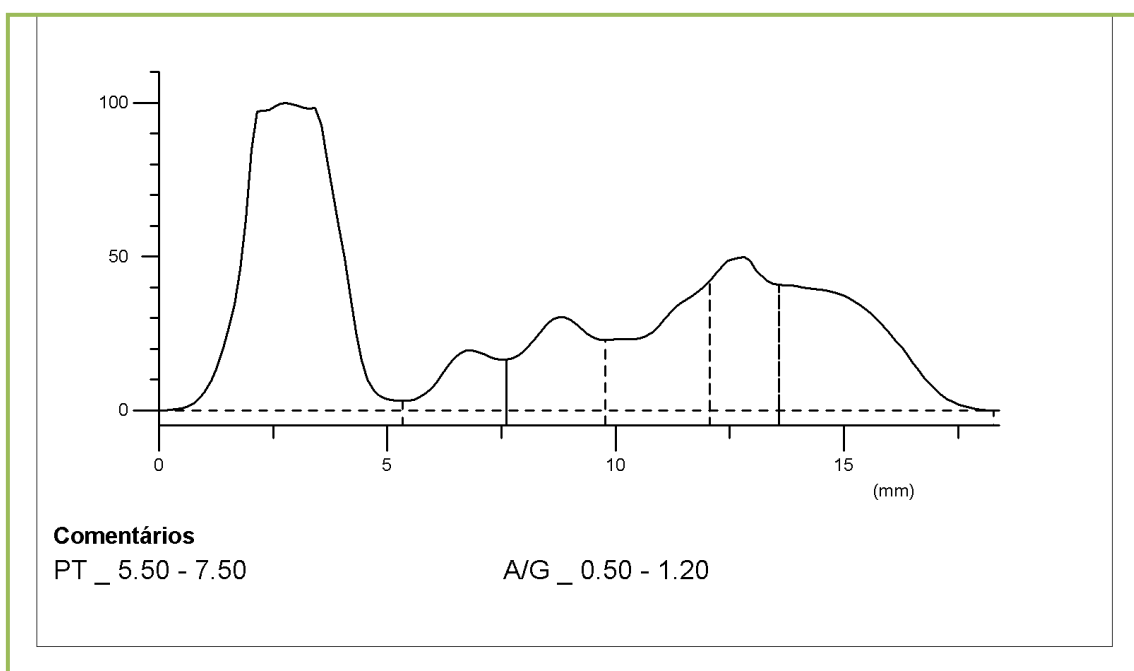


Figura 35: Gráfico do proteinograma do dia 12 de Fevereiro de 2010

Tabela 26: Valores do proteinograma do Di Maria referentes ao dia 9 de Junho de 2010		
Parâmetros	Resultado (g/dl)	Valores Normais (g/dl)
Albumina	2.60	2.30-3.50
Alfa 1	0.56	0.50-0.80
Alfa 2	0.78	0.50-0.80
Beta 1	0.60	0.50-1.10
Beta 2	0.63	0.30-0.70
Gama	1.55	0.50-1.80
Proteínas Totais	6.72	5.10-7.80

14. DISCUSSÃO

O estadio de doença em que o Di Maria foi diagnosticado corresponde a uma transição entre II e III. Apesar de os valores renais estarem normais e de as lesões dermatológicas não serem muito exuberantes, apresentava valores de proteínas totais e de globulinas bastante elevados e já alguns sinais de lesão causados pela deposição de imunocomplexos, como a patologia articular. Apesar de tudo considerou-se um caso com bom prognóstico.

As alterações de pele enquadram-se no quadro de lesões dermatológicas descritas, e ocorrem devido à acção directa do parasita e a fenómenos de vasculite causados pela deposição de imunocomplexos (Noli, 1999).

A poliartrite também se encontra descrita, sendo mais frequentemente na forma não erosiva (Baneth *et al*, 2008). Poderia ter sido confirmado tratar-se de poliartrite imunomediada devido a *Leishmania* através de punção intra-articular com colheita de líquido sinovial e posterior análise, que pode revelar aumento da contagem total de células e predominância de neutrófilos. A observação de esfregaços citológicos ao microscópio óptico pode permitir, ou não, a identificação de formas amastigotas (Feitosa, 2006).

O protocolo de tratamento com alopurinol e antimoniato de meglumina deveria ter sido iniciado logo com os resultados do primeiro proteinograma e pesquisa de anticorpos, o que não pôde acontecer porque os proprietários do paciente estavam ausentes na altura e a pessoa responsável no momento tomou a opção de aguardar a chegada dos proprietários.

Apesar do período de monoterapia com alopurinol ter sido curto, mostrou-se ineficaz, uma vez que não só as lesões não estabilizaram, como houve agravamento.

É possível que o segundo ciclo de tratamento injectável com antimoniato de meglumina não fosse necessário. Para além de ter sido iniciado precocemente, uma vez que o título de anticorpos só começa a baixar 1 mês após o tratamento (Birchard e Sherding, 2008), possivelmente a globulinémia teria estabilizado com a manutenção com alopurinol. No entanto, esta opção foi tomada devido ao intervalo alargado entre o final do tratamento e a realização do controlo que gerou dúvidas relativamente à dinâmica da globulinémia.

A administração de corticosteróides diminuiu eficazmente a dor causada pelas lesões devido a deposição de imunocomplexos. No entanto, ainda que descrita, a sua influência pode ter levado a um atraso no início da resposta do paciente à infecção. Como já foi

dito anteriormente, para que haja remissão da doença é necessário que a diminua a resposta imune do tipo Th2 e que haja um aumento da resposta celular específica (Th1). (Alvar *et al.*, 2004; Solano-Gallego, 2001). Uma vez que a metilprednisona actua de forma indiferente sobre a resposta imune, ou seja, inibe tanto a resposta humoral como a celular, esta pode ter diminuído a eficácia do tratamento injectável durante o primeiro ciclo.

Não é possível definir quanto à possibilidade de uma recidiva da doença, mas sabe-se que a taxa de recidivas em pacientes tratados com uma associação de antimoniato de meglumina com alopurinol e manutenção com alopurinol (pelo menos durante 10 meses) é de 4-11%. Em casos em que não se faz manutenção com alopurinol, a taxa de recidivas sobe para 32-100% (a mesma taxa que se verifica em pacientes que são tratados apenas com antimoniato de meglumina) (Noli e Auxilia, 2005).

Apesar de tudo a infecção foi controlada com sucesso, mas o paciente terá de permanecer sob tratamento com alopurinol e será monitorizado de três em três meses até perfazer um ano, a partir do qual será monitorizado de seis em seis meses. (Noli, 1999) Para além disso será sujeito a um programa de controlo rígido contra a picada dos flebotomos com a aplicação mensal de Advantix[®]. Esta prevenção da picada tem como objectivo diminuir a transmissão da doença aos vectores, uma vez que está provado que animais tratados continuam a ser fonte de infecção para os flebotómídeos (Moreno e Alvar, 2002; Alvar *et al.*, 2004) e diminuir a probabilidade de um novo contacto com o parasita, uma vez que a reinfeção (e conseqüente recidiva de doença) é uma hipótese viável. (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A leishmaniose é uma doença infecciosa de carácter crónico, incurável e com um tratamento dispendioso, especialmente para animais de grande porte (Baneth e Shaw, 2002; Desjeux, 2004). Tendo em conta as condições sócio-económicas actuais, existe uma grande fatia da população que não consegue suportar os custos tanto da medicação como das análises necessárias para a monitorização da infecção, acrescentando ainda que é necessário assumir a responsabilidade de realizar o tratamento de forma rigorosa, para que haja menor risco de transmissão e para diminuir a probabilidade de recidiva da doença.

Desta forma, é necessário apostar num forte programa de prevenção para proteger os animais das picadas de flebotómídeos e da sua transmissão. Apesar de haver uma grande movimentação de esforços nesse sentido, ainda não há uma vacina disponível no



mercado para a imunização contra esta doença (Moreno e Alvar, 2002; Solano-Gallego *et al.*, 2009). Posto isto, a prevenção passa pelo médico veterinário que deve fornecer aos proprietários toda a informação necessária para a compreensão dos riscos e consequências desta zoonose tanto para o bem-estar dos animais domésticos, como para a saúde pública.

A ONLEISH realizou um questionário a proprietários que frequentaram centros de atendimento médico-veterinário e concluiu que os conhecimentos acerca da doença eram bastante reduzidos, sendo satisfatório apenas em 6-12% dos inquiridos. 50-70% dos questionados não conhecem a doença, 55-80% desconhecem o resultado do tratamento, 60-75% não sabem como prevenir e apenas 20% sabe que se trata de uma doença transmissível ao Homem (ONLEISH.org).

Este estudo reflecte a necessidade de uma abordagem mais sólida e persistente na sensibilização da população.



VI. BIBLIOGRAFIA

Abreu, Raquel Trópia de, 2008: *Alterações eritropoéticas e leucopoéticas na leishmaniose visceral canina*. Ouro Preto : Dissertação de mestrado apresentado ao programa de pós-graduação em ciências biológicas do núcleo de pesquisas em ciências biológicas da universidade federal de Ouro Preto.

Almeida, Arleana do Bom Parto Ferreira de, 2009: *Inquérito soropidemiológico e caracterização da leishmaniose canina por PCR-RFLP em Cuiabá, Mato Grosso, Brasil*. s.l. : Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em ciências veterinárias da Universidade Federal de Mato Grosso.

Alvar, Jorge; Cañavate, Carmen; Molina, Ricardo; Moreno, Javier; Nieto, Javier, 2004: Canine Leishmaniasis. [autor do livro] J.K. Baker, K. Muller e D. Rollinson. *Advances in parasitology*, vol. 57. s.l. : Academic Press.

Amóra, Sthenia S A; Bevilaqua, Claudia M L; Feijó, Francisco M C; Alves, Nilza D; Maciel, Michelline do V, 2009: Control of Phlebotomine (Dipter: Psychodidae) leishmaniasis vectors. *Neotropical entomology*. 2009, Vol. 38, 303-310.

Appolinário, Camila Michele; Megid, Jane, 2007: Uso de imunomoduladores nas enfermidades infecciosas dos animais domésticos. *Semina: ciências agrárias* . 2007, Vol. 25, pp. 437-446.

Atkins, Clarke, 2005: Canine Heartworm disease. In: Ettinger, Stephen; Feldman, Edward Eds *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 6th ed. ST. Louis: Elsevier Saunders, Vol 2, 1118-1134

Baneth, Gad; Shaw, Susan E, 2002: Chemoterapy of canine leishmaniasis. *Veterinary parasitology*. 2002, Vol. 106, pp. 315-324.

Baneth, Gad; Koutinas, Alexander F; Solano-Gallego, Laia; Bourdeau, Patrick; Ferrer, Lluís, 2008: Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in parasitology*. 1, 2008, Vol. 24, 324-330.

Barbiéri, C. L. 2006: Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite immunology*. 2006, Vol. 28, 329-337.

Beaty, Barry J.; Marquardt, William C.; Tesh, Robert B.; Guzman, Hilda, 1996: Sand flies and the agents they transmit. [autor do livro] Barry J. Beaty e William C. Marquardt. *The biology of disease vectors*. Niwot : University Press of Colorado.

Bianciardi, Paolo; Fasanella, Antonio; Manzillo, Valentina Foglia; Trotta, Teresa; Pagano, Annalisa; Sorino, Simona; Gradoni, Luigi; Oliva, Gaetano, 2004: The efficacy of enrofloxacin, alone or combined with metronidazole, in the therapy of canine leishmaniasis. *Paratitology research*. 2004, Vol. 93, pp. 486-492.

Birchard; Sherding, 2008: *Manual Saunders clínica de pequenos animais 3a edição*. São Paulo : Roca Ltda.

Bischoff, S.; Crowe, SE, 2005: Gastrointestinal food allergy: new insights into pathophysiology and clinical perspectives. *Gastroenterology*. 2005, Vol. 128, 1089-1113.

BRASIL. Ministério da Saúde, 2007: *Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana*. Brasília : Editora do Ministério da Saúde.

CAPC. Companion Animal Parasite Council, 2009. [acesso em 12 Junho de 2010]. Disponível em: <http://www.capcvet.org/recommendations/guidelines.html>

Cardoso, Luís; Rodrigues, Manuela; Santos, Helder; Schoone, Gerard J.; Carreta, Pedro; Varejão, Eugénio; Benthem, Birgit van; Afonso, M. Odete; Alves-Pires, Carlos; Semião-Santos, Saul J.; Rodrigues, Jorge; Schallig, Henk D. F. H., 2004: Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). *Veterinary parasitology*. 2004, Vol. 121, 21-32.

Carrión, Javier; Folgueira, Cristina; Alonso, Carlos, 2008: Immunization strategies against visceral leishmanioses with the nucleosomal histones of *Leishmania infantum* encoded in DNA vaccine or pulsed in dendritic cells vol.26. *Vaccine*. 2008, pp. 2537-2544.

Carson, Connor; Antoniou, Maria; Ruiz-Arguello, Maria Begoña; Christodoulou, Vasiliki; Messaritakis, Ippojratis; Blackwell, Jenefer M.; Courtenay, Orin, 2009: A prime/boost DNA/Modified vaccinia virus Ankara vaccine expressing recombinant *Leishmania* DNA encoding TRYP is safe and immunogenic in outbred dogs, the reservoir of zoonotic visceral leishmaniasis vol.27. *Vaccine*. 2009, p. 1080- 1086.

Castellano, Lúcio Roberto Cançado, 2005: Resposta imune anti-*Leishmania* e mecanismos de evasão. *VITAE Academia biomédica digital*. 2005, Vol. 25, p. 1-10.

Cavalcante, RR; Pereira, MH; Gontijo, NF, 2003: Anti-complement activity in the saliva of the phlebotomine sand flies and other haematophagous insects. *Parasitology*. 2003, Vol. 127 (pt1), p. 87-93.

Chappuis, François; Sundar, Shyam; Hailu, Asrat; Ghalib, Hashim; Rijal, Suman; Peeling, Rosanna W.; Alvar, Jorge; Boelaert, Marleen, 2007: *Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?* s.l. : Nature Publishing Group.

Ciaramella, Paolo; Corona, Marco, 2003a: Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. *Compendium*. 2003, Vol. 25, p. 358-369.

Ciaramella, Paolo; Corona, Marco, 2003b: Canine leishmaniasis: therapeutic aspects. *Compendium*. 2003, Vol. 25, p. 370-375.

Corrales, Guadalupe Miró; Moreno, Ricardo Molina, 2006: *Leishmaniosis canina: manejo clínico y situación actual en España*. Espanha : Química Farmacêutica Bayer, S.A.

Corrales, Guadalupe Miró, 2007: Leishmaniosis canina: situación actual en Europa, diagnóstico y control. *Acta scientiae veterinariae*. 2007, Vol. 35, p. s227-s229.

Cortes, Sofia; Afonso, Maria Odete; Alves-Pires, Carlos; Campino, Lenea, 2007: Stray dogs and leishmaniasis in urban areas, Portugal. *Emerging infectious diseases*. 2007, Vol. 13, p. 1431-1432.



Coutinho, Maria Teresa Zanatta; Bueno, Lilian Lacerda; Sterzik, Annelise; Fujiwara, Ricardo Toshio; Botelho, Ramiro Jose; De Maria, Mario; Genaro, Odair; Linardi, Pedro Marcos, 2005: Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 2005, Vol. 128, 149-155.

Coutinho, Maria Teresa Zanatta; Linardi, Pedro Marcos, 2007: Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? *Veterinary parasitology*. 2007, Vol. 147, 320-325.

Dantas-Torres, Filipe, 2006: Leishmune1 vaccine: The newest tool for prevention and control of canine visceral leishmaniasis and its potential as a transmission-blocking vaccine. *Veterinary parasitology*. 2006, Vol. 141, p. 1-8.

David, John R; Stamm, , Luisa M; Bezerra, Haroldo Sergio; Souza, Raimundo Nonato; Killick-Kendrick, Robert; Lima, José Wellington Oliveira, 2001: Deltamethrin-impregnated dog collars have a potent anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2001, Vol. 96, p. 1-9.

Day, M. J., Horzinek, M. C.; Schultz, R. D., 2010: Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *Journal of small animal practice*. 2010, Vol. 1, p. 1-32.

Desjeux, P., 2004: Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comparative immunology, microbiology & infectious diseases*. 2004, Vol. 27, p. 305-318.

Dunning, Naomi, 2009: Leishmania vaccines: from leishmanization to the era of DNA technology. *Bioscience horizons*. 2009, Vol. 2, p. 73-82.

Feitosa, Mary Marcondes, 2006: Avaliação clínica de animais naturalmente infectados. [autor do livro] Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária. *1º fórum sobre leishmaniose visceral canina- anais*. Jaboticabal - São Paulo : Faculdade de ciências agrárias e veterinárias da universidade estadual paulista, 2006.

Foster, Aiden P.; Foil, Carol S., 2008: *Manual de dermatología en pequeños animales e exóticos*. Barcelona : Ediciones SM, 2008. p.268-269..

Giunchetti, Rodolfo Cordeiro; Corrêa-Oliveira; Rodrigo; Martins-Filho, Olindo Assis; Teixeira-Carvalho, Andréa; Roatt, Bruno Mendes; Aguiar-Soares, Rodrigo Dian de Oliveira; Coura-Vital, Wendel; Abreu, Raquel Tropia de; Malaquias, Luiz Cosme Cotta; Gontijo, Nelder Figueiredo; Brodskyn, Cláudia; Oliveira, Camila Indiani de; Costa, Dirceu Joaquim; Lana, Marta de; Reis, Alexandre Barbosa, 2008a: A killed *Leishmania* vaccine with sand fly saliva extract and saponin adjuvant displays immunogenicity in dogs. *Vaccine*. 2008, Vol. 26, 623-638.

Giunchetti, Rodolfo Cordeiro; Reis, Alexandre Barbosa; Sileira-Lemos, Denise da; Martins-Filho, Olindo Assis; Corrêa-Oliveira, Rodrigo; Bethony, Jeffrey; Vale, André Macedo; Quetz, Josiane da Silva; Bueno, Lilian Lacerda; França-Silva, João Carlos; Nascimento, Evaldo; Mayrink, Wilson; Fujiwara, Ricardo Toshio, 2008b: Antigenicity of a whole parasite vaccine as promising candidate against canine leishmaniasis. *Research in veterinary science*. 2008, p. 106-112.

Gonçalves, Ricardo; Tafuri, Washington Luiz; de Melo, Maria Norma; Raso, Pedro; Tafuri, Wagner Luiz, 2003: Chronic interstitial pneumonitis in dogs naturally infected with Leishmania (Leishmania) chagasi: a histopathological and morphometric study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*. 2003, Vol. 45, p. 153-158.

Gradoni, L., 2001: An update on antileishmanial vaccine candidates and projects for a canine Leishmania vaccine. *Veterinary parasitology*. 2001, Vol. 100, p. 87-103.

Gramiccia, Marina; Gradoni, Luigi, 2009: The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International Journal for Parasitology*. 2009, Vol. 35, 1169-1180.

Guaguère, Éric; Prélaud, Pascal; Craig, Mark, 2008: *A practical guide to canine dermatology*. Italy : Merial, 2008. Vols. p.167-176.

Handman, Emanuela, 2001: Leishmaniasis: current status of vaccine development. *Clinical microbiology reviews*. 2001, Vol. 14, p. 229-243.

<http://aristocao.com/pt/content/view/40/1/>. *Aristocão*. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.]

<http://lucianodinizvet.blogspot.com/2007/07/leishmaniose-canina.html>. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.]

<http://www.flickr.com/photos/19187511@N00/249938850/>. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.]

http://www.policlinicaveterinaria.com.br/art_saude.asp?xcod=34. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.]

http://www.sciencephoto.com/images/showFullWatermarked.html/M200159-Visceral_leishmania-SPL.jpg?id=772000159. [Online] [Citação: 27 de Agosto de 2010.]

Isaza, María Diana; Restrepo, Marcos; Mosca, Walter, 1997: Immunoblot analysis of Leishmania panamensis antigens in sera of patients with american cutaneous leishmaniasis. *Journal of clinical microbiology*, vol.35. 1997, p. 3043-3047.

Kenney, Richard T.; Sacks, David L.; Sypek, Joseph P.; Vilela, Luciano; Gram, Albert A.; Evans-Davis, Kamela, 1999: Protective immunity using recombinant human IL-12 and alum as adjuvants in a primate model of cutaneous leishmaniasis. *The journal of immunology*. 1999, p. 4481-4488.

Kindt, Thomas J; Goldsby, RA; Osborne, 2006: *Kuby immunology, 6th edition*. s.l. : W.H. Freeman, 2006.

Lamothe, J., 2010: Some remarks about the LeishVet directions for the treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary parasitology*. 2010.

Larangeira, Daniela Farias, 2008: *Avaliação da imunidade humoral e celular em cães naturalmente infectados com Leishmania (L.) chagasi e sua correlação com a transmissibilidade para o vetor*. São Paulo : Tese apresentada ao programa pós-graduação em patologia experimental e comparada da faculdade de medicina veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo, 2008.



Lemesre, Jean-Loup; Holzmuller, Philippe; Gonçalves, Rachel Bras; Bourdoiseau, Gilles; Hugnet, Christophe; Cavaleyra, Mireille; Papierok, Gérard, 2007: Long-lasting protection against canine visceral leishmaniasis using the LiESAp-MDP vaccine in endemic areas of France: double-blind randomised efficacy field trial. *Vaccine*. 2007, Vol. 25, p. 4223-4234.

Lerner, Ethan A.; Ribeiro, Jose M. C.; Nelson, Robert J.; Lerner, Michael R., 1991: Isolation of maxadilan, a potent vasodilatory peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. *The journal of biological chemistry*. 1991, Vol. 266, p. 11234-11236.

Liew, F.Y. 1983. Specific suppression of responses to *Leishmania tropica* by a cloned T-cell line. *The journal of immunology*. 1983, Vol. 305, p. 394-399.

Maia, C.; Campino, L. 2008. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary parasitology*. 2008, p. 274-287.

Manna, Laura; Vitale, Fabrizio; Picillo, Esther; Neglia, Gianluca; Vescio, Francesco; Gravino, Angelo Elio, 2009: Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniasis. *The veterinary journal*, vol.182. 2009, p. 441-445.

Maroli, Michele, 2010: Strategic Control of *Leishmania* Vectors in Urban Areas. *Control of Leishmania vectors*. 2010, p. 1-4.

Maroli, Michele; Rossi, Luca; Baldelli, Raffaella; Capelli, Gioia; Ferroglio, Ezio; Genchi, Claudio; Gramiccia, Marina; Mortarino, Michele; Pietrobelli, Mario; Gradoni, Luigi, 2008: The northward spread of leishmaniasis in Italy: evidence from retrospective and ongoing studies on the canine reservoir and phlebotomine vectors. *Tropical medicina and international health*. 2008, Vol. 13, 256-264.

Medleau, Linda; Hnilica, Keith A., 2001: Small animal dermatology – A color atlas and therapeutic guide. USA: W.B. Saunders Company.

Melby, Peter C.; Yang, Jue; Zhao, Weiguo; Perez, Luis E.; Cheng, Jun, 2001: *Leishmania donovani* p36(LACK) DNA vaccine is highly immunogenic but not protective against experimental visceral leishmaniasis. *Infection and immunity*. 2001, Vol. 69, p. 4719-4725.

Mehlhorn, Heinz, 2008a: *Encyclopedia of parasitology - 3rd ed.* Berlin : Springer-Verlag, 2008. Vol. 1, 356-357.

Mehlhorn, Heinz, 2008b: *Encyclopedia of parasitology - 3rd ed.* Berlin : Springer-Verlag, 2008. Vol. 1, 702-711.

Mercier, P.; Jasmin, P.; Sanquer, A., 2003: Prevention of sand fly attack by topical application of permethrin/pyriproxyfen combination on dogs. *Veterinary therapeutics*, 4, 309-316.

Moreira, MA; Luvizotto, MC; Gracia, JF; Corbett, CE; Laurenti, MD, 2007: Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Veterinary parasitology*. 2007, Vol. 145, p. 245-252.

Moreno, J.; Nieto, J; Masina, S.; Cañavate, C.; Cruz, I.; Chicharro, C.; Carrillo, E.; Napp, S.; Reymond, C.; Kaye, P.M.; Smith, D.F.; Fasel, N.; Alvar, J., 2007: Immunization with H1, HASPB1 and MML Leishmania proteins in a vaccine trial against experimental canine leishmaniasis. *Vaccine*. 2007, Vol. 25, p. 5290-5300.

Moreno, Javier; Alvar, Jorge, 2002: Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in parasitology*. 9 de Setembro de 2002, Vol. 18, 399-405, p. 399-405.

Muñoz, Gerardo; Davies, Clive R., 2006: Leishmania panamensis transmission in the domestic environment: the results of a prospective epidemiological survey in Santander, Colombia. *Biomédica*. 2006, Vol. 26.

Nascimento, Evaldo; Miret, Jorge; Sampaio, Weverton; França, João Carlos; Fujiwara, Ricardo Toshio; Vale, André; Dias, Edelberto Santos; Vieira, Edvá; Costa, Roberto Teodoro da; Mayrink, Wilson; Neto, Antonio Campos; Reed, Steven, 2008: Evaluation of an immunochemotherapeutic protocol constituted of N-methyl meglumine antimoniate (Glucantime®) and the recombinant Leish-110f® + MPL-SE® vaccine to treat canine visceral leishmaniasis. *Vaccine*. 2008, Vol. 26, p. 1585-1594.

Nelson, Richard W.; Couto, C. Guillermo, 2009: Small Animal Internal Medicine 4th Ed. St.Louis Missouri- Mosby Elsevier, 810-841

Neves, Diana Brito da Justa, 2008: *Concentração de antimônio em plasma e pele de pacientes com leishmaniose cutânea - relação com efeitos colaterais após tratamento com antimoniato de n-metil-glucamina*. Brasília : Dissertação de mestrado apresentada à faculdade de ciências da saúde da Universidade de Brasília.

Niederwieser, Igor, 2004: *Leishmania infantum: molecular analysis for identification of potential virulence factors and genes os diagnostic use*. Basel : Universitat Basel, 2004.

Nieto, C. G.; García-Alonso, M.; Requena, J. M.; Mirón, C.; Soto, M.; Alondo, C.; Navarrete, I., 1999: Analysis of the humoral immune response against total and recombinante antigens of Leishmania infantum: correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis. *Veterinary immunology and immunopathology*. 1999, Vol. 67, p. 117-130.

Noli, Chiara, 1999: Canine leishmaniasis. *Waltham focus*. 1999, Vol. 9, p. 16-23.

Noli, Chiara e Auxilia, Silvia T., 2005: Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary dermatology*. 2005, Vol. 16, p. 213-232.

ONLEISH. www.onleish.org. [Online] [Citação: 13 de Março de 2010.] <http://www.onleish.org/index.php?article=25&visual=3>.

Otranto, Domenico; Paradies, Paola; Lia, Riccardo Paolo; Latrofa, Maria Stefania; Testini, Gabriella; Cantacessi, Cinzia; Mencke, Norbert; Galli, Gianluca; Capelli, Gioia; Stanneck, Dorothee, 2007: Efficacy of a combination of 10% imidacloprid/50% permethrin for the prevention of leishmaniasis inkennelled dogs in an endemic area. *Veterinary parasitology*. 2007, Vol. 144, p. 270-278.

Ortranto, D.; de Caprariis, D.; Lia, R. P.; Tarallo, V.; Lorusso, V.; Testini, G.; Dantas-Torres, F.; Latrofa, S.; Diniz, P.; Mencke, N.; Maggi, R. G.; Breitschwerdt, E.; Capelli, G.; Stanneck, D., 2010: Prevention of endemic canine vector-borne diseases using imidacloprid 10% and permethrin 50% in young dogs: A longitudinal field study. *Veterinary parasitology* (2010), doi:10.1016/j.vetpar.2010.05.017

Paixão, Diego Roque Zenha da, 2008: *Leishmaniose visceral canina (alazar)*. Goiânia : Dissertação apresentada ao curso de pós-graduação em clínica médica e cirúrgica de pequenos animais da Universidade de Castelo Branco, 2008.

Palatnik-de-Sousa, Clarisa Beatriz; Borja-Cabrera, Gulnara Patricia; Mendes, Amanda Cruz; Sousa, Edilma Paraguai de; Okada, Lilian Hashimoto; Trivellato, Fernando Antonio de A.; Kawasaki, Jarbas Kiyoshi A.; COsta, Andreia Cerqueira; Reis, Alexandre Barbosa; Genaro, Odair; Batista, Leopoldina Maria Melo; Palatnik, Marcos, 2004: Effective immunotherapy against canine visceral leishmaniasis with the FML-vaccine. *Vaccine*. 2004, Vol. 22, p. 2234-2243.

Palatnik-de-Sousa, Clarisa B., 2008: Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*. 26, 2008, p. 1709-1724.

Papa, Marianna Carminatti Martins, 2007: *Avaliação da capacidade fagocitária, produção de peróxido de hidrogénio e fator necrose tumoral por monócitos de pacientes com leishmaniose tegumentar americana*. Brasília : Universidade de Brasília, 2007.

Peiffer Jr; Robert L; Petersen-Jones; Simon M., 2001: *Small animal ophthalmology, 3rd edition*. London : W.B. Saunders, 2001.

Peixoto, Marco Aurélio da Silva, 2009: *Forma mucosa da leishmaniose tegumentar americana: estudo histopatológico e imuno-histoquímico de casos do hospital universitário de Brasília*. Brasília : Dissertação apresentada ao programa de pós-graduação em ciências da saúde da faculdade de ciências da saúde da Universidade de Brasília, 2009.

Pennisi, MG; De Majo, M; Masucci, M; Britti, D; Vitale, F; Del Maso, R., 2005: Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. *Veterinary record*. 2005, Vol. 156, p- 346-349.

Radin, M. Judith; Wellman, Maxey L., 1998: *Interpretación de la Citología Canina y Felina*. St. Louis, Missouri: Nestlé Purina PetCare.

Ramos, I.; Alonso, A.; Marcen, J.M.; Peris, A.; Castillo, J.A.; Colmenares, M.; Larraga, V., 2008: Heterologous prime-boost vaccination with non-replicative vaccinia recombinant vector expressing LACK confers protection against canine visceral leishmaniasis with predominant Th1-specific immune response. *Vaccine*. 2008, Vol. 26, p. 333-344.

Reis, A. B.; Teixeira-Carvalho, A.; Giunchetti, R. C.; Guerra, L. L.; Carvalho, M. G.; Mayrink, W.; Genaro, O.; Corrêa-oliveira, R.; Martins-Filho, O.A., 2006: Phenotypic features of circulating leucocytes as immunological markers for clinical status and bone marrow parasite density in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Clinical and experimental immunology*. 2006, Vol. 146, p. 303-311.



Reusch, Claudia E., 2005: Hyperadrenocorticism. In: Ettinger, Stephen; Feldman, Edward Eds Textbook of Veterinary Internal Medicine 6th ed. ST. Louis: Elsevier Saunders, Vol 2, p. 1592-1610

Rodriguez, Noris, 2003: Factores de virulencia en Leishmania y su relación con el desarrollo de la leishmaniasis. *Dermatología venezolana*. 2003, Vol. 41, p. 1-7.

Rougier, Sandrine; Vouldoukis, Ioannis; Fournel, Sandrine; Pérès, Sylvie; Woehrlé, Frédérique, 2008: Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniosis: A pilot study. *Veterinary parasitology*. 2008, Vol. 153, p. 244-254.

Rutteman, G.R., Withrow, S.J.; MacEwen, E.G., 2001: Tumors of the mammary gland. In *Small animal clinical oncology* 3rd ed. (p.455-477). Philadelphia: Saunders Elsevier.

Sanchez-Robert, Elisenda; Altet, Laura; Utzet-Sadurni, Mireia; Giger, Urs; Sanchez, Armand; Francino, Olga, 2008: Slc11a1 /formerly Nramp1) and suscepibility to canine visceral leishmaniasis. *Veterinary research*. 2008, Vol. 39, 1-12.

Saromichelakis, Manolis N.; Mylonakis, Mathios E.; Leontides, Leonidas S.; Billinis, Charalambos; Koutinas, Alexander F.; Galatos, Apostolos D.; Gouletsou, Pagona; Diakou, Anastasia; Kontos, Vassiolios I., 2005: Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*) in the endemic areas. *Veterinary parasitology*. 2005, Vol. 130, p. 199-205.

Scott, Danny; Miller, William; Griffin, Craig, 2002: *Dermatología en pequeños animales - 6ªed*. Buenos Aires : Inter-Médica.

Scott-Moncrieff, J. Catherine; Guptill-Yoran, Lynn, 2005: Hypothyroidism. In: Ettinger, Stephen; Feldman, Edward Eds Textbook of Veterinary Internal Medicine 6th ed. ST. Louis: Elsevier Saunders, Vol 2, p. 1535-1544

Sherding, Robert G., 2006: Systemic Mycoses. In Birchard e Sherding Eds *Saunders manual of small animal practice, 3rd edition*. Philadelphia : W. B. Saunders, 2006.

Silva, Francinaldo S., 2007: Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. *Revista trópica-ciências agrárias e biológicas*. 2007, Vol. 1, p. 20-31.

Silva, Sydney Magno, 2007: *Avaliação clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados por Leishmania (Leishmania) chagasi (Cunhas & Chagas, 1937), submetidos a um protocolo terapêutico em clínica veterinária de Belo Horizonte*. Belo Horizonte : Dissertação de mestrado apresentada ao curso de parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas, 2007.

Silva, Marcus Vinícius da, 2005: *Avaliação de testes sorológicos para leishmaniose visceral canina utilizando coleta de amostra sanguínea em papel de filtro*. Ouro Preto : Dissertação de mestrado apresentada ao programa de pós-graduação em ciências biológicas, 2005.

Solano-Gallego, Laia. 2001. *Leishmania infantum and dog: immunological and epidemiological studies about infection and disease*. Barcelona : Tese de doutoramento apresentada à faculdade de veterinária da Universidade Autónoma de Barcelona, 2001.



Solano-Gallego, L.; Koutinas, A.; Miró, G.; Cardoso, L.; Pennisi, M. G.; Ferrer, L.; Bourdeau, P.; Oliva, G.; Baneth, G., 2009: Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 1, 2009, Vol. 165, 1-18.

Titus, R. G., Bishop, J. V.; Mejia, J. S., 2006: The immunomodulatory factors of arthropod saliva and the potential for these factors to serve as vaccine targets to prevent pathogen transmission. *Parasite immunology*. 2006, Vol. 28, p. 131-141.

Valladares, Josep Enric; Riera, Cristina; González-Ensenyat, Pedro; Díez-Cascón, Angel; Ramos, Georgina; Solano-Gallego, Laia; Gállego, Montserrat; Portús, Montserrat; Arboix, Margarita; Alberola, Jordi, 2001: Long term improvement in the treatment of canine leishmaniasis using an antimony liposomal formulation. *Veterinary parasitology*. 2001, Vol. 97, p. 15-21.

Vexenat, J.A.; Croft, S.L.; Campos, J.H. Furtado; Miles, M.A., 1998: *Veterinary parasitology*. 1998, Vol. 77, p. 71-73.

Venco, Luigi, 2007: Heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs. In: Genchi, Claudio; Rinaldi, Laura; Cringoli, Giuseppe Eds *Dirofilaria immitis* and *D.repens* in dog and cat and human infections 119-124. IVIS

Villarreal, Mariana Ruiz, 2008: Leishmaniasis life cycle diagram. *Wikimedia Foundation*. [Online] 9 de November de 2008. [Citação: 12 de Maio de 2010.] http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/e/e0/Leishmaniasis_life_cycle_diagram_en.svg/755px-Leishmaniasis_life_cycle_diagram_en.svg.png.

Vouldoukis, Ioannis; Rougier, Sandrine; Dugas, Bernard; Pino, Paco; Mazier, Dominique; Woehrlé, Frédérique, 2006: Canine visceral leishmaniasis: Comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. *Veterinary parasitology*. 2006, Vol. 135, p. 137-146.

WHO. World Health Organization. [acesso em 8 de Maio de 2010] Disponível em: http://www.who.int/leishmaniasis/burden/hiv_coinfection/burden_hiv_coinfection/en/index.htm

1