



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO - UEMA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

ALESSANDRA ALMEIDA COSTA CURVINA

OCORRÊNCIA DE *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* EM GATOS
(*Felis catus*) DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.

SÃO LUÍS, MA

2016

ALESSANDRA ALMEIDA COSTA CURVINA

OCORRÊNCIA DE *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* EM GATOS
(*Felis catus*) DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.

Dissertação apresentada à Coordenação do Mestrado em
Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão
como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

SÃO LUIS,MA

2016

ALESSANDRA ALMEIDA COSTA CURVINA

**OCORRÊNCIA DE *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* EM GATOS
(*Felis catus*) DO MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO.**

Dissertação apresentada à Coordenação do Mestrado em
Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão
como requisito para a obtenção do Título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Aprovada em: ___ / ___ / 2017.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo (Orientador)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof^a Dra. Ana Clara Gomes dos Santos (1º Membro)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

Prof. Dr. Fábio Henrique Evangelista de Andrade (2º Membro)
Universidade Estadual do Maranhão – UEMA

RESUMO

Entre as doenças transmitidas por vetores nos seres humanos, a leishmaniose é considerada uma das mais importantes. A leishmaniose visceral é uma doença infecciosa de caráter zoonótico, cosmopolita e de grande impacto na saúde pública, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. A transmissão do parasita responsável pela leishmaniose, para animais susceptíveis, ocorre através da picada de fêmeas infectadas do gênero *Lutzomyia*, sendo no Brasil o vetor mais importante o *Lutzomyia longipalpis*. A leishmaniose é uma doença de caráter imunossupressor e por isso pode facilitar a co-infecção com outras doenças de caráter oportunista, como a Toxoplasmose. Este estudo teve como objetivo determinar a ocorrência da infecção por *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos (*Felis catus domesticus*), a fim de realizar um estudo sobre os aspectos epidemiológicos e clínicos da doença em felinos no município de São Luís. Foram realizadas coletas de sangue de 113 felinos provenientes de diferentes clínicas veterinárias particulares, diversas residências e três ONGs localizadas em áreas metropolitanas e rurais da cidade, para posterior realização de exames hematológicos e bioquímicos, assim como a realização de teste de Ensaio Imunoenzimático para *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii*. Os exames realizados foram hemograma completo e bioquímicos, tais como: TGO, TGP, Uréia e Creatinina. Os animais estudados foram animais com presença de sintomatologia clínica ou não para a doença, independentes de raça ou sexo e faixa etária a partir de 6 meses de idade. A prevalência de leishmaniose observada através da técnica de ELISA foi de 7,96% e a prevalência de toxoplasmose foi de 36,28%. Dos nove animais sororeagentes para *Leishmania* sp., sete (77,7%) apresentavam infecção simultânea com *Toxoplasma gondii*. Houve associação estatisticamente significativa entre a ocorrência de leishmaniose e toxoplasmose nos felinos estudados. Sendo assim, o presente estudo mostrou índices elevados de prevalência para ambas as doenças, verificou que a *Leishmania* sp e o *Toxoplasma gondii* são agentes circulantes na cidade de São Luís, Maranhão e que os felinos infectados são predispostos à coinfeção com *Toxoplasma gondii*.

Palavras-chave: Leishmaniose, *Toxoplasma*, Ensaio Imunoenzimático, São Luís.

ABSTRACT

Among the vector-borne diseases in humans, leishmaniasis is considered one of the most important. Visceral leishmaniasis is an infectious disease of zoonotic, cosmopolitan and of great public health impact caused by different species of *Leishmania* protozoa. The transmission of the parasite responsible for leishmaniasis, to susceptible animals occurs through the bite of infected female of *Lutzomyia*, and in Brazil the most important vector *Lutzomyia longipalpis*. Leishmaniasis is disease of immunosuppressive character and so can facilitate coinfection with other opportunistic diseases such as Toxoplasmosis. This study aimed to determine the occurrence of *Leishmania* sp and *Toxoplasma gondii* infection in domestic cats (*Felis catus domesticus*) in order to carry out a study on the epidemiological and clinical aspects of feline disease in the municipality of São Luís. Blood samples were collected from 113 felines which derived from various private veterinary clinics, various residences and three ONGs located in metropolitan and rural areas of the city, for subsequent hematological and biochemical exams, as well as the performance of an enzyme-linked immunosorbent assay for *Leishmania* sp. and *Toxoplasma gondii*. The tests performed was complete blood count and biochemists, as ALT, AST, Urea and Creatinine. The studied animals were with or without clinical symptoms for the disease, regardless of race or gender, and age from 6 months old. The prevalence of leishmaniasis observed by ELISA was 7.96% and the prevalence of Toxoplasmosis was 36.28%. Seven (77,7%) of the nine animals reactive to *Leishmania* sp., had concurrent infection with *Toxoplasma gondii*. There was a statistically significant association between the occurrence of the two diseases. Thus, this study showed high rates of prevalence of both diseases, found that the *Leishmania* and *Toxoplasma gondii*. are circulating agents in São Luís, Maranhão and infected cats are predisposed to co-infection with *Toxoplasma gondii*.

Key words: Leishmaniasis, *Toxoplasma*, Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, São Luis.

LISTA DE SIGLAS

SFM	Sistema Fagocítico Mononuclear
LF	Leishmaniose Felina
PPT	Proteínas Plasmáticas Totais
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
μm	Micrômetro
D.O	Densidade Óptica
ONGs	Organizações não Governamentais
VCM	Volume Corpuscular Médio
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
r.p.m	Rotações por Minuto
TGO	Transaminase glutâmico -oxalacética
TGP	Transaminase glutâmica pirúvica
IFN γ	Interferon Gama
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF α	Fator de necrose tumoral alfa
IL	Interleucina
DNA	Ácido desoxirribonucleico
PCR	Reação em Cadeia Polimerase
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
UFMG	Universidade Federal de Minas Gerais
LV	Leishmaniose Visceral

NK	Células Natural Killer
TH1	Linfócitos TH1
TH2	Linfócitos TH2
TCD4	Linfócitos TCD4

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Punção venosa em felino (Fotografia Original).	29
Figura 2. Processo de centrifugação das amostras (Fotografia Original).	30
Figura 3. Felino apresentando mucosas ictéricas (A) e felino apresentando alopecia e descamação farinácea generalizada com pontos de solução de continuidade; Importante dermatopatia (B) – (Fotografia Original).	34
Figura 4. Felino apresentando dermatite ulcerativa em região dorsal e seborréia generalizada (A) e felino apresentando anorexia e desidratação (B)- (Fotografia Original).	35

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1- Distribuição em forma percentual das principais alterações clínicas sistêmicas de 57 felinos com sinais clínicos presentes do município de São Luís, Maranhão. 34
- Gráfico 2- Doenças previamente diagnosticadas em felinos examinados para o projeto, no município de São Luís, Maranhão. 35
- Gráfico 3- Prevalência de leishmaniose e toxoplasmose nos felinos provenientes de clínicas particulares, residências e ONGs em São Luís, Maranhão. 41

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Frequência absoluta e frequência relativa de felinos provenientes de residências particulares, clínicas particulares e ONGs de São Luís, Maranhão.	33
Tabela 2- Variáveis referentes à sexo, faixa etária e condição clínica de 113 gatos estudados para ocorrência de leishmaniose felina e toxoplasmose em São Luís, Maranhão.	33
Tabela 3- Alterações hematológicas observadas nos felinos sintomáticos ou não para leishmaniose felina e toxoplasmose.	37
Tabela 4- Alterações bioquímicas observadas nos felinos sintomáticos ou não para leishmaniose felina e toxoplasmose.	38
Tabela 5- Frequência absoluta e frequência relativa referentes a sexo, faixa etária e condição clínica de nove felinos sororeagentes para <i>Leishmania</i> sp. em São Luís, Maranhão.	39
Tabela 6- Frequência absoluta e frequência relativa referentes a sexo, faixa etária e condição clínica de 41 felinos sororeagentes para <i>Toxoplasma gondii</i> em São Luís, Maranhão.	40
Tabela 7: Resultados do ELISA Indireto para <i>Leishmania</i> sp. em frequência absoluta e frequência relativa em relação aos felinos sororeagentes para <i>Toxoplasma gondii</i> provenientes do município de São Luís, Maranhão.	42

LISTA DE ANEXOS

Anexo 1- Termo de Consentimento	55
Anexo 2 – Ficha Clínica	56
Anexo 3- Condição clinica dos animais estudados	57
Anexo 4- Resultado do ELISA Indireto para <i>Leishmania</i> sp.	61
Anexo 5- Resultado do ELISA Indireto para <i>Toxoplasma gondii</i>	62

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
1.1 Objetivos	14
1.1.1 Geral	14
1.1.2 Específicos	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
2.1 Leishmaniose	15
2.1.1 Histórico	15
2.1.2 Epidemiologia.....	16
2.1.3 Etiologia	17
2.1.4 O vetor e a transmissão	18
2.1.5 Reservatórios	19
2.1.6 Imunopatogenia e Sinais Clínicos.....	19
2.1.7 Diagnóstico	21
2.1.8 Tratamento, controle e profilaxia.....	23
2.2. Toxoplasmose.....	24
2.2.1 Etiologia, Epidemiologia e Patogenia.....	24
2.2.2 Transmissão.....	25
2.2.3 Sinais Clínicos.....	26
2.2.4 Diagnóstico.....	26
2.2.5 Controle e Prevenção.....	26
2.3 Leishmaniose felina e sua associação com toxoplasmose.....	27
3 MATERIAL E MÉTODOS	28
3.1 Área de Estudo	28
3.2 Animais Estudados	28
3.3 Delineamento Experimental	29
3.4 Análise Hematológica	29
3.5 Análise Bioquímica.....	30
3.6 ELISA Indireto.....	31
3.7 Avaliação Clínica	32
3.8 Análise Estatística.....	32
4 RESULTADOS	32
4.1 População Estudada	32
4.2 Alterações Hematológicas.....	36
4.3 Alterações Bioquímicas.....	37
4.4 Detecção de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> através da técnica de ELISA indireto.....	38
4.5 Detecção de anticorpos anti- <i>Toxoplasma gondii</i> através da técnica de ELISA Indireto...	39
5 DISCUSSÃO.....	42
6 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS.....	48

ANEXOS

1 INTRODUÇÃO

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) a leishmaniose se torna mais presente no cenário mundial, a cada ano quase dois milhões de novos casos são registrados. No Brasil é estimado pelo Ministério da Saúde que aproximadamente 3 mil pessoas por ano contraem a *Leishmania* (CAROLINA GONÇALVES, 2013).

A leishmaniose visceral é uma doença endêmica em mais de 88 países com mais de 350 milhões de pessoas em risco (VITA et al., 2005).

A LV é uma doença infecciosa de caráter zoonótico, cosmopolita e de grande impacto na saúde pública, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*.

A transmissão do parasita responsável pela leishmaniose, para animais susceptíveis, ocorre através da picada de fêmeas infectadas do gênero *Lutzomyia*, sendo no Brasil o vetor mais importante o *Lutzomyia longipalpis* (LAISON - RANGEL, 2005).

Nos animais domésticos, as características clínicas são similares à forma visceral humana conjuntamente com complicações cutâneas graves. A grande maioria dos animais infectados não manifesta a doença (MIRÓ et al., 2008). O diagnóstico de primeira escolha nos animais domésticos com história e presença de sinais clínicos compatíveis com leishmaniose inclui a análise citológica dos tecidos lesados e análises sorológicas específicas.

A leishmaniose felina (*Felis catus*) tem sido relatada esporadicamente em várias partes do mundo, porém seu papel como reservatório da doença ainda não foi esclarecido completamente (LONGONI, 2012). A primeira referência à leishmaniose felina data de 1756 quando Russel, no relatório de sua viagem à cidade de Aleppo, na Síria, descreveu que, além do homem e dos cães, os gatos também eram acometidos pela doença (NAUCKE, 2000).

Alguns autores referem que os gatos possuem um certo grau de resistência natural à leishmaniose, na ausência de outra doença ou estado de imunossupressão, por apresentarem os títulos de anticorpos muito baixos e sinais estereotipados, não característicos. Os baixos títulos de anticorpos contra *Leishmania* spp. observados nos gatos têm sido geralmente atribuídos à capacidade destes animais para gerar anticorpos específicos contra um agente patogênico presente no seu meio, sem sofrer da doença (ROSSI, 2012). Importante salientar que o gato doméstico pode ser infectado por diversas espécies de *Leishmania*, podendo ou não ser sintomático e na maioria das vezes apresentar sinais clínicos inespecíficos, mais

comumente apresentados em forma de lesões ulceradas no focinho, lábios, orelhas e pálpebras e alopecia (MELLO, 1940).

De todas as espécies já detectadas com a enfermidade, o gato é o mais propício, após o cão, a adquirir os protozoários devido ao crescente número casos clínicos que estão sendo reportados e aos hábitos noturnos e crepusculares semelhantes ao do vetor (SIMÕES-MATTOS, 2005).

Em felinos, a doença geralmente está associada a outras enfermidades que causam imunossupressão, como a FIV (Vírus da Imunodeficiência Felina) e FeLV (Vírus da Leucemia Felina), infecção por *Toxoplasma gondii* ou outras doenças típicas dos felinos (ROSSI, 2007).

Apesar da ocorrência esporádica de infecções, os felinos ainda não são considerados reservatórios importantes para a doença (VITA et al., 2005).

A toxoplasmose é causada pelo protozoário *T. gondii*, parasita intracelular obrigatório que infecta mamíferos, aves e até o homem (LEVINE, 1985).

Os hospedeiros intermediários são todos os animais de sangue quente e os definitivos são os felídeos, tendo como principal representante os felinos domésticos (TENTER et al., 2001). Existem três formas infectantes do agente, os taquizoítos, bradizoítos (encontrados em cistos teciduais) e os oocistos (encontrada nas fezes de felinos). O homem e os animais podem adquirir a doença por três formas: infecção congênita, ingestão de cistos através de alimentos e água e ingestão de carne crua ou mal cozida na presença de bradizoítos (DUBEY, 2006).

Nos felinos, a doença geralmente tem caráter assintomático, mas quando há presença de sinais clínicos, os mais comuns são febre, letargia e anorexia (DUBEY, 1995).

Provavelmente na cidade de São Luís, existem animais portadores de *Leishmania* sp. e *T. gondii* e estes são erroneamente diagnosticados com outras afecções como dermatofitose, piodermite, demodicose, enterobacterioses de curso prolongado e neoplasias. A própria comunidade Veterinária desconhece a existência da leishmaniose nessa espécie.

Tendo em vista a importância da leishmaniose e da toxoplasmose por ser uma zoonose, diante do risco de transmissão para humanos no município de São Luís do estado do Maranhão, presença de felinos errantes nas áreas urbanas e periféricas, a escassez de informações acerca dessas enfermidades em felinos, a possibilidade de co-infecção com outras doenças e sua importância em saúde pública, justifica-se a realização de um estudo mais abrangente, específico em felinos, considerando-se por serem animais refratários da leishmaniose e hospedeiros transmissores da toxoplasmose, contribuindo assim para a

melhoria do diagnóstico destas enfermidades pelos médicos veterinários, que ainda as subdiagnosticam.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Geral

Determinar a ocorrência da infecção por *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii* em gatos domésticos (*Felis catus domesticus*), e realizar um estudo sobre a doença em felinos no município de São Luís, Maranhão.

1.1.1 Específicos

- Avaliar os sinais clínicos da infecção por *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii* em felinos do município de São Luís, Maranhão;
- Caracterizar as principais alterações hematológicas e bioquímicas da infecção por *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii* nos animais infectados;
- Detectar e quantificar anticorpos anti-*Leishmania* sp. através da técnica sorológica de Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA indireto);
- Detectar e quantificar anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* através da técnica sorológica de Ensaio Imunoenzimático Indireto (ELISA indireto)
- Pesquisar a presença de associação de infecção por *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* na população de felinos estudada;

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose

2.1.1 Histórico

As leishmanioses são doenças bastante antigas, endêmicas que afetam o homem, animais domésticos e silvestres e causam grandes transtornos para os indivíduos acometidos. Os incas, no início do primeiro século antes de Cristo, já retratavam em cerâmicas, ilustrações de lesões de pele e lesões faciais humanas. Na colonização espanhola, textos também documentavam lesões debilitantes em trabalhadores agrícolas, na época em que essas lesões eram chamadas de “doenças dos Andes” (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

Porém, os primeiros relatos comprovados de Leishmaniose humana ocorreram na Grécia em 1835 e na Índia em 1869. No ano de 1908, Nicolle e Comte atribuíram então o nome *Leishmania infantum* ao parasita, que descobriram o seu hospedeiro reservatório e que o cultivaram em laboratório pela primeira vez (WHO, 2010). Como a doença causa um aumento de pigmentação na pele e também causa febre, recebeu então o nome de Kala-jwar ou Kalazar, que significa febre negra (MARZOCHI et al., 1981).

Ronald Ross nomeou o gênero *Leishmania* em homenagem a Leishman e Donovan. Assim, o agente causador da doença foi denominado *Leishmania donovani* (PESSÔA - MARTINS, 1988; REY, 2001).

Existem três períodos no histórico da doença no Brasil. O primeiro, de origem incerta e vai até 1895, ano da observação clínica do 'botão da Bahia' e sua filiação ao 'botão do Oriente'. O segundo data-se até o ano de 1909, quando descrito o agente etiológico da 'úlceras de Bauru'. O terceiro se inicia em 1910 com o achado do parasita em lesões de mucosas (RABELLO, 1925).

Penna, em 1934, observou as formas amastigotas do parasito em lâminas histológicas do fígado de pacientes suspeitos de febre amarela, na região Nordeste do Brasil (BADARÓ - DUARTE, 1996).

O primeiro a observar a doença no cão e no homem foi Evandro Chagas em 1937, classificando o parasito como *Leishmania chagasi* (BADARÓ - DUARTE, 1996). Deane (1956) aponta o cão e a raposa como reservatórios naturais do parasito em áreas endêmicas e caracteriza a doença como zoonose no ano de 1956.

O primeiro surto da doença no Brasil foi na década de 50, na região de Sobral, no Ceará. A doença então começou a ser descrita em diversas outras regiões do país, além do Nordeste, onde somente antes apenas eram citadas (VICENTE SOBRINHO, 2010).

A primeira referência à leishmaniose felina data de 1756 quando Russel, no relatório de sua viagem à cidade de Aleppo, na Índia, descreveu que, além do homem e dos cães, os gatos eram acometidos pela doença (TORRES et al., 2006).

No ano de 1912 foi descrito pela primeira vez, na Argélia, a infecção de um felino de 4 meses de idade, pela leishmaniose. Este felino mantinha contatos diários com uma criança e um cão também infectados por leishmaniose visceral (COSTA et al., 2010).

A partir deste relato, mais de 40 casos clínicos foram relatados na Europa, incluindo Portugal, Itália, França, Espanha, Grécia e também, em países como Israel/Palestina, Egito, Suíça, Irã, Guiana Francesa, Venezuela e Brasil, todos apresentam áreas endêmicas para *Leishmania* spp (COSTA et al., 2010).

Em 1940, Mello relata o primeiro caso de leishmaniose felina em um gato que tinha lesões na orelha e no plano nasal, sem a identificação da espécie de *Leishmania* envolvida (SIMÕES-MATTOS et al., 2004). O primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral felina documentado nas Américas foi relatado por Savani e colaboradores no ano 2000. O felino era proveniente do município de Cotia no Estado de São Paulo. O animal apresentava quadro dermatológico caracterizado por lesão nodular no plano nasal além de emagrecimento progressivo e linfadenomegalia.

2.1.2 Epidemiologia

A leishmaniose é uma doença endêmica em 88 países, dos quais 66 correspondem a países do Velho Mundo e 22 a países do Novo Mundo e afeta 1 a 2 milhões de pessoas no mundo (GREENE, 2006).

Tem ocorrência em 47 países e tem como agente etiológico três espécies: *L. donovani* na Índia e leste da África; *L. infantum* na China, Ásia central, Europa e África; *L. chagasi*, na América do Sul e Central (CAMARGO et al., 2007).

A leishmaniose visceral é considerada uma doença re-emergente, caracterizando-se por processo de transição epidemiológica. Há um grande aumento na incidência da doença e sabe-se que vários são os fatores para este aumento, entre eles: urbanização crescente e desordenada, principalmente nas regiões Nordeste e Sudeste, convívio próximo com os reservatórios das doenças, como o cão e gato, constante processo migratório, o desmatamento

acentuado e a ocupação das matas residuais e encostas nos centros urbanos (CAMARGO et al., 2007; MARZOCHI, 1989) e principalmente o aumento do número do vetor e as condições higiênico- sanitárias da população.

No Brasil, a região Nordeste é a que tem a mais alta prevalência da doença. O cão é de grande importância epidemiológica na doença por ser considerado o principal reservatório no ambiente doméstico (BANETH et al., 2008).

Ainda não há uma prevalência real estimada em relação aos felinos, apesar de já terem sido desenvolvidos alguns estudos em áreas endêmicas para LV.

2.1.3 Etiologia

As leishmanioses são zoonoses causadas por protozoários pertencentes à família Trypanosomatidae e ordem Kinetoplastida, do gênero *Leishmania*. O gênero *Leishmania* é dividido no subgênero *Leishmania* e *Viannia*, de acordo com as diferenças no desenvolvimento dos insetos (GREENE, 2006).

São parasitas intracelulares obrigatórios e possuem ciclo biológico heteróxico. Possui como hospedeiros vertebrados, animais domésticos como os canídeos, felinos, animais silvestres como a raposa e também os seres humanos e roedores. Os hospedeiros invertebrados, são representados pelo vetor, exclusivamente fêmeas de insetos hematófagos (SCHLEIN, 1993).

A forma promastigota, encontra-se no intestino do hospedeiro invertebrado (GREENE, 2006), e possuem forma alongada, núcleo único e presença um flagelo anterior e um cinetoplasto - parte do parasita que contém material genético (ROSYPAL, ZAJAC - LINDSAY, 2003). As formas amastigotas são ovais ou redondas e medem de 2,5 a 5µm de comprimento e 1,5 a 2µm de largura (GREENE, 2006). Estas são encontradas no interior dos macrófagos dos hospedeiros vertebrados. Reproduzem-se por divisão binária, dentro das células do sistema mononuclear fagocitário em vários locais do organismo, até destruírem a célula hospedeira (ROSYPAL et al., 2003; URQUHART et al., 1998).

Em relação às diferentes espécies causadoras da leishmaniose no Novo Mundo, a classificação taxonômica foi baseada nas subespécies de *Leishmania braziliensis*, como: As responsáveis por causar lesões cutâneas e cutaneomucosas graves, *Leishmania braziliensis braziliensis*; responsáveis por causar lesões tegumentar benignas e sem metástases, *Leishmania braziliensis guyanensis*; lesões cutâneas benignas, *Leishmania braziliensis peruviana*; lesões que acometem principalmente o pavilhão auricular, benignas e que

raramente causam metástase, *Leishmania braziliensis mexicana*; e aquelas responsáveis por quadros drásticos de leishmaniose tegumentar difusa, *Leishmania braziliensis pifanoi* (NEVES et al., 2005).

2.1.4 O vetor e a Transmissão

As leishmanioses são transmitidas principalmente por meio dos vetores pertencentes à família Psychodidae, sendo exclusivamente a fêmea dos gêneros *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo (KENNER et al., 1999). Estes vetores são conhecidos popularmente no Brasil como “mosquito palha”, “tatuquiras”, “birigui”, “cangalhinha”, “asa dura” e “asa branca” (VICENTE SOBRINHO, 2010).

Os flebótomos são dípteros com pequenas dimensões, pernas e peças bucais longas. O comprimento do corpo pode atingir os 3 mm, possuem asas características, de formato aveludado e que formam um “V” quando recolhidas e possuem pilosidade bem densa que cobre o corpo (GREENE, 2006). Tem hábitos crepusculares e encontram-se normalmente junto dos locais onde se alimentam. Vivem cerca de 30 dias e habitam em locais úmidos, como sótãos, fendas de árvores e tocas. Habitam também em ambientes com dejetos e com grande variedade de matéria orgânica, pois estes os servem de alimento (ROSYPAL et al., 2003).

O clima é um fator de grande influência, assim como a época do ano. A atividade dos dípteros estende-se principalmente em meados de maio a dezembro.

Apenas as fêmeas têm hábitos hematófagos e utilizam os nutrientes do seu próprio sangue para o desenvolvimento dos seus ovos e realizam a transmissão da doença aos hospedeiros, ao picar, injetando as formas promastigotas metacíclicas infectantes na pele (ROSYPAL et al., 2003). Na epiderme do hospedeiro, as formas promastigotas são fagocitadas pelos macrófagos, onde transformam - se em formas amastigotas. Estas formas se multiplicam até romperem os macrófagos. Assim, as formas amastigotas são fagocitadas por novos macrófagos e a partir deste momento ocorre a disseminação hematogênica para outros locais de predileção, como a medula óssea, os linfonodos, o baço e o fígado (VERONESI et al., 1991).

A infecção do vetor ocorre quando a fêmea suga o sangue do mamífero contaminado ingerindo as formas amastigotas de *Leishmania* spp existentes no interior dos macrófagos. Já no flebótomo, na porção média do tubo digestivo, as formas amastigotas se reproduzem por divisão binária e transformam-se na forma promastigota, sendo estas

multiplicadas rapidamente até originarem novamente as promastigotas metacíclicas infectantes em cerca de 3 a 4 dias (BRASIL, 2003).

Outras formas de transmissão da doença tem sido relatadas, como por transmissão transplacentária, por transfusão sanguínea, iatrogênica e até transmissão através de picada de pulgas e carrapatos (TORRES,2015).

2.1.5 Reservatórios

Comumente, os reservatórios do parasito são os mamíferos, sendo os canídeos considerados os principais reservatórios. A raposa (*Dusicyon vetulus*) é o reservatório de maior importância no ciclo silvestre e o cão no ciclo rural e hoje em dia, também nas áreas urbanas e tem um papel fundamental na expansão da doença em áreas endêmicas (ASHFORD, 1996; SLAPPENDEL et al.,1990). No ciclo silvestre, também são considerados os marsupiais (*Didelphis albiventris*) e tamanduás (*Tamandua tetradactyla*) (SANTA ROSA E OLIVEIRA,1997, REIS et al.,2005, OLIVEIRA, 2015).

O cão foi considerado o principal reservatório doméstico da *Leishmania chagasi* devido a sua grande proximidade com o homem e pelo fato do mesmo ser um animal que possui grande parasitismo cutâneo, sendo assim uma grande fonte de infecção para o vetor, o flebotomíneo e conseqüentemente sendo de grande importância para a infecção do ser humano (FEITOSA et al., 2000)

Seres humanos e felinos são considerados hospedeiros acidentais, mas conforme são feitos novos estudos acerca do papel dos felinos na cadeia epidemiológica da doença, fortes evidências tem estabelecido a importância destes como reservatórios (LAPPIN, 2006).

2.1.6 Imunopatogenia e Sinais clínicos

É muito complexa a relação estabelecida entre parasita-hospedeiro e distinguem-se fatores dependentes de ambos. Em relação ao parasita, tais fatores relacionam-se com a espécie e os fatores relacionados ao hospedeiro são a capacidade imunitária de cada indivíduo para direcionar a resposta imune para o tipo imune ou humoral, sendo que estes definirão o curso da doença (CAMPILLO et al., 1999; GENARO, 1993; PINELLI et al.,1994). Ocorre a participação de diversas células produzidas pelo organismo para que a infecção não evolua. São os mecanismos de defesa do organismo. Entre eles, podemos citar a participação de neutrófilos, eosinófilos, seguindo-se o aparecimento de macrófagos, além das células NK,

linfócitos Th1 e Th2, citocinas como IFN- γ , TNF- α , variados tipos de interleucinas e outras células do sistema monocítico fagocitário (SILVA. L, 2016).

Após a inoculação do parasita no hospedeiro, os animais que são resistentes à infecção, promovem a ativação de células TCD4 + Th1, produzindo então Interferon gama (IFN γ), Fator de necrose tumoral alfa TNF α), IL 1 e 12 que ativam os macrófagos para destruírem as formas parasitárias amastigotas. Já nos animais em desenvolvimento dos sinais clínicos, as células TCD4 + Th1 encontram-se suprimidas. Há então a ativação de células TCD4+ TH2, produzindo IL 4, IL 6, IL 10 e IL 13, promovendo uma grande produção de anticorpos (PINELLI et al., 1994). Esses anticorpos podem agir contra os próprios eritrócitos, trombócitos e proteínas nucleares, caso o organismo não consiga conter a infecção.

A resposta humoral, resposta para os animais susceptíveis, também favorece mecanismos imunopatogênicos, estes são causados por autoanticorpos e complexos imunitários produzidos pela estimulação policlonal de células B, que levam à produção exacerbada de imunoglobulinas, tanto específicas como inespecíficas. Estes estão associados ao aparecimento de miocardite, dermatomiosite, alterações hepáticas, renais e vasculares, anemia e leucopenia (CAMPILLO, 1999).

Na resposta de tipo humoral, há a formação de depósitos de complexos imunes circulantes (CIC), que são formados pela união de antígenos da *Leishmania*, imunoglobulinas IgG ou IgM e frações do complemento. O depósito de CIC sobre o endotélio vascular ocasiona uma reação de hipersensibilidade do tipo III (CAMPILLO, 1999).

No início da infecção, não há nenhuma sintomatologia línica, mas pode haver progressão para uma doença sintomática, a não ser que a replicação das formas amastigotas sejam interrompidas. Assim, animais assintomáticos são naturalmente resistentes à doença e os animais sintomáticos são aqueles susceptíveis (GREENE, 2006).

A leishmaniose é uma doença que possui uma grande variabilidade de sintomatologia, haja visto que é uma doença de caráter sistêmico. Porém cada quadro clínico é particular para cada animal (CAMPILLO, 1999).

A leishmaniose visceral é a forma mais grave das leishmanioses, pois tem evolução crônica, sistêmica e fatal. Os animais afetados podem apresentar sinais inespecíficos como febre irregular, anemia, anorexia e caquexia (FEITOSA et al., 2000).

Mercanti em 1998, classificou os animais portadores da doença em três classes: assintomáticos, animais sem sinais clínicos de infecção; oligosintomáticos, animais que apresentam linfadenopatia, perda de peso e alopecia e sintomáticos, aqueles animais que apresentam todos ou quase todos os sinais clínicos severos da infecção por *Leishmania*, sendo

comuns sintomas como alterações dermatológicas (alopecia, hiperqueratose, espessamento e nódulos intradérmicos sobre o focinho, as orelhas externas e coxins, onicogribose) linfadenopatia, esplenomegalia, uveíte, ceratoconjuntivite (ETTINGER & FELDMAN, 2004).

Os felinos geralmente são animais que possuem uma resistência natural à doença e por isso, na maioria das vezes são assintomáticos. Porém alguns animais podem desenvolver sintomatologia clínica, que pode variar de perda de peso, poliúria, polidipsia, depressão, vômito, tosse, espirros, diarreia, problemas cutâneos como alopecia facial e ulcerações, icterícia, linfadenomegalia, esplenomegalia e nefrite (LAPPIN,2006).

Como alterações hematológicas em animais doentes, os achados mais comuns são uma anemia do tipo normocítica normocrômica não regenerativa e trombocitopenia, causadas geralmente por aplasia da medula óssea, insuficiência renal e hemólise (COSTA –VAL et al.,2006).Como alterações bioquímicas mais frequentes achadas em animais doentes, temos a hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, assim como alterações em enzimas hepáticas e renais (GARCIA et al.,2006)

A doença tem caráter imunossupressor, e por esse motivo favorece o estabelecimento de outras doenças oportunistas e coinfeções (ZULPO, 2012).

2.1.7 Diagnóstico

A primeira opção para o diagnóstico da doença consiste em uma boa anamnese e exame físico, dados epidemiológicos da região, alterações bioquímicas e hematológicas e descartar outras doenças (CAMPILLO, 1999).

O diagnóstico parasitológico é dirigido para evidenciar a presença do parasita, a partir de diversas amostras de um animal infectado pela Leishmania. Existem métodos diretos ou indiretos para indicar sua presença (CAMPILLO,1999).

A Pesquisa do parasito através de achados de formas amastigotas obtidos através da punção medular, linfonodos, baço e fígado, obtidos através de esfregaços de lâminas coradas pelo Giemsa ou Panótico, caracterizam o diagnóstico parasitológico direto (LAURENTI, 2010). Assim sendo, a visualização de uma única célula parasitada com formas amastigotas de Leishmania pelos métodos parasitológicos diretos é patognomônica da existência de infecção, porém a sensibilidade do método depende do grau de parasitemia, do material biológico coletado e do tempo de leitura da lâmina (MAIA, 2005).

Pode-se realizar a biopsia de pele para a visualização do parasito, tendo em mente que deve ser realizada aquando há lesões na pele (CAMPILLO et al., 1999).

Quanto ao método indireto, destacam-se dois procedimentos: o isolamento de *Leishmania* em meio de cultura - o parasita multiplica-se até serem visualizadas as formas promastigotas com o auxílio do microscópio- e o xenodiagnóstico. Estes métodos de diagnóstico são limitados pela baixa sensibilidade e por resultados frequentemente inconclusivos (GOMES et al., 2008).

O diagnóstico sorológico tem sido bastante utilizado na atualidade, por serem técnicas rápidas e práticas. Porém por possuírem boa sensibilidade e baixa especificidade, podem levar a um falso positivo. Já foram descritas reações cruzadas com *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis* e *Babesia canis* (LAPPIN, 2006).

A verificação da existência de anticorpos específicos anti-*Leishmania*, geralmente do tipo IgG, no soro sanguíneo, é o objetivo destes métodos. Também foram encontrados, mas de forma menos frequente, no humor aquoso e no líquido céfalo-raquidiano (SOLANO-GALLEGO et al., 2003).

A presença de anticorpos não implica sempre a existência de infecção. Cerca de 10% dos animais infectados que possuem títulos serológicos significativamente elevados nunca evoluem para a doença em si (MAIA, 2005).

O ensaio imunoenzimático (ELISA) mostra-se ser um método de diagnóstico valioso na detecção da doença por apresentar alta sensibilidade e por poder ser realizado de forma rápida. A reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), também é de fácil execução e também possui sensibilidade alta (NEVES et al., 2005).

O método de aglutinação direta também é uma técnica com elevada sensibilidade e especificidade, e tem como vantagens o baixo custo empregado e a ausência de equipamento específico para a sua realização (CAMPILLO et al, 1999).

Como técnica molecular, temos a reação em cadeia de polimerase (PCR), técnica que se baseia na detecção de fragmentos de DNA do parasita nos tecidos do portador da doença superando assim as limitações encontradas nos métodos sorológicos.

Falsos-negativos podem ocorrer se existir uma pequena quantidade de parasitas no material utilizado. O aspirado de medula óssea é considerado o tecido de eleição, seguido pelo linfonodo e pelo sangue (ROSYPAL et al., 2003).

O PCR pode ser de forma qualitativa ou de forma quantitativa, através da técnica real-time PCR, que permite a quantificação do ácido nucleico pela análise da cinética do PCR durante a amplificação. No método qualitativo de PCR só há amplificação do DNA quando existem mais de 30 parasitas/ml em amostras recolhidas de medula óssea. Porém, através do

PCR quantitativo basta apenas 1 parasita/ml para demonstração de resultados positivos, sendo por isso superior à forma qualitativa do método (FERRER, 2008).

2.1.8 Tratamento, Controle e Profilaxia

A leishmaniose em animais domésticos é mais resistente ao tratamento que a leishmaniose que acomete o homem, e apenas uma pequena quantidade de espécies do gênero *Leishmania* são completamente eliminadas pelos fármacos disponíveis (GREENE, 2006).

Assim como nos cães, não existe um protocolo específico para tratamento da leishmaniose felina. O tratamento dos animais com leishmaniose no Brasil, ainda é visto como um Tabu, por ser muito difícil, oneroso e parcialmente eficaz. Não há eliminação total dos parasitas no organismo do animal, apenas uma cura clínica. O tratamento para leishmaniose em animais domésticos deve ser individualizado, haja visto que cada organismo apresenta uma sintomatologia clínica diferente. O tratamento padrão, mais comumente utilizado, envolve uma combinação de antimônio e alopurinol, como a primeira opção (CAMPILLO, 1999).

O tratamento de felinos com leishmaniose ainda é pouco descrito e utilizado no Brasil, provavelmente pelo fato de ser uma doença subdiagnosticada e pelo fato de não existirem trabalhos suficientes acerca do assunto.

De acordo com a Portaria Interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008, a qual proíbe o tratamento de cães com LV com medicações de uso humano, a proibição se deve por não existir até o momento uma garantia de que os fármacos existentes sejam eficazes ou que haja redução na transmissão da doença (MAPA, 2008).

É necessário monitorizar a resposta terapêutica de um animal com leishmaniose, sempre realizando exames bioquímicos e hematológicos. Aconselha-se fazer o controle a cada 3 a 6 meses. Por ser uma doença imunossupressora, há uma grande possibilidade de em um animal doente, existem coinfeções com outras doenças. Assim, o tratamento deve-se abranger para estas doenças também (CORRALES E MORENO, 2006).

Existem algumas medidas que podem ser adotadas para o controle e profilaxia dos animais, tais como: proteção dos animais por meio de inseticidas tópicos à base de deltametrina, com o objetivo de repelir flebotomíneos, vacinação, eliminação de dejetos e matéria orgânica no ambiente e utilização de repelentes à base de citronela, são medidas que tem mostrado efeitos adicionais no controle da leishmaniose visceral, porém a canina (NOÉ, 2015). Em relação à prevenção e controle da leishmaniose felina, ainda não há medidas

eficazes, pois o papel dos mesmos na cadeia epidemiológica da doença ainda não foi esclarecido, impossibilitando assim medidas profiláticas disponíveis no mercado (TORRES et al., 2006).

2.2. Toxoplasmose

2.2.1. Etiologia, Epidemiologia e Patogenia

A toxoplasmose é uma zoonose causada pelo protozoário coccídeo *Toxoplasma gondii*, um parasita intracelular obrigatório sendo considerada uma das parasitoses mais frequentes no homem e nos animais homeotérmicos. É um protozoário capaz de infectar e se replicar em qualquer célula nucleada dos seus hospedeiros intermediários, mamíferos e aves. (BALDOTTO, 2015).

Por ser uma zoonose e causar doenças congênitas e abortos no hospedeiro intermediário, o *Toxoplasma gondii* tem sido, dentre os coccídeos, o mais intensamente estudado (TENTER et al., 2000).

Os seres humanos, outros mamíferos e aves são considerados hospedeiros intermediários, enquanto o felino doméstico constitui-se em um dos hospedeiros definitivos do *Toxoplasma gondii*. Por este motivo, são em sua maioria assintomáticos para esta doença (DUBEY, 2010).

É pertencente ao filo Apicomplexa, subfamília Toxoplasmatinae, gênero *Toxoplasma* (DUBEY, 2010).

Tem três estágios distintos: taquizoítos, bradizoítos (contidos em cistos teciduais) e esporozoítos (em oocistos) (MONTROYA & LIESENFELD, 2004).

Os taquizoítos possuem forma de meia-lua, com uma das extremidades e podem chegar a medir cerca de 2 x 6µm. Penetram ativamente nas células hospedeiras e possuem um vacúolo parasitóforo. Dentro destes vacúolos, multiplicam-se por endodiogenia e então rompem as células hospedeiras, atingindo a corrente sanguínea e invadindo novas células (NEVES et al., 2015; DUBEY, 2004). Esta forma móvel é encontrada na fase aguda da infecção.

Alguns taquizoítos iniciam a segunda fase da infecção como cistos teciduais. São os bradizoítos a forma encontrada na fase crônica da infecção. Os bradizoítos se multiplicam de forma lenta dentro dos cistos por endodiogenia. Esta forma é persistente por toda a vida do hospedeiro e a reação de infecções latentes se dá em hospedeiros imunodeprimidos. Os

bradizoítos são mais resistentes ao suco gástrico do que os taquizoítos. Estes cistos são encontrados principalmente em células músculo-esqueléticas, nervosas e cardíacas (DUBEY,2010).

Ao serem ingeridos pelos hospedeiros intermediários, os bradizoítos multiplicam-se novamente por endodiogenia e logo após por endopoligenia nas células do intestino delgado. Logo após inicia-se o processo de gamogonia, iniciando então a formação dos oocistos. Contem dois esporocistos elipsoidais com quatro esporozoítos cada, os quais se tornam infectantes aos seus hospedeiros intermediários (DUBEY et al., 1998; MONTOYA & LIESENFELD, 2004).

O oocisto é a forma infectante e é produzido no intestino de felídeos. Tem uma parede resistente às condições ambientais e é eliminado pelas fezes ainda não infectante. Após exposição ao ar e à umidade, ocorre esporulação em até cinco dias e forma um oocisto contendo dois esporocistos elipsoidais com quatro esporozoítos, formando assim a forma infectante (MENTGENS 2015).

2.2.2 Transmissão

A infecção no hospedeiro pode ser causada de forma horizontal, pela ingestão de oocistos infectantes; forma horizontal por ingestão de cistos teciduais existentes em carne mal cozida ou crua e vertical de por transmissão transplacentária de taquizoítos e pelo leite da mãe (BOWMAN, 2002). Hábitos dos felinos como enterrar as fezes, favorecem para que os oocistos tenham uma condição ideal de sobrevivência: umidade, oxigenação e temperatura, podendo assim permanecer ativos por até 18 meses no meio ambiente.

A transmissão por via transplacentária constitui a forma de transmissão mais grave da doença. Ocorre quando taquizoítos presentes no sangue da mãe passam para o feto através da placenta, ou quando ocorre o rompimento de cistos no endométrio. Riscos como aborto e infecção do feto podem ocorrer em mães que adquirem a doença no primeiro trimestre da gravidez e no segundo trimestre ocorrem riscos como aborto ou nascimento prematuro, podendo a criança nascer normal ou com diversos e graves problemas de saúde. Caso a mãe adoença no terceiro trimestre da gravidez, a prole pode nascer normal ou apresentar sintomatologia em até meses após o parto (NEVES et al., 2005).

2.2.3 Sinais Clínicos

A doença com manifestação clínica não é muito freqüente em felinos, porém pode ocorrer caso haja baixa na imunidade do mesmo (DUBEY, 1986). A patogenia e os sinais clínicos são determinados principalmente pela cepa infectante, imunidade, forma de transmissão e pelo local e pela extensão dos danos ao órgão envolvido.

A sintomatologia clínica pode ocorrer na fase aguda ou na crônica, quando há reativação dos parasitos encistados causados por imunossupressão (BARR, 2003).

Os sintomas em felinos são inespecíficos, porém os mais frequentes são: depressão, anorexia, febre seguida por hipotermia, efusão peritoneal, icterícia, uveíte, diarreia, convulsões, paresia, tremores e dispnéia (LAPPIN, 2004; BARROS 2014).

2.2.4 Diagnóstico

O diagnóstico pode ser feito através da anamnese, histórico e condição clínica do animal associado com os achados laboratoriais. Como a maioria dos felinos são assintomáticos para a doença e quando sintomáticos os sinais clínicos são bastante inespecíficos e parecidos com os de outras doenças, os testes laboratoriais são de suma importância para fechar diagnóstico. Como forma de detecção indireta, existem os testes sorológicos, como o ELISA e como forma de detecção direta, podemos citar o PCR, exames parasitológicos, demonstração histopatológica nos tecidos, hibridação (LIESENFELD, 2004).

2.2.5 Controle e prevenção

Em relação aos humanos, deve-se evitar o consumo de carnes cruas, alimentos mal cozidos, frutas e verduras mal lavadas e consumo de água não potável pois uma das principais formas de contágio se dá através da ingestão de oocistos presentes nestes alimentos. Após o contato com fezes provenientes de caixas de areia utilizadas por felinos, terras de jardinagens e utensílios possivelmente infectados deve-se lavar bem as mãos com sabão para se evitar assim ingestão de oocistos esporulados (DABRITZ et al., 2010). Gestantes devem restringir o contato com fezes de felinos (DUBEY,2004).

Em relação aos animais de produção, devem ser adotadas boas práticas de manejo, controle de roedores e felinos nas instalações e vacinação (NAVARRO 2011).

Em relação aos felinos, deve-se alimentá-los exclusivamente com rações comerciais, manter o bebedouro, comedouro e ambiente em que o animal vive sempre limpos (HILL e DUBEY, 2002).

Pacientes imunossuprimidos e gestantes soronegativas devem realizar testes sorológicos periódicos (LOPES et al., 2009).

2.3. Leishmaniose felina e sua associação com Toxoplasmose

Infecções simultâneas de leishmaniose e toxoplasmose têm sido bastante relatadas, assim como infecções simultâneas com FIV e FeLV. Isso acontece devido à imunossupressão causada pela leishmaniose nos animais facilitando e dando porta de entrada para agentes de caráter oportunista e posterior manifestação clínica.

Sobrinho et al., em 2010, observou uma soroprevalência de infecção pelo *Toxoplasma gondii* em uma população de 251 felinos avaliados, de 20,32% e de *Leishmania* sp. de 21,85%. Lucas et al. em 1998, verificaram uma moderada associação entre a ocorrência de toxoplasmose e leishmaniose. Contudo, demonstraram que apesar da ocorrência de coinfeção por *Leishmania* sp., *Toxoplasma gondii* e/ou FIV 56,06% aniamais possuíam apenas leishmaniose visceral, o que sugere que numa área endêmica para a doença esta espécie animal pode se infectar independente de outras doenças.

Lima et al., em 2015 encontraram uma prevalência de 15,79% com infecção simultânea de *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* em uma população de 73 felinos estudados, demonstrando assim o caráter imunossupressor da doença.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Área de Estudo

A localidade em que foi realizada a pesquisa é o município de São Luís, capital do estado do Maranhão. O município de São Luís ocupa uma área de 828,01 Km² e está localizado no Nordeste do Brasil a 2° ao Sul do Equador. Segundo dados do Censo 2000 - IBGE, o município possui 870.028 habitantes, sendo 837.584 na área urbana e 32.444 na área rural (Prefeitura de São Luís)

O município ocupa mais da metade da ilha (57%), e conforme registros da Fundação Nacional de Saúde (1996), a população está distribuída em centro urbano com 122 bairros (que constituem a região semi-urbana) e 122 povoados (que formam a zona rural). A cidade está dividida em 15 setores fiscais e 233 bairros, loteamentos e conjuntos residenciais (Prefeitura de São Luís).

A cidade de São Luís, capital do Maranhão, formou-se na península que avança sobre o estuário dos rios Anil e Bacanga, estando a 2° 31` 47`` de latitude, 44° 18` 10`` longitude, e a uma altitude de 24.391 m. Limita-se com o Oceano Atlântico, ao Norte; com o Estreito dos Mosquitos, ao Sul; com a Baía de São Marcos, a Oeste (IBGE, 2005).

O clima é o tropical quente e úmido, com duas estações: a chuvosa (janeiro a junho), com precipitação pluviométrica média de 1.954mm, e a de estiagem (julho a dezembro). A temperatura varia entre 28°C e 30°C (GONÇALVES, NETO E REBÊLO, 2004).

3.2 Animais Estudados

A presente pesquisa foi realizada através da coleta de sangue de 113 animais provenientes de diversas Clínicas Veterinárias particulares e felinos pertencentes a diversas residências particulares situadas em áreas urbanas, periurbanas e rurais da cidade e em felinos pertencentes a três ONGs. Os animais estudados foram independentes de raça e sexo, com peso corporal variável, sintomatologia clínica presente ou não e faixa etária a partir dos seis meses de idade. Os proprietários ou tutores foram devidamente esclarecidos quanto ao experimento e deveriam autorizar mediante assinatura de termo de consentimento. Os animais passaram por anamnese e exame físico e para isso foram feitas fichas clínicas para cada um dos animais.

3.3 Delineamento Experimental

Amostras de sangue de 113 animais foram coletadas e colocadas em tubos com EDTA e sem EDTA . As amostras foram obtidas a partir de venopunção de veia cefálica ou jugular. Os animais passavam por cuidados gerais de assepsia antes da coleta. O volume de sangue variava entre 2,5 mililitros (mL) e 4 mililitros (mL). As amostras com EDTA foram processadas em até 8 horas para a realização do hemograma. As amostras foram armazenadas em caixas de isopor contendo cubos de gelos para que fossem conservadas até chegarem ao laboratório “LA PET”.



Figura 1. Punção venosa em felino (Fotografia Original).

3.4 Análise hematológica

Após assepsia na região da coleta (membro anterior ou pescoço), a colheita de sangue foi realizada através da punção da veia cefálica ou jugular, com agulhas de calibre 25 x 0,7 mm, acopladas a seringas estéreis de 5 mL para obter um volume mínimo de quatro mililitros (mL) de sangue. No Laboratório “LA PET”, foi utilizado um contador automático de células para uso veterinário (modelo SDH-3 VET) para a determinação do número de leucócitos, hemácias, concentração de hemoglobina, hematócrito, volume corpuscular médio (VCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e hemoglobina corpuscular média (HCM). As proteínas plasmáticas totais foram determinadas com o auxílio do refratômetro.

3.5 Análise bioquímica

Para avaliação do perfil renal e hepático dos animais e a realização do ELISA Indireto, as amostras sanguíneas foram colhidas e armazenadas em tubos sem EDTA. O soro foi obtido após sua coagulação em temperatura ambiente por 10 minutos. As amostras foram armazenadas em caixas de isopor contendo cubos de gelos para que fossem conservadas até chegarem ao laboratório “LA PET” e serem centrifugadas a 5000 r.p.m durante cinco minutos para melhor separação dos soros. Depois de separados, os soros foram retirados dos tubos sem EDTA por meio de ponteiros e transferidos para microtubos tipo “eppendorf” e congelados em temperatura de -20°C até serem enviados ao laboratório de Imunodiagnóstico das Doenças Infecciosas dos Animais Domésticos da Universidade Federal de Minas Gerais. Para determinação das enzimas hepáticas, foram utilizados os testes AST/got liquiform-LABTEST e ALT/gpt liquiform-VET-LABTEST e para determinação das enzimas renais, foram utilizados os testes CREATININA K VET-LABTEST e UREIA UV liquiform VET-LABTEST.



Figura 2. Processo de centrifugação das amostras (Fotografia Original).

3.6 ELISA Indireto

Os ensaios para a padronização das diluições apropriadas do soro de gatos e determinação da concentração do anticorpo IgG total anti-gato (ELISA-IgG) foram realizados nas diluições de 1:25, 1:50, 1:100, 1:200, 1:400, 1:800 e 1:1600 do soro dos animais controle positivo e negativo; bem como diluições de 1: 5000, 1: 10000, 1:20000, 1:40000 e 1:80000 do anticorpo antiIgG marcados com peroxidase. Desta maneira, a escolha das melhores diluições foi estabelecida pelas diferenças das densidades ópticas médias dos dois controles, em duplicata, tendo sido consideradas a diluição de 1:200 de soro e 1:80000 de anticorpo IgG total anti-gato. Após a titulação em bloco, padronizaram-se as seguintes condições para o teste de ELISA indireto: as microplacas foram sensibilizadas com antígeno total de *Leishmania chagasi* e *Toxoplasma gondii* numa concentração de 20 µg/mL em tampão carbonatobicarbonato 0,05 M, pH 9,5 e incubadas 18 horas a 4°C.

Após a lavagem com PBS-T por três vezes, as placas foram bloqueadas com 150 µL de solução salina tamponada acrescida de leite em pó desnatado a 10% e incubadas à 37°C durante duas horas em câmara úmida. Adicionaram-se 100 µL, por poço, das amostras de soro dos gatos, dos controles positivos e dos controles negativos. As mesmas foram testadas em duplicata e diluídas 1:200 em solução salina tamponada contendo 0,05% de Tween 20 (PBS-T) e, as placas foram incubadas por uma hora à 37°C. Aplicaram-se 100 µL, por poço, do conjugado anti-IgG total de gato marcados com peroxidase, previamente diluídos 1:80.000 em PBS-T 0,05%.

Após a incubação durante 45 minutos à 37°C foram adicionados 100 µL da solução de tetrametilbenzidina dihidroclorada (TMB). As microplacas foram incubadas em câmara escura por 30 minutos à 25°C. A reação foi interrompida adicionando-se 50 µL de ácido sulfúrico 2N (H₂SO₄) e, a densidade óptica (D.O.) foi determinada em leitor de ELISA, utilizando-se o comprimento de onda de 405 nm. Entre cada etapa as microplacas foram lavadas com PBS-T por três vezes.

Os resultados foram expressos pela média da densidade óptica obtida dos soros em duplicata. Como controles positivos da reação utilizou-se soro de gatos parasitologicamente positivos com elevados títulos de IgG anti-*Leishmania chagasi* e anti-*Toxoplasma gondii* e como controles negativos, soro de gatos hípidos e provenientes de área não endêmica para leishmaniose e toxoplasmose.

3.7 Avaliação Clínica

Todos os animais participantes do projeto foram submetidos a uma anamnese e avaliação semiológica detalhada e identificados individualmente em uma ficha clínica padrão (VIDE ANEXO 1). Ao proprietário foram feitas perguntas sobre quaisquer alterações observadas ou não nos animais. No caso dos animais provenientes de clínicas particulares da cidade, informações pregressas a respeito de diagnósticos formados e sintomatologia clínica foram colhidas com os Médicos Veterinários que os acompanhavam clinicamente e nova avaliação foi feita para o projeto.

3.8 Análise Estatística

Os resultados foram submetidos à análise estatística:

- As análises de variáveis foram feitas através do qui-quadrado (X^2) e do Teste exato de Fisher (LSD). O emprego dos dois testes foi utilizado quando conveniente. As análises foram realizadas utilizando-se os programas estatísticos “R” e “Minitab”.

4 RESULTADOS

4.1 População estudada

A população estudada foi composta por 113 gatos. Estes foram divididos em três grupos quanto a sua procedência. Grupo I, aqueles provenientes de diversas residências particulares, Grupo II, provenientes de diversas clínicas particulares e grupo III, provenientes de três ONGs da cidade (Tabela 1).

Dentre os animais estudados, 62 (54,87%) eram machos e 51 (45,13%) fêmeas. Em relação à idade, 38 (33,62%) animais tinham faixa etária compreendida entre seis (6) meses e um (1) ano de idade, 54 (47,8%) tinham faixa etária compreendida entre um (1) e três (3) anos de idade e 21 (18,58%) tinham idade superior a três (3) anos (Tabela 2).

Clinicamente, 57 (50,44%) dos animais não tinham sintomatologia clínica ou eram clinicamente sadios e 56 (49,56%) apresentavam algum tipo de sintomatologia quando analisados no exame físico geral (Tabela 2).

Tabela 1: Frequência absoluta e frequência relativa de felinos provenientes de residências particulares, clínicas particulares e ONGs de São Luís, Maranhão

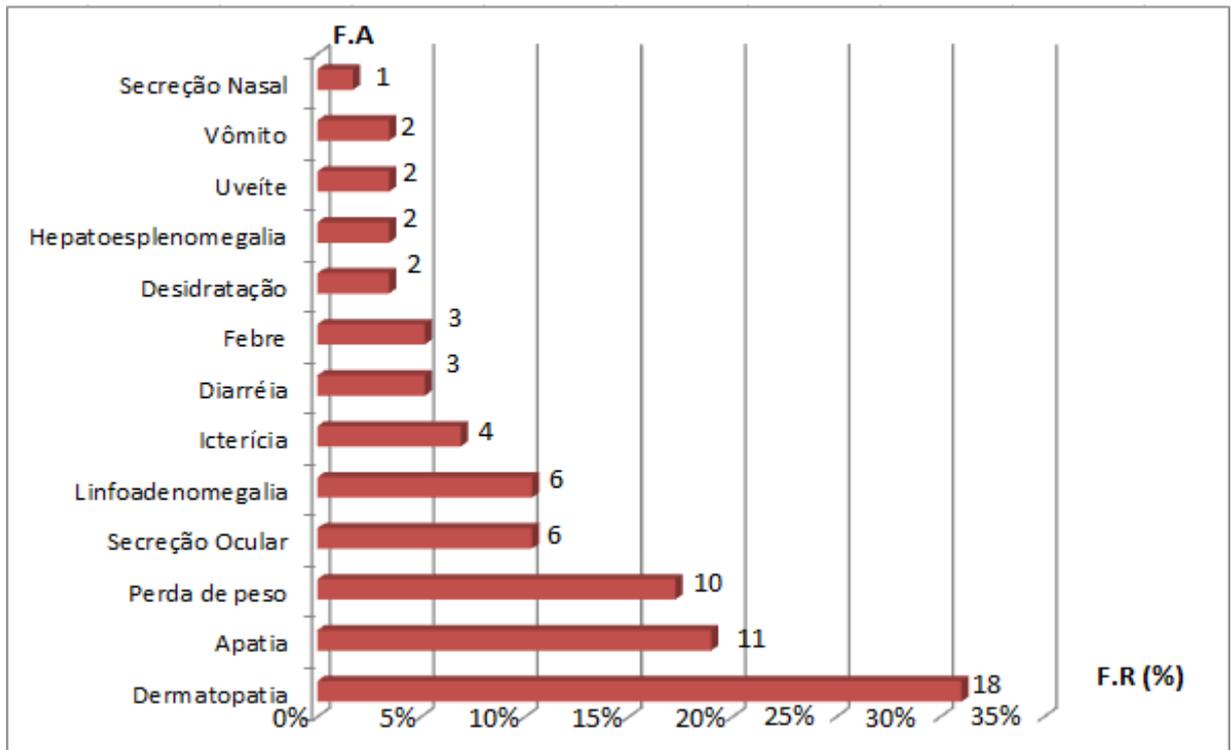
Grupo I		Grupo II		Grupo III	
Animais provenientes de Residências Particulares		Animais Provenientes de Clínicas Particulares		Animais provenientes de ONGs	
Nº de animais	Frequência(%)	Nº de animais	Frequência(%)	Nº de animais	Frequência(%)
38	33,63 %	47	41,59%	28	24,78%

Tabela 2: Variáveis referentes a sexo, faixa etária e condição clínica de 113 gatos estudados para ocorrência de leishmaniose e toxoplasmose felina em São Luís, Maranhão

Variáveis	Animais estudados
Sexo	
Macho	62 (54,87%)
Fêmea	51 (45,13%)
Faixa Etária	
6 meses-1 ano	38 (33,62%)
1-3 anos	54 (47,80%)
3> anos	21 (18,58%)
Condição Clínica	
Com sintomatologia clínica	57 (50,44%)
Sem sintomatologia clínica	56 (49,56%)

As alterações clínicas mais comuns apresentadas pelos felinos sintomáticos (57 animais) na população estudada, foram representadas por dermatopatias em 31,58% (18/57) dos animais, apatia em 19,30% (11/57) dos animais, perda de peso em 17,54% (10/57) dos animais, secreção ocular em 10,53% (6/57), linfadenomegalia em 10,53%(6/57), icterícia em 7,02% (4/57), diarreia em 5,26% (3/57) , febre em 5,26% (3/57), desidratação em 3,51% (2/57), hepatoesplenomegalia em 3,51% (2/57), uveíte em 3,51% (2/57) animais, vômito em 3,51% (2/57) e secreção nasal em 1,75% (1/57) animal (Gráfico 1).

Gráfico 1: Distribuição em forma percentual das principais alterações clínicas sistêmicas de 57 felinos com sinais clínicos presentes do município de São Luís, Maranhão.



F.A – Frequência Absoluta F.R- Frequência Relativa



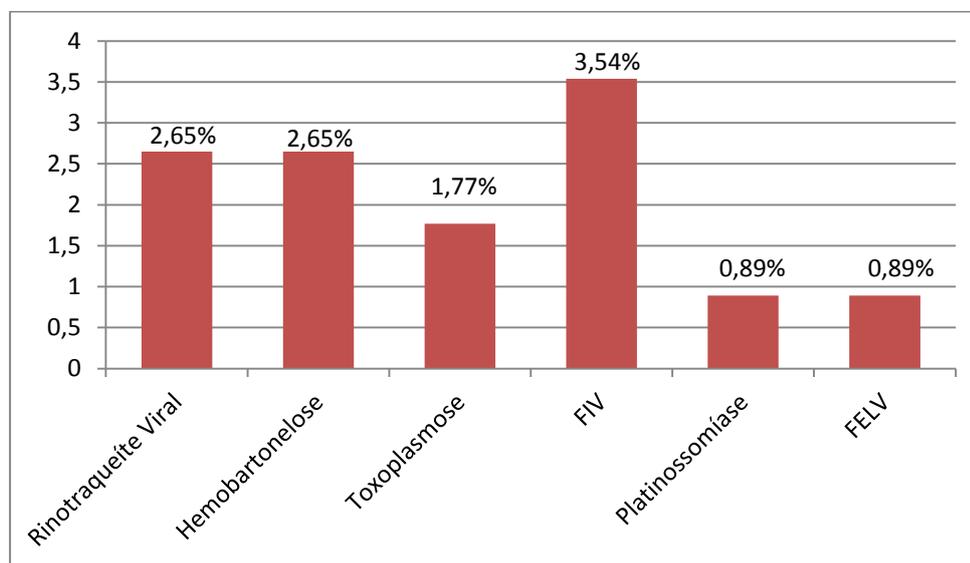
Figura 3. Felino apresentando mucosas ictéricas (A) e felino apresentando alopecia e descamação farinácea generalizada com pontos de solução de continuidade; Importante dermatopatia (B) – (Fotografia Original).



Figura 4. Felino apresentando dermatite ulcerativa em região dorsal e seborréia generalizada (A) e felino apresentando anorexia e desidratação (B)- (Fotografia Original).

Dos 113 animais estudados, 14 (12,39%) animais já haviam sido previamente diagnosticados com alguma doença, sendo 4 (3,54%) animais diagnosticados com FIV, 3 (2,65%) animais diagnosticados com rinotraqueíte viral, 3 (2,65%) diagnosticados com hemobartonelose ,2 (1,77%) diagnosticados com toxoplasmose, 1 (0,89%) diagnosticado com platinossomíase e 1 (0,89%) diagnosticado com FeLV (Gráfico 2).

Gráfico 2- Doenças previamente diagnosticadas em 14 felinos examinados para o projeto , no município de São Luís, Maranhão.



4.2 Alterações hematológicas

As alterações hematológicas mais prevalentes nos animais estudados, considerando animais assintomáticos e sintomáticos foram: Trombocitopenia em 66 (58,41%) animais, aumento do número total das proteínas plasmáticas em 41(36,28 %) animais, leucopenia em 34 (30,09%) animais, leucocitose em 38 (33,63%) animais, diminuição do número de hemácias em 56 (49,56%) animais, diminuição do valor de hematócrito em 58 (51,32%), diminuição do valor de hemoglobina em 61 (54%), neutrofilia em 31 (27,43% , neutropenia em 11 (9,73%) animais, linfopenia em 41 (36,28%) animais, monocitose em 11 (9,73%) , monocitopenia em 16 (14,16%) . Houve alterações pouco significativas no que diz respeito à: aumento no número de hemácias que ocorreu em 2 (1,77%) animais, aumento no valor de hematócrito em 1 (0,88%) animal, aumento no valor de hemoglobina em 2 (1,77%) animais, linfocitose em 5 (4,42%) animais e aumento no número de plaquetas em 1 (0,88%) animal (Tabela 3).

Tabela 3: Alterações hematológicas observadas nos felinos sintomáticos ou não para leishmaniose e toxoplasmose

Parâmetros Hematológicos	Total	Alterações (Aumento)		Alterações (Diminuição)		Animais sem Alteração		Valores de Referência
		Nº	Frequência	Nº	Frequência	Nº	Frequência	
Hemácias	113	2	1,77%	56	49,56%	55	48,67%	5,0-10 Milhões/mm
Hematócrito	113	1	0,88%	58	51,32%	54	47,8%	24-45%
Hemoglobina	113	2	1,77%	61	54%	50	44,24%	8,0-15 g/dL
Plaquetas	113	1	0,88%	66	58,41%	46	40,71%	200-800 M/mm ³
Leucócitos	113	38	33,63%	34	30,09%	41	36,28%	5.500-19.500
Neutrófilos	113	31	27,43%	11	9,73%	71	62,84%	2.500-12.500
Linfócitos	113	5	4,42%	41	36,28%	67	59,3%	1.500-7.000
Monócitos	113	11	9,73%	16	14,16%	86	76,11%	0-850
Eosinófilos	113	12	10,62%	34	30,08%	67	59,3%	0-1.500
Basófilos	113	-	-	-	-	-	-	Raros
Proteínas Plasmáticas	113	41	36,28%	0	-	72	63,72%	6-8g/dL

4.3 Alterações bioquímicas

As amostras sanguíneas foram armazenadas em tubos de coleta sem EDTA e foram soradas por centrifugação em até 8 horas após a coleta.

As alterações mais frequentes observadas foram aumento dos valores de uréia e creatinina em 39 (34,51%) e 37 (32,74%) animais, respectivamente. Houve também aumento nos valores de TGO em 16 (14,16%) animais e aumento nos valores de TGP em 20 (17,7%) animais. Houve alterações menos frequentes no eu diz respeito à diminuição dos valores de uréia, que ocorreu em 2 (1,77% animais) e nos valores de creatinina em 4 (3,54%) animais.

Diminuição nos valores de TGO e TGP ocorreu em 3 (2,65%) e 1 (0,88%) animais, respectivamente.

Tabela 4: Alterações bioquímicas observadas nos felinos sintomáticos ou não para leishmaniose e toxoplasmose

Parâmetros Hematológicos	Total	Alterações (Aumento)		Alterações (Diminuição)		Animais sem Alteração		Valores de Referência
		Nº	Frequência	Nº	Frequência	Nº	Frequência	
Uréia	113	39	34,51%	2	1,77%	72	63,72%	10-20 mg/dL
Creatinina	113	37	32,74%	4	3,54%	72	63,72%	0,7-1,8 mg/dL
TGO	113	16	14,16%	3	2,65%	94	83,19%	10-80 mg/dL
TGP	113	20	17,7%	1	0,88%	92	81,42%	10-88 mg/dL

4.4 Detecção de anticorpos anti-*Leishmania* sp. através da técnica de ELISA

Indireto

Após realização do cálculo de “cut-off” (soma dos controles negativos) para *Leishmania* sp. na técnica de Elisa Indireto, constatou-se que o valor da absorbância era de 0,350 . Valores das titulações iguais ou acima destes, foram considerados sororeagentes.

Dos 113 felinos submetidos à sorologia, nove (7,96%) animais foram considerados sororeagentes para *Leishmania* sp. Destes 9 felinos sororeagentes, 6 (66,7%) eram fêmeas e apenas três (33,3%) eram machos. Quanto à faixa etária, três (33,3%) animais tinham faixa etária compreendida entre 6 meses a 1 ano de idade, 4 (44,4%) animais tinham faixa etária compreendida entre 1 e 3 anos de idade e 2 (22,2%) tinham mais de 3 anos de idade. Quanto à condição clínica, quatro (44,44%) tinham sintomatologia clínica e cinco (55,56%) animais eram não tinham sintomatologia para a doença (Tabela 4). Dos cinco animais com sintomatologia clínica presente, três (60%) apresentavam como sintomas mais comuns linfadenomegalia e dois (40%) apresentavam dermatopatias representadas por lesões crostosas em pele e alopecia generalizada.

Não se verificou uma associação estatisticamente significativa utilizando-se o Teste Exato de Fisher, entre o sexo e a ocorrência de leishmaniose, pois ($p = 0,1579$). O

mesmo foi observado quanto à presença de sinais clínicos sistêmicos ($p = 0,7424$). Porém, no que diz respeito à variável faixa etária destes animais, verificou-se associação estatisticamente significativa com a ocorrência de leishmaniose ($p = 0,0001$) sendo os animais pertencentes à faixa etária compreendida entre 1 a 3 anos de idade mais predisposta à ocorrência da doença. (Tabela 4).

Tabela 5: Frequência absoluta e frequência relativa referentes a sexo, faixa etária e condição clínica de nove felinos sororeagentes para *Leishmania* sp. em São Luís, Maranhão

Variáveis	Animais estudados	p
Sexo		
Macho	3 (33,3%)	0,1579
Fêmea	6 (66,7%)	
Faixa Etária		
6 meses-1 ano	3 (33,3%)	0,0001
1-3 anos	4 (44,4%)	
3> anos	2 (22,2%)	
Condição Clínica		
Com sintomatologia clínica	5 (48,67%)	0,7424
Sem sintomatologia clínica	4 (51,33%)	

p: Teste Exato de Fisher; ($p < 0,05$) significativo

4.4 Detecção de anticorpos anti-*Toxoplasma* sp. através da técnica de ELISA Indireto

Após realização do cálculo de “cut-off” (soma dos controles negativos) para *Toxoplasma gondii* na técnica de Elisa Indireto, constatou-se que o valor da absorbância era de 0,260. Valores das titulações iguais ou acima destes, foram considerados sororeagentes.

Dos 113 felinos submetidos à sorologia, 41 (36,28%) animais foram considerados sororeagentes para *Toxoplasma gondii*. Destes 41 felinos sororeagentes, 24 (58,54%) eram machos e 17 (41,46%) eram fêmeas. Quanto à faixa etária, 7 (17,08%) animais tinham faixa

etária compreendida entre 6 meses a 1 ano de idade, 18 (43,90%) animais tinham faixa etária compreendida entre 1 e 3 anos de idade e 16 (39,02%) tinham mais de 3 anos de idade. Quanto à condição clínica, 26 (63,41%) tinham sintomatologia clínica presente e 15 (36,59%) animais não tinham sintomatologia clínica presente (Tabela 5). Os sintomas clínicos mais comuns apresentados por estes 26 animais, foram: Dermatopatias representadas por seborreia generalizada, alopecia, lesões crostosas disseminadas pelo corpo, foram encontradas em 7(27%), linfadenomegalia em 3 (11,54%), icterícia em 3 (11,54%), anorexia em 2 (7,7%), hepatoesplenomeglia em 2 (7,7%), apatia em 2 (7,7%), vômito em 1 (3,85%), febre em 1 (3,85%) e secreção ocular em 1 (3,85%) animal.

Não verificou-se uma associação estatisticamente significativa utilizando o teste de Qui-Quadrado entre o sexo e a ocorrência de Toxoplasmose pois ($p = 0,1579$). Associação estatisticamente significativa ($p < 0,001$) foi observada quanto à faixa etária dos animais, sendo a faixa etária compreendida entre 1 a 3 anos de idade mais predisposta à doença. O mesmo quanto à presença de sinais clínicos ($p = 0,037$) (Tabela 5).

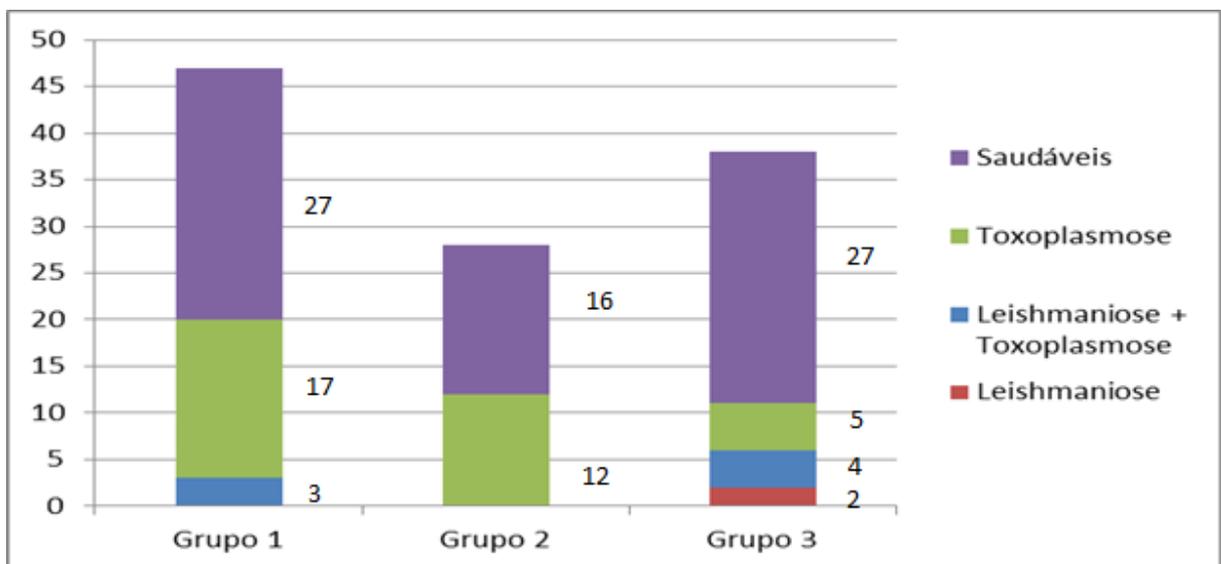
Tabela 6: Frequência absoluta e frequência relativa referentes a sexo, faixa etária e condição clínica de 41 gatos sororeagentes para *Toxoplasma gondii*. em São Luís, Maranhão

Variáveis	Animais estudados	p
Sexo		
Macho	24 (58,54%)	0,0671
Fêmea	17 (41,46%)	
Faixa Etária		
6 meses-1 ano	7 (17,08%)	0,0001
1-3 anos	18 (43,90%)	
3> anos	16 (39,02%)	
Condição Clínica		
Com sintomatologia clínica	26 (63,41%)	0,037
Sem sintomatologia clínica	15 (36,59%)	

p: Teste de X^2 (Qui-Quadrado); ($p < 0,05$) significativo

No que concerne à ocorrência de leishmaniose e toxoplasmose em relação à procedência dos felinos estudados, foram encontrados os seguintes resultados: No grupo 1, referente aos animais provenientes de clínicas particulares (47 animais), três animais (6,38%) foram sororeagentes para *Leishmania* sp. e *Toxoplasma gondii* simultaneamente, nenhum animal sororeagente apenas para *Leishmania* sp., 17 (36,17%) sororeagentes apenas para *Toxoplasma gondii* e 27 (57,45%) animais saudáveis, não reagentes pra nenhum dos agentes. No grupo 2, referente aos animais provenientes de ONGs (28 animais), nenhum animal foi sororeagente à *Leishmania* sp. e nem apresentou infecção simultânea para leishmaniose e toxoplasmose. 12 animais (42,86%) foram sororeagentes apenas para *Toxoplasma gondii* e 16 animais (57,14%) estavam saudáveis, não reagentes para nenhum dos agentes. No grupo 3, referente aos animais provenientes de residências particulares (38 animais), dois animais (5,26%) foram sororeagentes apenas para *Leishmania* sp, quatro (10,53%) foram sororeagentes tanto para *Leishmania* sp. quanto para *Toxoplasma gondii*, cinco (13,16%) foram sororeagentes apenas para *Toxoplasma gondii* e 27 (71,05%) animais estavam saudáveis, não reagentes para nenhum dos dois agentes (Gráfico 3).

Gráfico 3. Prevalência de leishmaniose e toxoplasmose nos felinos provenientes de clínicas particulares, residências e ONGs em São Luís, Maranhão.



Grupo 1- Clínicas particulares; Grupo 2- ONGs; Grupo 3- Residências particulares

No que diz respeito à presença de coinfeccção, dos nove animais sororeagentes para *Leishmania* sp. 7 (77,7%) também foram sororeagentes para *Toxoplasma gondii*, demonstrando uma forte associação entre as duas doenças ($p < 0,0108$).

Tabela 7: Resultados do ELISA Indireto para *Leishmania* sp. em frequência absoluta e frequência relativa em relação aos felinos sororeagentes para *Toxoplasma gondii* provenientes do município de São Luís, Maranhão

Agente Infeccioso	<i>Leishmania</i> sp.	p
<i>Toxoplasma gondii</i> Positivo	7 (77,78%)	<0,0108
Negativo	2 (22,22%)	

p: Teste Exato de Fisher; ($p < 0,05$) significativo

5. DISCUSSÃO

A leishmaniose é uma doença endêmica em diversas regiões do mundo, sendo extremamente preocupante por ser uma zoonose e afetar diversos animais, sendo estes domésticos, silvestres ou o próprio ser humano. O objetivo de diversas pesquisas tem sido elucidar a epidemiologia da doença. Grande dificuldade ocorre para este objetivo, devido ao fato da doença apresentar comportamentos variados conforme a população afetada, animais susceptíveis, forma de transmissão e área geográfica. Como a adoção de felinos como animais domésticos tem crescido muito nos últimos tempos, faz-se necessário um estudo mais abrangente acerca das doenças prevalentes nestes animais. São Luís do Maranhão é considerada área endêmica para leishmaniose visceral, existindo infecção de seres humanos e cães. Assim, justificou-se a pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp. em felinos da região, para tentar identificar sua circulação ou não nos felinos do município.

Os felinos são susceptíveis à leishmaniose, porém ainda não se sabe ao certo seu verdadeiro papel na cadeia epidemiológica da doença, devido ao fato destes animais poderem ser naturalmente resistentes à infecção, assintomáticos ou apresentarem coinfeccção com outras doenças imunossupressoras como FIV e FeLV e também com a toxoplasmose (LONGONI et al.,2012).

Justifica-se a pesquisa de anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* pelo fato dos felinos serem hospedeiros definitivos desse agente e pelo fato de na maioria das vezes os mesmos apresentarem-se assintomáticos para a doença clínica, quando infectados somente pelo *Toxoplasma gondii* (ACHA & SZYFRES, 2003). Assim, objetivou-se investigar se felinos infectados por *Leishmania* sp. apresentam coinfeção com *Toxoplasma gondii*, demonstrando assim uma maior predisposição ou não destes animais apresentarem a doença clínica.

A soroprevalência de *Leishmania* sp. na população estudada foi de 7,96% , onde nove felinos foram sororeagentes para o agente. Estes resultados estão de acordo com a taxa de prevalência observada em outras regiões do Brasil e do mundo, como a taxa observada por Santos et al.,(2014) em Petrolina-PE ao avaliarem 153 animais (3,9%), Solano-Gallego ao avaliarem 76 felinos e encontrarem uma taxa de prevalência de 6,9% e Nasereddin et al.,(2006) ao encontrarem uma taxa de 6,7% ao avaliarem 107 animais em Jerusalém. Este resultado foi inferior ao encontrado por Sobrinho et al., em 2010, onde foi encontrada uma taxa de 21,85% de soroprevalência em uma população de 302 felinos estudados ,de Martín-Sánchez et al.,(2007) ao encontrarem uma taxa de 60% ao avaliarem felinos na Espanha e de Silveira Neto et al., que reportou uma prevalência de 23%. Esta moderada prevalência obtida no presente estudo, pode ser devido ao fato do uso de apenas um teste sorológico, já que outros estudos sugerem que o ELISA tem maior sensibilidade quando utilizado com outros testes (ALBUQUERQUE,2006).

A maioria dos animais estudados foram provenientes de clínicas particulares da cidade (47 animais) e por isso apresentavam algum tipo de sintomatologia, inespecífica ou não, pois os mesmos estavam internados nas mesmas ou os proprietários os levaram para fazer algum procedimento ambulatorial. Três (6,38%) animais pertencentes à este grupo foram sororeagentes à *Leishmania* sp. Os animais provenientes de residências particulares (38 animais),apresentavam melhores condições nutricionais e clínicas e a maioria apresentava-se assintomático. Porém, dos animais pertencentes à este grupo, 16 (42,1%) conviviam com cães e outros animais como aves , seis (15,78%) dos nove animais reagentes para *Leishmania* sp. são pertencentes à este grupo. Esperava-se que os animais pertencentes à este grupo apresentassem menor prevalência para *Leishmania* sp. devido aos cuidados recebidos pelos proprietários. Esta maior prevalência pode ter sido resultado do contato íntimo com cães e aves, por estes atraírem os flebotomos, como descrito por Dias et al., em 2003 .

Os animais pertencentes à ONGS, em sua maioria encontravam-se subnutridos. Isso se deve ao fato de terem sido resgatados de ambientes inadequados e insalubres e com falta de alimento. 15 (53,57%) destes animais apresentavam alguma sintomatologia clínica.

Nenhum animal pertencente a esse grupo foi sororeagente para *Leishmania* sp. Talvez pelo fato de a probabilidade do flebotômico ir ao encontro de um animal errante é menor que de um animal confinado ou pelo fato do flebótomo ter memória olfativa e retornar ao local de alimentação (COSTA et al., 2007).

Não houve associação estatisticamente significativa no que concerne à associação de ocorrência de leishmaniose com a variável sexo, corroborando com os resultados encontrados por Daikon et al., em 2009, que pesquisaram anticorpos anti-*Leishmania* em 284 felinos estudados na Grécia e discordando dos achados de Sobrinho et al., em 2010, onde 44 felinos infectados de uma população de 66 animais sororeagentes para *Leishmania* sp. eram machos. Na variável faixa etária houve associação estatisticamente significativa com a ocorrência de *Leishmania* sp., sendo os animais de 1 a 3 anos de idade mais predispostos à infecção. Este resultado difere dos encontrados por Nasereddin et al.,(2008), Solano e Gallego (2012) e Sobrinho et a.,(2010). Não houve relação estatística significativa no que diz respeito à correlação entre a variável condição clínica e a ocorrência de *Leishmania* sp. Dos nove felinos sororeagentes à *Leishmania* sp. , apenas 5 (48,67%) eram sintomáticos, corroborando com os achados de Nasereddin (2008) e Silva et., al (2014). Dos cinco animais sintomáticos para doença, três (60%) apresentavam como sintomas mais comuns linfadenomegalia e dois (40%) apresentavam dermatopatias representadas por lesões crostosas em pele e alopecia generalizada, corroborando com Poli et al.,(2002), Silva et al., (2010) que encontraram em um felino positivo para *Leishmania infatum* alterações clínicas como linfadenomegalia, alopecia e lesões crostosas em pele.

Na população avaliada, a soroprevalência para *Toxoplasma gondii* foi de 36,28%, 41 animais sororeagentes, semelhante ao valor encontrado por Pinto et al.,(2009), que encontraram uma prevalência de 32,5% em 245 felinos estudados em Porto Alegre no Rio Grande do Sul, Mendez (1983) que encontrou uma prevalência de 24% e Araújo (2014) que encontrou uma taxa de prevalência de 37% nos felinos estudados. Este valor foi superior ao encontrado por Netto Gonçalves et al.,(2003) que encontrou uma soroprevalência de 24,39% em 41 felinos estudados na cidade de Niterói no Rio de Janeiro e menor que o de Bresciani et al., que encontraram uma prevalência de 24,20% em uma população de 500 felinos estudados. A prevalência de *Toxoplasma gondii* encontrada neste estudo foi menor que àquela encontrada por Braga et al., em 2012 (50,5%) no Maranhão.

No presente estudo, não houve relação estatisticamente significativa entre sexo e ocorrência de *Toxoplasma gondii* corroborando com os resultados encontrados por Pinto et al.,(2009) quando analisou a soroprevalência de 245 animais e Esteves (2014), onde afirma

que o gênero não influencia a probabilidade de infecção por *Toxoplasma gondii*. Na variável faixa etária, foi encontrada significativa associação entre a ocorrência da doença e a idade dos animais, sendo os animais de faixa etária compreendida entre 1 a 3 anos, os mais predispostos à doença. Este resultado corrobora com os achados de Pena (2006) e Pinto et al., (2009) e Breciani (2007). A relação entre a positividade e a variável idade se justifica pelo fato de que felinos mais velhos tem uma probabilidade maior, devido a logística em tempo de vida, de terem um contato prévio com o parasito (GARCIA et al., 1999). A associação entre ocorrência de *Toxoplasma gondii* e a condição clínica foi confirmada no presente estudo, sendo os animais reagentes mais predispostos à apresentarem sintomatologia clínica. Este resultado difere dos encontrados por Sato em 1993, Lucas et al.,(1999) e concorda com os resultados encontrados por Davidson (1993) e Simões (2013). Esta presença de sintomas clínicos nos animais sororeagentes pode ser justificada pelo fato de poderem existir coinfeções e por isso, estes animais apresentarem imunossupressão e posterior manifestação da doença clínica (LONGONI et al., 2012). Os sinais clínicos mais comuns encontrados nos felinos sororeagentes foram as dermatopatias representadas por seborreia generalizada, alopecia e lesões crostosas disseminadas pelo corpo, que foram encontradas em 7(27%), linfadenomegalia em 3 (11,54%), icterícia em 3 (11,54%), anorexia em 2 (7,7%), hepatoesplenomeglia em 2 (7,7%), apatia em 2 (7,7%), vômito em 1 (3,85%), febre em 1 (3,85%) e secreção ocular em 1 (3,85%) animal. Este resultado corrobora com Dubey (2005) e Nosworthy (2009).

As alterações hematológicas mais prevalentes nos animais estudados, considerando animais assintomáticos e sintomáticos foram: trombocitopenia, aumento do número total das proteínas plasmáticas, leucopenia, diminuição do número de hemácias, diminuição do valor de hematócrito, diminuição do valor de hemoglobina, neutrofilia corroborando com os resultados de Medeiros et al., (2008) e Simões-Mattos (2005). Os achados hematológicos mais importantes em animais infectados com *Leishmania* sp. são anemia normocítica normocrômica e não regenerativa (REIS et al.,2006).

As alterações bioquímicas mais frequentes observadas foram aumento dos valores de uréia e creatinina, TGO e TGP, como sugerido anteriormente por Rufenacht et al.,(2005).

No que concerne à ocorrência de leishmaniose e toxoplasmose em relação à procedência dos felinos estudados, observou-se que os animais provenientes de clínicas particulares foram os que mais apresentaram soroprevalência para *Toxoplasma gondii* isoladamente (17 animais) e os animais provenientes de residência foram os que mais apresentaram soroprevalência para *Leishmania* sp. isoladamente (2 animais) (Gráfico 3). Os

animais que apresentaram um número maior de coinfeção entre *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii* foram os provenientes de residências particulares (4 animais). Estes resultados diferem dos encontrados por Almeida et al., (2009) que encontrou uma maior prevalência em animais errantes. Os animais provenientes de ONGs não apresentaram soroprevalência para *Leishmania* isoladamente, porém apresentaram para *Toxoplasma gondii*. Isto pode ser devido ao fato de que estes animais sejam naturalmente resistentes à *Leishmania* (VITA et al., 2005). Quanto à prevalência de *Toxoplasma gondii* nestes animais ter sido relativamente alta (42,86%), deduz-se que esta taxa ocorre pelo fato de que por serem animais que tem livre acesso à rua, tem oportunidade de caçar pequenas presas, que podem estar infectadas com cistos, sendo estes animais mais susceptíveis ao agente que os animais domiciliados. Somado a este motivo, está o fato de que o ambiente inadequado e insalubre que estes animais errantes vivem esteja contaminado por oocistos de *Toxoplasma gondii* (MOURA, 2007). Mcallister (2005) sugere que os felinos não andem livremente pelos ambientes externos, pois a redução da prevalência da doença nesses animais diminuirá, e conseqüentemente, a prevalência em humanos. Com o acesso dos felinos às áreas onde possam caçar pássaros e pequenos roedores, estes estarão sempre expostos à contaminação pelo agente. Estes resultados diferem dos encontrados por Silva et al. (2002) onde demonstraram uma ocorrência de 40,6% de positividade em 32 gatos domiciliados. Importante salientar que mesmo animais domiciliados podem ter o hábito de sair à rua, devido ao acesso livre à ela, podendo assim serem encontradas prevalências altas mesmo em animais domiciliados.

Dos nove felinos infectados por *Leishmania* sp, sete possuíam anticorpos anti-*Toxoplasma gondii*, tendo sido encontrada associação estatisticamente significativa entre as duas doenças (Tabela 6), corroborando assim com os resultados encontrados por Gennari et al.(2006) e Sousa Marques (2014). Entretanto, alguns estudos anteriores não encontraram associação estatística significativa entre as duas doenças, como os resultados de Sobrinho et al.,(2012) e Sherry et al.,(2011). Numerosos estudos reportam o carácter imunossupressor causado pela *Leishmania* sp. em cães, aumentando assim a susceptibilidade de doenças oportunistas nestes animais. Entretanto, novos estudos devem ser feitos para confirmar a susceptibilidade de felinos infectados com *Leishmania* sp. à toxoplasmose.

6 CONCLUSÕES

De acordo com o estudo realizado podemos concluir que:

- São Luís do Maranhão é uma cidade endêmica para leishmaniose visceral, assim felinos residentes nestas áreas são predispostos à infecção por *Leishmania* sp. e as suspeitas de casos positivos em felinos domésticos foram confirmadas por este estudo, demonstrando assim, que o agente é circulante nos felinos domésticos da cidade;
- Existe uma alta prevalência de *Toxoplasma gondii* na cidade de São Luís, Maranhão;
- A doença clínica para leishmaniose e toxoplasmose não é comum em felinos, porém pode ocorrer, principalmente se o animal tiver imunidade baixa ou coinfeção com doenças que facilitem esta condição;
- É importante investigar os sinais clínicos dos felinos, pois grande parte destes desenvolvem sintomatologia inespecífica, assim, devem ser feitos diagnósticos diferenciais para as doenças.
- Felinos de São Luís do Maranhão, são predispostos à coinfeção de *Leishmania* sp e *Toxoplasma gondii*;
- Por não se ter definido por completo o papel do felino doméstico como reservatório para *Leishmania* sp, é necessário que novos estudos mais aprofundados sejam realizados na cidade para se entender o papel do felino na cadeia epidemiológica da doença e sua importância para a saúde pública, pois os felinos podem estar sendo erroneamente diagnosticados pela comunidade veterinária;

REFERÊNCIAS

ACHA, P. N.; SZYFRES, B. Zoonosis and Communicable Diseases Common to Man and Animals. **Pan American Health Organization Press, Washington D.C., 2003. 3 V.**

ALBUQUERQUE, A. R.; ARAGÃO, F. R.; FAUSTINO, M. A. G.; GOMES, Y. M.; LIRA, R. A.; NAKASAWA, M.; ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana do Recife. **Clínica Veterinária**, Ano XII, n. 71, 2007.

ALMEIDA, A. B. P. F.; FARIA, R. P.; PIMENTEL, M. F. A.; DAHROUG, M. A. A.; TURBINO, N. C. M. R.; SOUSA, V. R. F. Inquérito soropidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 42, n. 2, 2009.

ARAÚJO, Flávio A. Pacheco de; TEIXEIRA, Mariana Caetano. **Toxoplasmose: Situação na região Sul- Dados Atuais. 2003.** 14 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Rio Grande do Sul, 2008.

ASHFORD, D. A.; BOZZA, M.; FREIRE, M.; MIRANDA, J. C.; SHERLOCK, I.; EULÁLIO, C.; LOPES, U.; FERNANDES, O.; DEGRAVE, W.; BARKER JUNIOR, R. H.; BADARÓ, R.; DAVID, J. R. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for the detection of canine visceral leishmaniasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.53, p.251-255, 1995.

BADARÓ, R.; DUARTE, M. I. S. Leishmaniose visceral (Calazar). In: **VERONESI, R., FOCACCIA, R. (Eds). Tratado de Infectologia.** 2. ed. São Paulo: Atheneu, 2002.

BALDOTTO, S. B. ; PLENS, P. ; ANTUNES, R. M. ; OLIVEIRA, P. D. ; FEITOSA, P. P. ; PEREIRA, D. A. . Toxoplasmose com repercussão neurológica: relato de caso. **Revista Científica Eletrônica de Ciências Sociais da FAIT** , v. 5, p. 1-34, 2014.

BANETH, G. Leishmaniasis. In: **GREENE, C.E. Infectious diseases of the dog and cat. 3. ed.** Philadelphia: Elsevier, 2006. p. 685-698. 2006

BARBOSA, Stela Aparecida Avelar. **Pesquisa de anticorpos anti-Toxoplasma gondii pelo teste de aglutinação modificada em frangos de corte abatidos para consumo.** 2007. 54 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Pará, Belém, 2007.

BARR, S. C. Toxoplasmose. In: **Consulta veterinária em 5 minutos espécies canina e felina. 2ed.,** São Paulo: Manole, 2003. p 1260-1261.

BETONI, Alinne Caetano. **LEISHMANIOSE VISCERAL REVISÃO LITERÁRIA.** 2011. 46 f. Monografia (Especialização) - Curso de Medicina Veterinária, Faculdade Castelo Branco, São Paulo, 2011.

BLACK, M.W & BOOTHROYD, J.C. **Lytic cycle of *Toxoplasma gondii***. Microbiol. Mol. Biol., 2000.

Braga R.R., Lainson R., Shaw J.J., Ryan L. & Silveira F.T. 1986. Leishmaniasis in Brazil. XXII: characterization of *Leishmania* from man, dogs and the sandfly *Lutzomyia longipalpis* (Lutz et Neiva, 1912) isolated during an outbreak of visceral leishmaniasis in Santarem, Para State. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.** 80:143-145.

BRASIL. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL. *Leishmania sp.* Disponível em: <www.ufrgs.br>. Acesso em: 02 nov. 2015.

BRESCIANI, K.D.S.; PERRI, S.H.V.; VIOL, M.A.; AQUINO, M.C.C.; CAMOSE, L.G.; JUNIOR, H.G.; CORRÊA, A.F.L.; LANGONI, H. **Avaliação da ocorrência da infecção por *Toxoplasma gondii* em felinos do município de Araçatuba, SP.** *Veterinária e Zootecnia*, v.17, n.1 supl 1, p.87, 2010.

BOWMAN, D.D. **Parasitologia Veterinária de Georgis**. 8.ed. Barueri: Manole, 2006. 422p.

BRESCIANI, Katia Denise Saraiva; SERRANO, Ana Claudia Marques; MATOS, Lucas Vinicius Shigakide. **Ocorrência de *Leishmania spp.* em felinos do município de Araçatuba, SP.** 2010. 3 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de São Paulo, Araçatuba, 2010.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. de, KATZ, G. Leishmaniose visceral americana no Estado de São Paulo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 32, supl 2, p.63-64, 1999.

CAMPILLO, M. C.; VAZQUEZ, F. A. R.; FERNANDEZ, A. R. M.; ACEDO.; M. C. S.; RODRIGUEZ, S. H.; LOPEZ-COZAR, I. N.; BAÑOS, P. D.; ROMEROM H. Q.; VARELA, M. C. **Parasitologia Veterinária**. 1ª ed. Madrid: McGraw-Hill Interamericana, 1999, p. 651-665.

CARDINOT, Cinthya Brillante. **Identificação de dna de *Leishmania sp.* no encéfalo de cães com leishmaniose visceral**. 2013. 59 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

CARVALHO M.R., VALENÇA H.F., SILVA F.J., PITA-PEREIRA D., ARAUJO T.P., BRITTO C., Brazil R.P. & Brandão Filho S.P. 2010. Natural *Leishmania infantum* infection in *Migonemyia migonei* (França, 1920) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) the putative vector of visceral leishmaniasis in Pernambuco State, Brazil. **Acta Trop.** 116(1):108-110.

CORRALES, G. M. (2007). Leishmaniosis canina: situación actual en Europa, diagnóstico y control. **Acta Scientiae Veterinariae**, 35(Suppl 2), 227-229.

COSTA, T. A. C. **Utilização da técnica de ELISA com proteína A e anti-IgG para o diagnóstico sorológico da leishmaniose felina**. 2008. 57f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Araçatuba, 2008.

DABRITZ, H.A.; MILLER, M.A.; ATWILL, E.R. et al. Detection of *Toxoplasma gondii* like oocysts in cat feces and estimates of the environmental oocyst burden. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v.231, p.1676-1684, 2007.

DAIKOU, A.; PAPADOPOULOS, E.; LAZARIDES, K. Specific anti-*Leishmania* spp. antibodies in stray cats in Greece. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v.11, p.728-730, 2009.

DEANE LM, DEANE ME Observações preliminares da importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatório de *Leishmania donovani* em área endêmica de calazar. **Hospital, Rio de Janeiro** 48:61-67,1955.

DIAS, R.A.F.; FREIRE, R.L. Surto de toxoplasmose em seres humanos e animais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina 2005; 26: 239-248.

DUBEY, J.P. *Toxoplasmosis of Animals and Humans*. 2nd ed. Boca Raton, Florida: **CRC Press**, 2010. 313 pp.

DUBEY, J.P.; GAMBLE, H.R., Hill, D., SREEKUMAR C.; ROMAND S., THUILLEZ P. High prevalence of viable *Toxoplasma gondii* infection in market weight pigs from a farm in Massachusetts. **The Journal of Parasitology**. V. 88,n 6, p.1234-1238,2002.

DUBEY, J.P.; FOREYT, W.J. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Rocky Mountain bighorn sheep (*Ovis canadensis*). **The Journal of Parasitology**. v.86, p. 622-623, 2000.

DUBEY, J.P.; BEATTIE, C.P. *Toxoplasmosis of Animals and Man*. Boca Ratom. **CRC Press**. Flórida 1988.220p

ESTEVE F, AGUIAR D, ROSADO J, COSTA ML, de SOUSA B, ANTUNES F, et al. *Toxoplasma gondii* prevalence in cats from Lisbon and in pigs from centre and south of Portugal. **Vet Parasitol** 2014; 200(1-2): 8-12. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.12.017>. PMID:24418601

FEDERLE, Michelle. **Viabilidade de *Toxoplasma gondii* em carne ovina após tratamentos térmicos com diferentes temperaturas**. 2015. 71 f. Dissertação - Curso de Medicina Veterinária, Universidade do Estado de Santa Catarina, Lages, 2015.

FEITOSA, M.M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; PERRI, S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v.5, n.28, p.36-44, 2000.

FERRER, L.M. Clinical aspects of canine leishmaniasis, In: **PROCEEDINGS OF THE INTERNACIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM**. Barcelona, Spain. Canine Leishmaniasis: an update. Wiesbaden: Hoeschst Roussel Vet, 1999. p.6-10.

FIALHO, Cristina Germani; TEIXEIRA, Mariana Caetano; ARAÚJO, Flávio Antônio Pacheco de. **Toxoplasmose animal no Brasil**. 2008. 23 f. Dissertação - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

FRENKEL, J.K. Toxoplasmosis. Mechanisms of infection, laboratory diagnosis and management. *Current Topics in Pathology*. v.15, n.54. p. 29-75, 1971.

GARCIA, A. L.; KINDT, A.; QUISPE-TINTAYA, K. W.; BERMUDEZ, H.; LLANOS, A.; AREVALO, J.; BAÑULS, A. L.; DE DONCKER, S.; LE RAY, D.; DUJARDIN, J. C. American Tegumentary Leishmaniasis: antigen-gene polymorphism, taxonomy and clinical pleomorphism. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 5, p. 109-116, 2005

GENNARI, S.M.; CAÑON-FRANCO, W.A.; MARCONDES, M.; IKEDA, F.A.; LIMA, V.M.F.; AMAKU, M. Presence of anti-Neospora caninum and Toxoplasma gondii antibodies in dogs with visceral leishmaniosis from the region of Araçatuba, São Paulo, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.43, n.5, p.613-619, 2006.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. 1993. 202f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

GOMES, Y.M.; PAIVA CAVALCANTI, M.; LIRA, R.A.; ABATH, F.G.; ALVES, L.C. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. **Veterinary Journal**, v.175, n.1, p.45-52, 2008.

GONÇALVES C. Brasil registra 3 mil novos casos de leishmaniose por ano. Disponível em: www.ebc.com.br . Acesso em: 6 setembro 2016.

GONCALVES NETO VS, Rebelo JM. Aspectos epidemiológicos do dengue no Município de São Luís, Maranhão, Brasil, 1997-2002. **Cad Saude Publica**. 2004;20(5):1427-31. DOI:10.1590/S0102-311X2004000500039

GREENE, C. E. **Doenças infecciosas em cães e gatos**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 1387.

GREENE, C.E. et al. Leishmaniasis. In : _____. **Infectious diseases of the dog and cat**. 3.ed. St. Louis: Saunders Elsevier. ch.73, p.685-697, 2006. (a)

HAGIWARA, M. K.; RECHE JUNIOR, A.; LUCAS, S. R. R. Estudo clínico de infecção pelo vírus da leucemia felina em São Paulo. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária, Niterói**, v.4, p.35-38, 1997.

HILL, D. & DUBEY, J.P. - Toxoplasma gondii: transmission, diagnosis and prevention. **Clin. Microbiol. Infect.**, 8: 634-640, 2002.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICH, R. The leishmaniasis in biology and medicine. 2.ed. London: **Academic Press**, 1987, p.1-121.

LAPPIN, M. R. Feline leukemia virus. In: **SEMINÁRIO INTERNACIONAL DE DOENÇAS INFECCIOSAS**, 1998, São Paulo. Anais... São Paulo, 1998. p. 36-44.

LIESENFELD, O. Toxoplasmosis. **The Lancet**, London, v. 363, n. 9425, p.1965 – 1976, 2004.

LIMA VFS, Cringoli G, Rinaldi L, Monteiro MFM, Calado AMC, Ramos RAN, et al. A comparison of mini-FLOTAC and FLOTAC with classic methods to diagnosing intestinal parasites of dogs from Brazil. **Parasitol Res** 2015; 114(9): 3529-3533. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-015-4605-x>. PMID:26122998.

Longoni SS, López-Céspedes A, Sánchez-Moreno M, Bolio-Gonzalez ME, Sauri-Arceo CH, Rodríguez-Vivas RI, et al. Detection of different *Leishmania* spp. And *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis.** 2012;35:469-76.

LOPES, E.G.P.; MAGALHÃES, D.F.; SILVA, J.A.; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, E.C. Distribuição temporal e espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte - MG, 1993-2007. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1062-1071, 2010.

LUCAS, S. R. R.; HAGIWARA, M. K.; RECHE Jr, A.; GERMANO, P. M. L. Ocorrência de anticorpos antitoxoplasma em gatos infectados naturalmente pelo vírus da imunodeficiência dos felinos. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.35, n.1, p.41-45, 1998.

MAIA, C.; NUNES, M.; CAMPINO, L. Importance of Cats in Zoonotic Leishmaniasis in Portugal. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases.** v.8, 2008. Disponível em Acesso em: 7 setembro de 2016.

MARCONDES, Mary; ROSSI, Claudio Nazaretian. **Leishmaniose Visceral no Brasil.** 2013. 12 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.
NEVES, David Pereira et al. **Parasitologia Humana.** 11. ed. Belo Horizonte: Atheneu, 2005. 494 p.

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

MELLO, G.B. Verificação da infecção natural do gato (*Felis domesticus*) por um protozoário do gênero *Leishmania*. **Brasil Médico** v.54, n.12, p.180, 1940.

MIRÓ, G.; GÁLVEZ R.; MATEO, M.; MONTOYA, A.; DESCALZO, M.A.; MOLINA, R. Evaluation of the efficacy of a topically administered combination of imidacloprid and permethrin against *Phebotomus perniciosus* in dog. **Vet. Parasitol.** 143, p. 375-379, 2007.

MONTOYA JG, LIESENFELD O. **Lancet.** 2004 Jun 12;363:1965-1976.

NASEREDDIN, A.; SALANT, H.; ABDEEN, Z. Feline leishmaniasis in Jerusalem: Serological investigation. **Veterinary Parasitology.** v. 158, n.4, p.364-369, 2008.

NAUCKE, T. J. Leishmaniose bei katzen. **Rundsehreiben**, n.4, 2000. Capturado: 21 jul. 2016.

NAVARRO, I.T.; CAMARGO JUNIOR, V.E.; CALDART, E.T.; BREGANÓS, R.M.; PEREIRA, P.M. *Leishmania amazonensis* em cão com quadro clínico de leishmaniose

visceral no Estado do Paraná, Brasil – relato de caso. **Semina: Ciências Agrárias**, v.33, suplemento 2, p.3265-3270, 2012.

NEVES, D.P. et al. **Parasitologia Humana** - 11^oed. São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

OLIVEIRA, Janaina Michelle de; FERNANDES, Ana Claudia; DORVAL, Maria Elizabeth Cavalheiros. **Mortalidade por leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais**. 2009. 6 f. Curso de Medicina, Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, Campo Grande, 2010.

PATOGENIA DA LEISHMANIOSE CUTÂNEA EXPERIMENTAL. Salvador: Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 30 jul. 1984. Mensal.

PESSANHA, Carla de Sales. **Efeito "in vitro" de Tiosemicarbazonas e seus derivados Tiazolidinônicos sobre o desenvolvimento intracelular do *Toxoplasma gondii***. 2006. 105 f. Curso de Biologia, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2006.

PINTO, Luciane Dubina; ARAÚJO, Flávio Antonio Pacheco de; STOB, Neusa Saltiel. **Soroepidemiologia de *Toxoplasma gondii* em gatos domiciliados atendidos em clínicas particulares de Porto Alegre, RS, Brasil**. 2009. 6 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2009.

PIRAJÁ, Gabriela Villa; SILVA, Denise Theodoro da; LUCHEIS, Luciana Cristina Baldini. **Leishmaniose Felina: Revisão de Literatura**. 2012. 14 f. Curso de Medicina Veterinária, Unesp, Botucatu, 2012.

PRADO, Aline Ambrogi Franco; ALMEIDA, Gustavo Ferreira de; GONTIJO, Laís Silva. **Toxoplasmose: O que o profissional da saúde deve saber**. 2011. 30 f. Enciclopédia Biosfera, Centro Científico Conhecer, Goiânia, 2011.

REIS, Luiza de Campos; BRITO, Maria Edileuza Felinto de; SOUSA, Marina de Assis. **Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana**. 2006. 116 f. Curso de Medicina Veterinária, Fiocruz, Recife, 2005.

RONDON, Fernanda Cristina Macedo. **Estudo transversal da leishmaniose visceral canina na cidade de Fortaleza, Ceará, Brasil**. 2007. 61 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2007.

NAUCKE, T. J. Leishmaniose bei katzen. **Rundsehreiben, n.4**, 2000.

SANTOS, Ariadne Nascimento dos. **Leishmaniose Visceral em felinos: O gato como possível hospedeiro para a doença**. 2014. 7 f. Dissertação - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Santa Cruz, Ilhéus, 2014.

SAÚDE, Ministério da. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Editora Ms, 2006. 120 p. (Série A. Normas e manuais técnicos).

SAVANI, E.S.M.M.; OLIVEIRA CAMARGO, M.C.G.; CARVALHO, M.R.; ZAMPIERI, R.A.; SANTOS, M.G.; D'AURIA, S.R.M.; SHAW, J.J.; FLOETER-WINTER, L.M. The first Record in the Americas of an autochthonous case of Leishmania (*Leishmania*) infantum chagasi in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.120, n.3, p.229-233, 2004.

SILVA, Francinaldo S.. **Patologia e Patogênese da leishmaniose visceral canina**. 2007. 31 f. Dissertação - Curso de Ciências Agrárias e Biológicas, Universidade Federal do Maranhão, Chapadinha, 2007.

SIMÕES-MATTOS, L. O gato doméstico (*Felis catus*) com potencial hospedeiro reservatório de *Leishmania* (*Viannia*) *brasiliensis*. 2005. 231f. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, 2005. SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Recent advances in the diagnosis of leishmaniasis. **Journal of Postgraduate Medicine**, v.49, n.1, p.55-60, 2003.

SILVEIRA NETO, S., O. Nakano, D. Barbin & N.A. Villa Nova. 1976. **Manual de Ecologia dos insetos**. São Paulo. Ed. Agronômica Ceres, 419p.

SOLANO-GALLEGO, L.; RODRÍGUEZ-CORTÉS, A.; INIESTA, L.; QUINTANA, J.; PASTOR, J.; ESPADA, Y.; PÓRTUS, M.; ALBEROLA, J. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.76, n.4, p.676-680, 2007.

SOUSA, KeylaCarstens Marques de; HERRERA, Heitor Miraglia; DOMINGOS, Iara Helena. **Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil**. 2014. 23 f. - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista Unesp, Jaboticabal, 2014.

Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. **Int J Parasitol** 30: 1217-1258.

VERONESI, Ricardo et al. **Doenças Infeciosas e Parasitárias**. 8. ed. São Paulo: Guanabara Koogan S.a, 1991.

VICENTE SOBRINHO, Ludmila Silva. **Leishmaniose felina e sua associação com imunodeficiência viral e toxoplasmose em gatos provenientes de área endêmica para leishmaniose visceral**. 2010. 103 f. Tese - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Araçatuba, 2010.

Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the **Control of Leishmaniases, Geneva, 22–26 March 2010**

ZULPO, Dauton Luiz; LEITE, João Henrique Artero de Carvalho; CUNHA, Ivo Alexandre Leme da. **Ocorrência de anticorpos contra *Leishmania spp.*, *Neospora Caninum* e *Toxoplasma gondii* em soros de cães atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Estadual de Londrina - PR**. 2012. 1906 f. Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2012.

ANEXOS

ANEXO I. Termo de Consentimento



UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO



ALESSANDRA ALMEIDA COSTA CURVINA

CRMV-MA 01582

TERMO DE CONSENTIMENTO PARA AUTORIZAÇÃO DA REALIZAÇÃO DA PESQUISA :
“OCORRÊNCIA DE LEISHMANIA SP. E TOXOPLASMA GONDII EM GATOS(FELIS CATUS) DO
MUNICÍPIO DE SÃO LUÍS, MARANHÃO”.

Autorizo a realização da pesquisa de título: Ocorrência de *Leishmania SP* e *Toxoplasma gondii* em gatos (*Felis catus*) do município de São Luís, Maranhão, no animal de nome, espécie, raça, sexo, idade(real ou aproximada), pelagem, outras informações que possibilitem a identificação do animal (ex. microchip) a ser realizado pelo(a) Médico(a) Veterinário(a) CRMV-.....

Identificação do responsável pelo animal:

Nome

RG CPF

Endereço completo

Telefone/e-mail

Declaro ter sido esclarecido acerca dos possíveis riscos inerentes, durante ou após a realização do procedimento citado, estando o referido profissional isento de quaisquer responsabilidades decorrentes de tais riscos.

São Luís, ____, de ____ de ____.

Assinatura do responsável pelo animal

ANEXO II. Ficha Clínica

Dra. Alessandra Curvina CRMV -01580

FICHA CLÍNICA

Data da Consulta: __ / __ / __

IDENTIFICAÇÃO DO ANIMAL:

Nome: Espécie: Raça:

Idade: Sexo: Macho Fêmea Castrado

Peso: _____

Pelagem:

IDENTIFICAÇÃO DO TUTOR:

Nome: _____
.....

Endereço: _____
.....

CPF: _____

RG: _____

Tel: _____

Cel: _____

QUEIXA PRINCIPAL:

VACINAÇÃO: VIROSE (_ / _ / _) RAIVA (_ / _ / _) OUTRAS.....

VERMÍFUGO: ATRASADO.....meses NÃO SIM (_ / _ / _).....

MEDICAÇÃO: NÃO SIM

NUTRIÇÃO: RAÇÃO COMIDA CASEIRA OUTROS

ANAMNESE: _____
.....

Mucosas: _____ **T:** _____ °C **TPC** _____ s **FC:** _____ bpm **FR:** _____ mpm

PANI: _____ **Hidratação:** _____ **Pulso:** _____ **Linfonodos:** _____

Abdômen: _____

CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS:

ANEXO III. Condição clínica dos animais estudados

G001	Animal assintomático
G002	Animal assintomático
G003	Animal assintomático
G004	Diagnosticado com Rinotraqueíte viral, trombocitopênia
G005	Trombocitopenia
G006	Animal assintomático
G007	Animal assintomático
G008	Animal assintomático
G009	Animal assintomático
G010	Diagnosticado com Toxoplasmose
G011	Ictéricia, apatia, febre, anorexia
G012	Animal assintomático
G013	Animal assintomático
G014	Diagnosticado com Toxoplasmose
G015	Diagnosticado com FIV
G016	Animal assintomático
G017	Animal assintomático
G018	Animal assintomático
G019	Diagnosticado com Rinotraqueíte viral, Cistite, anorexia, apatia
G020	Anorexia, apatia, febre, lesões ulcerosas na região periocular e focinho
G021	Animal com verminose
G022	Animal assintomático
G023	Animal assintomático
G024	Alopecia em região da cabeça, Linfadenomegalia
G025	Diagnosticado com FIV
G026	Diagnosticado com hemobartonella, trombocitopenia, apatia, paresia posterior, febre
G027	Animal assintomático
G028	Diagnosticado com Platinossomíase, inapetência, icterícia, diarreia, vômito
G029	Animal assintomático
G030	Animal assintomático
G031	Animal assintomático
G032	Animal assintomático
G033	Linfadenomegalia, Ascite
G034	Animal assintomático
G035	Secreção ocular mucopurulenta, Lesões crostosas em face e cauda
G036	Animal assintomático
G037	Hepatoesplenomegalia, Icterícia, linfadenomegalia
G038	Animal assintomático
G039	Uveíte, Secreção ocular serosa
G040	Animal assintomático
G041	Animal assintomático
G042	Animal assintomático

Continua...

G043	Caquexia, apatia, febre
G044	Trombocitopenia, linfadenomegalia
G045	Animal assintomático
G046	Animal com giardiase
G047	Animal assintomático
G048	Animal assintomático
G049	Animal assintomático
G050	Animal assintomático
G051	Animal assintomático
G052	Secreção ocular serosa, magro
G053	Animal assintomático
G054	Obesidade
G055	Piodermatite generalizada, alopecia, Caquexia, Otite bilateral
G056	Lesões crostosas e seborréicas em região dorsal e perianal
G057	Lesões crostosas e seborréicas em região periocular e mandibular
G058	Animal assintomático
G059	Obesidade
G060	Animal assintomático
G061	Animal assintomático
G062	Animal assintomático
G063	Animal assintomático
G064	Animal assintomático
G065	Animal assintomático
G066	Animal assintomático
G067	Secreção ocular serosa, uveíte, descamação em região periocular
G068	Seborréia generalizada, alopecia
G069	Prostração
G070	Magro, lesões crostosas em região periocular
G071	Diagnosticado com FeLV
G072	Animal assintomático
G073	Diagnosticado com Hemobartonella, febre, queda de pelo, apatia, falta de apetite
G074	Animal assintomático
G075	Animal assintomático
G076	Linfadenomegalia, Hepatomegalia, Cistite
G077	Diarréia, sialorréia
G078	Magro, apatia
G079	Apatia
G080	Secreção ocular purulenta, obesidade, Otite Crônica, Diagnosticado com malasseziose
G081	Dermatite
G082	Animal assintomático, gestante
G083	Caquexia, apatia, febre
G084	Animal assintomático, gestante
G085	Diagnosticado com Rinotraqueíte
G086	Animal assintomático

Continua...

- G087 Lesões crostosas e seborréicas disseminadas pelo corpo, anorexia, apatia, febre, icterícia linfadenomegalia, lesões perioculares, secreção ocular serosa
- G088 Surdez, incoordenação motora
- G089 Animal assintomático
- G090 Diagnosticado com FIV, Ferida exposta em região escapular, apatia
- G091 Animal assintomático
- G092 Animal assintomático
- G093 Desidratado, magro
- G094 Animal assintomático
- G095 Animal assintomático
- G096 Obesidade
- G097 Animal assintomático
- G098 Animal assintomático
- G099 Magro, cego
- G100 Animal assintomático
- G101 Lesão granulomatosa em orelha esquerda
- G102 Dermatite úmida aguda em região da pelve
- G103 Diarréia e vômito
- G104 Desidratado, vômito, secreção nasal purulenta
- G105 Puliciose
- G106 Seborréia generalizada
- G107 Animal assintomático
- G108 Animal assintomáticoAnimal assintomáticoAnimal assintomático
- G109 Diagnosticado com Hemobartonella
- G110 Diagnosticado com FIV
- G111 Halitose, Insuficiência Renal Crônica
- G112 Alopecia em cauda com formatos circulares
- G113 Prurido intenso, alopecia em região dorsal/cervical, puliciose

Anexo IV- Resultados do ELISA indireto para *Leishmania* sp. (113 animais).

1 a 4	5 a 12	13 a 20	21 a 28	29 a 36	37 a 44	45 a 52	53 a 60	61 a 68	69 a 76	77 a 84	85 a 92
0,181	0,213	0,187	0,236	0,233	0,444	0,234	0,217	0,198	0,237	0,254	0,276
0,169	0,233	0,245	0,421	0,342	0,211	0,213	0,176	0,322	0,366	0,322	0,322
0,877	0,194	0,222	0,374	0,211	0,301	0,309	0,322	0,343	0,336	0,282	0,255
0,911	0,333	0,311	0,456	0,232	0,223	0,406	0,211	0,232	0,266	0,342	0,265
0,138	0,243	0,245	0,322	0,433	0,241	0,231	0,278	0,322	0,222	0,231	0,211
0,111	0,298	0,311	0,233	0,212	0,321	0,222	0,244	0,211	0,211	0,453	0,327
0,234	0,345	0,233	0,198	0,231	0,218	0,198	0,211	0,235	0,342	0,322	0,325
0,189	0,211	0,343	0,233	0,232	0,198	0,323	0,254	0,311	0,458	0,322	0,234

93 a 100	101 a 108	109 a 113
0,322	0,344	0,232
0,211	0,243	0,255
0,322	0,212	0,244
0,235	0,233	0,218
0,231	0,256	0,219
0,342	0,233	
0,231	0,212	
0,222	0,322	

Positivos para leishmaniose animais com absorvâncias acima de 0,350

Filtro de 405nm

**Anexo V- Resultados do Elisa Indireto para
Toxoplasma gondii (113 animais)**

1 a 4	5 a 12	13 a 20	21 a 28	29 a 36	37 a 44	45 a 52	53 a 60	61 a 68	69 a 76	77 a 84	85 a 92	93 a 100	101 a 108	109 a 113
0,122	0,211	0,198	0,254	0,217	0,543	0,432	0,222	0,199	0,198	0,255	0,300	0,256	0,266	0,243
0,138	0,198	0,654	0,365	0,254	0,244	0,265	0,215	0,215	0,236	0,233	0,243	0,233	0,264	0,459
0,880	0,233	0,221	0,232	0,234	0,231	0,217	0,222	0,226	0,547	0,521	0,266	0,342	0,234	0,287
0,792	0,333	0,254	0,321	0,178	0,198	0,321	0,256	0,256	0,343	0,220	0,224	0,543	0,211	0,320
0,203	0,243	0,245	0,187	0,432	0,216	0,219	0,438	0,237	0,214	0,322	0,277	0,276	0,327	0,244
0,211	0,543	0,234	0,244	0,218	0,265	0,244	0,654	0,231	0,432	0,322	0,233	0,232	0,276	
0,321	0,265	0,322	0,239	0,276	0,218	0,321	0,233	0,215	0,221	0,188	0,265	0,255	0,198	
0,187	0,228	0,219	0,342	0,254	0,321	0,188	0,213	0,322	0,266	0,198	0,222	0,211	0,209	

Positivos para toxoplasmose animais com absorvâncias acima de 0,260

Filtro de 405nm