

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Walérya Lima Silva Santos Mendonça

**INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania* spp. EM FELINOS
DOMÉSTICOS (*Felis catus domesticus*) EM ÁREA ENDÊMICA
PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E HUMANA**

São Luís-MA

2022

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania* spp. EM FELINOS
DOMÉSTICOS (*Felis catus domesticus*) EM ÁREA ENDÊMICA
PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E HUMANA**

Walérya Lima Silva Santos Mendonça

Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Estadual do Maranhão (PPGC/UEMA), para a obtenção do título de Mestre. Área de concentração: Medicina Veterinária Preventiva.

São Luís-MA

2022

Mendonça, Walérya Lima Silva Santos.

Infecção natural por *Leishmania* spp. em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) em área endêmica para Leishmaniose visceral canina e humana./ Walérya Lima Silva Santos Mendonça. – São Luís, 2023.

81f.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Maranhão, 2023.

Orientador: Prof. PhD. Ferdinan Almeida Melo.

1. Leishmaniose felina. 2. Sinais clínicos. 3. Carga parasitária. I. Título.

CDU: 616.993.161:599.742.7

WALÉRYA LIMA SILVA SANTOS MENDONÇA

**INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania* spp. EM FELINOS
DOMÉSTICOS (*Felis catus domesticus*) EM ÁREA ENDÊMICA
PARA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E HUMANA**

Dissertação de Mestrado aprovada em 01 de setembro de 2022 pela banca examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
 FERDINAN ALMEIDA MELO
Data: 02/09/2022 10:57:35-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo- UEMA
Orientador

Documento assinado digitalmente
 ANA LUCIA ABREU SILVA
Data: 02/09/2022 12:08:13-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Ana Lúcia Abreu Silva- UEMA
1º Membro

Documento assinado digitalmente
 FLAVIA DE OLIVEIRA CARDOSO
Data: 02/09/2022 16:19:02-0300
Verifique em <https://verificador.iti.br>

Profa. Dra. Flávia de Oliveira Cardoso- FIOCRUZ- RJ
2º Membro

“Fazer o que gosta é
liberdade, gostar do
que faz é felicidade”

Frank Tyger

Dedico a todos os animais que fizeram parte deste estudo, sem os quais nada disso seria possível.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por me capacitar todos os dias e ser meu sustento nos momentos mais difíceis da caminhada.

Aos meus pais Francisco e Vanderly, por sempre se fazerem presentes em minha vida, agradeço por todo apoio, incentivo e renúncias que fizeram para que eu pudesse alcançar meus sonhos. Amo vocês.

Ao meu esposo Igor Mendonça, pela compreensão, por sempre me incentivar na busca por meus sonhos, e por ser meu companheiro de todas as horas.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo, pelo incentivo na busca por meus objetivos, por me acolher no seu grupo de pesquisa, pelos ensinamentos repassados e confiança em mim depositada.

A toda equipe do Laboratório de Imunodiagnóstico, em especial a prof. Dra. Carla Janaína Rebouças Marques Rosário, pelo incentivo e disponibilidade para ajudar sempre que necessário, aos doutorandos Cristian Alex Aquino Lima e Jéssica Lindoso, pelo apoio e suporte durante a realização desta pesquisa.

A toda equipe do laboratório de Patologia clínica, da Universidade Estadual do Maranhão, por me auxiliar durante as análises hematológicas e bioquímicas, na pessoa do Prof. Dr. Cláudio Nina, Kellen Lisboa, Bruna Shirakubo, Sr. Carlos, Sr. Mário, Ícaro e Priscila.

Ao Laboratório Cernitas, na pessoa do Prof. Dr. Daniel Chaves pelo apoio na realização do diagnóstico molecular das amostras dos felinos, e a Analy Cavalcante e Erlin Cutrim, pela disponibilidade e auxílio na execução da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real.

A equipe do setor de felinos do Hospital Veterinário Universitário da Universidade Estadual do Maranhão, em especial as médicas veterinárias Suellem Fernanda e Mara Luciana, pelo suporte nas coletas.

Ao MSc. Orestes Luiz por se disponibilizar no treinamento para realização de coletas e sanar dúvidas relacionadas a patologia clínica.

A Terezinha Marques, pelo apoio e por permitir a realização da pesquisa em sua clínica.

Aos meus amigos Alex Artur, Andressa Emilly e Jéssyca Souza, pela amizade, conselhos e contribuição para realização da pesquisa.

Aos meus colegas de turma, Ana Luiza Castro, Anny Hellen e Clauberth César, pelos momentos compartilhados e ajuda mútua.

A todos os professores que contribuíram para minha formação profissional.

A Universidade Estadual do Maranhão, pelo suporte e auxílio para que pudesse haver a realização deste experimento, e pela concessão da bolsa.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal por todo suporte concedido durante o período da pesquisa.

Enfim, a todos que contribuíram direta e indiretamente para a realização desse sonho

RESUMO

Em áreas endêmicas têm sido crescente os relatos de caso de infecção por *Leishmania* spp. em felinos domésticos (*Felis catus domesticus*). O estado do Maranhão, mais especificamente o município de São Luís é uma área com muitos casos de leishmaniose visceral canina e humana, porém com poucos estudos sobre a ocorrência da infecção em gatos e como esta se apresenta clinicamente nessa espécie. Diante do exposto o objetivo do estudo foi avaliar os aspectos clínicos e parasitológicos de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. Para isso, realizou-se a triagem de trinta e seis gatos provenientes de atendimentos em clínicas veterinárias e do Hospital Veterinário “Francisco Edilberto Uchôa Lopes”, na cidade de São Luís, Maranhão, dos quais vinte animais foram selecionados para compor os grupos do estudo. Foi realizado o diagnóstico para a leishmaniose, por meio do exame parasitológico direto de aspirados de linfonodos poplíteos, citologia de lesões cutâneas e punção aspirativa da medula óssea, e coletadas amostras sanguíneas para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos (ureia, creatinina, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, proteínas totais e albumina). Após obter os resultados dos testes diagnósticos, os animais foram divididos em dois grupos: (GP) formado por dez animais positivos para leishmaniose, com ou sem sinais clínicos da doença e (GC) composto por dez animais livres da infecção e clinicamente hígidos. Os dados obtidos foram analisados e armazenados em planilhas no Microsoft Excel, para posterior realização dos testes estatísticos. Encontrou-se positividade em 12,5 % (3/24) no exame parasitológico direto e 27,7% (10/36) na qPCR da medula óssea. Todos os gatos positivos para leishmaniose apresentaram três ou mais sinais clínicos, os mais frequentemente observados foram: lesões dermatológicas, linfadenomegalia, mucosas hipocoradas, secreção ocular e gengivoestomatite. Já na análise dos parâmetros hematológicos, foi observado monocitose, apresentando diferença estatística significativa entre os grupos avaliados ($p < 0,05$). Nas avaliações bioquímicas dos animais infectados, houve aumento significativo dos níveis de ureia ($p < 0,05$). Em relação a quantificação da carga parasitária na medula óssea dos animais do grupo GP, houve uma variação de 11.050 a 72.680.000 parasitas/mL. Não houve correlação positiva entre quantidade de sinais clínicos e a carga parasitária da medula óssea ($p > 0,05$). Não observou-se diferença estatística significativa entre os grupos de gatos oligossintomáticos e polissintomáticos e a quantidade de parasitos na medula óssea ($p > 0,05$). Diante disso, foi constatado a presença do protozoário infectando gatos domésticos no município de São Luís, e observado a importância da associação dos achados clínicos e parasitológicos para um melhor diagnóstico e prognóstico da leishmaniose em gatos.

Palavras-chave: leishmaniose felina, sinais clínicos, carga parasitária

ABSTRACT

In endemic areas, case reports of *Leishmania* spp. in domestic felines (*Felis catus domesticus*). The state of Maranhão, more specifically the municipality of São Luís, is an area with many cases of canine and human visceral leishmaniasis, but with few studies on the occurrence of the infection in cats and how it presents itself clinically in this species. Given the above, the objective of the study was to evaluate the clinical and parasitological aspects of cats naturally infected by *Leishmania* spp. For this, thirty-six cats were screened from veterinary clinics and Veterinary Hospital “Francisco Edilberto Uchôa Lopes”, in the city of São Luís, Maranhão, from which twenty animals were selected to compose the study groups. The diagnosis of leishmaniasis was made through direct parasitological examination of aspirates from popliteal lymph nodes, cytology of skin lesions and aspiration puncture of the bone marrow, and blood samples were collected for evaluation of hematological and biochemical parameters (urea, creatinine, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, total proteins and albumin). After obtaining the results of the diagnostic tests, the animals were divided into two groups: (GP) formed by ten positive animals for leishmaniasis, with or without clinical signs of the disease and (GC) composed by ten animals free of the infection and clinically healthy. The data obtained were analyzed and stored in spreadsheets in Microsoft Excel, for subsequent performance of statistical tests. Positivity was found in 12.5% (3/24) in direct parasitological examination and 27.7% (10/36) in bone marrow qPCR. All positive cats for leishmaniasis showed three or more clinical signs, the most frequently observed were: dermatological lesions, lymphadenopathy, pale mucous membranes, ocular discharge and gingivostomatitis. In the analysis of the hematological parameters, monocytosis was observed, showing a statistically significant difference between the evaluated groups ($p < 0.05$). In the biochemical evaluations of infected animals, there was a significant increase in urea levels ($p < 0.05$). Regarding the quantification of the parasite load in the bone marrow of the animals in the GP group, there was a variation from 11,050 to 72,680,000 parasites/mL. There was no positive correlation between the number of clinical signs and the bone marrow parasite load ($p > 0.05$). There was no statistically significant difference between the groups of oligosymptomatic and polysymptomatic cats and the amount of parasites in the bone marrow ($p > 0.05$). Therefore, the presence of the protozoan infecting domestic cats in the city of São Luís was verified, and the importance of the association of clinical and parasitological findings for a better diagnosis and prognosis of leishmaniasis in cats was observed.

Keywords: feline leishmaniasis, clinical signs, parasite load

LISTA DE TABELAS

TABELA 1. Epidemiologia da infecção por <i>Leishmania</i> spp. em felinos domésticos no Brasil.....	30
TABELA 2. Controles utilizados na Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).....	38
TABELA 3. Média e Desvio padrão dos parâmetros hematológicos grupo de gatos positivos para leishmaniose (GP) e grupo controle (GC). São Luís, MA, Brasil, 2022.....	48
TABELA 4. Média e Desvio padrão dos parâmetros bioquímicos do grupo de gatos positivos para leishmaniose (GP) e grupo controle (GC). São Luís, MA, Brasil, 2022.....	49
TABELA 5. Carga parasitária da medula óssea de gatos naturalmente infectados por <i>Leishmania</i> spp. São Luís-MA, 2022.....	52

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1. Ciclo de vida da <i>Leishmania</i> spp. no hospedeiro vertebrado.....	20
FIGURA 2. Resposta imunológica sugerida para felinos frente a infecção por <i>Leishmania</i> spp., IFN- γ = interferon gamma, IL= interleucina, MHC II= Complexo Principal de histocompatibilidade, NO = Óxido nítrico, Tc= Célula citotóxica, TCD4+= Células T-helper tipo 1, Th2= Células T- helper tipo 2; TGF- β = Fator de crescimento transformador beta; TNF- α -= fator de necrose tumoral alfa; Treg= células T regulatórias (Adaptado de SOARES et al, 2015.....	25
FIGURA 3. Coleta de sangue em felino por punção em veia jugular externa. São Luís, MA. 2022.....	35
FIGURA 4. Punção aspirativa de medula óssea em região de crista ilíaca de felino, proveniente de área endêmica para leishmaniose visceral canina e humana, São Luís-MA, 2022.....	36
FIGURA 5. Citologia de pele em lesão localizada em região torácica direita, utilizando técnica de escarificação com auxílio de escova ginecológica. São Luís-MA, 2022.....	37
FIGURA 6. Fotomicrografia de esfregaços de lesões de pele em felinos naturalmente infectados com <i>Leishmania</i> spp., em A e B, formas amastigotas do parasito em fragmento de pele da orelha, apresentando alta carga parasitária. Em C e D – formas amastigotas do parasito em citologia coletada de lesões em coxins, observa-se na seta preta, a presença do protozoário. Objetiva 100x. Coloração Panótico Rápido®. São Luís-MA, Brasil, 2022.....	42
FIGURA 7. Fotomicrografia de esfregaços de linfonodos poplíteos de gato naturalmente infectados com <i>Leishmania</i> spp. Nas setas formas amastigotas do parasita. Objetiva 100x. Coloração Panótico Rápido®. São Luís- MA, Brasil, 2022.....	43
FIGURA 8. Sinais clínicos apresentados por gatos naturalmente infectados por <i>Leishmania</i> spp. São Luís- MA, Brasil, 2022	44
FIGURA 9. Alterações físico-clínicas em gatos naturalmente infectados por <i>Leishmania</i> spp. A e B: Lesões em ponta de orelha e secreção ocular; C: Lesão em borda de orelha com presença de crosta hemática; C e D: aumento de volume em região de coxins e lesões com presença de secreção sanguinolenta; E: gengivoestomatite; F: uveíte em olho direito. São Luís-MA, Brasil, 2022	45

FIGURA 10 A e B. Curva detecção para DNA de <i>Leishmania</i> spp. em amostras de medula óssea de gatos. Análise realizada pelo aparelho <i>BIO-RAD CFX96TM</i> Real-Time System (Berkeley, Califónia). São Luís-MA, 2022.....	50
FIGURA 11. Correlação entre os sinais clínicos apresentados pelos gatos do grupo GP e a carga parasitária da medula óssea. São Luís-MA, 2022.....	53
FIGURA 12. Correlação entre os grupos dos animais oligossintomáticos e polissintomáticos com a carga parasitária da medula óssea dos gatos positivos para leishmaniose. São Luís- MA, 2022.....	54

LISTA DE ABREVIATURAS

ALT-Alanina Aminotransferase
AST-Aspartato Aminotransferase
APCs- Células Apresentadoras de Antígenos
CEEAA- Comitê de Ética e Experimentação AnimalCélulas
NK- Natural Killer
DCs- Células Dendríticas
EDTA- Ethylenediamine tetraacetic acid
ELISA- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
FIV- Vírus da Imunodeficiência Felina
FeLV- Vírus da Leucemia Felina
IFN- γ - Interferon gama
Ig(s)- ImunoglobulinasIL- Interleucina
LV- Leishmaniose Visceral
LF- Leishmaniose felina
MPA- Medicação pré-anestésica
MO- Medula óssea
NO- Óxido Nítrico
PAAF- Punção Aspirativa por Agulha Fina
PBS- phosphate buffered salin
PCR- Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR- PCR em Tempo Real
RIFI- Reação de Imunofluorescência Indireto
rpm- rotações por minuto
TCLE- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
TGF- β - Fator de Transformação do Crescimento betaTh-1- T helper 1
Th-2- T helper 2
TNF- α - Fator de necrose tumoral alf

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REFERENCIAL TEÓRICO	18
2.1 AGENTE ETIOLÓGICO	18
2.2 CICLO BIOLÓGICO.....	19
2.3 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS	20
2.4 RESPOSTA IMUNOLÓGICA	22
2.4.1 Imunidade Adaptativa	22
2.5 DIAGNÓSTICO	26
2.6 LEISHMANIOSE FELINA.....	29
3 OBJETIVOS	33
3.1 Geral.....	33
3.2 Específicos	33
4 MATERIAL E MÉTODOS	34
4.1 ANIMAIS	34
4.2 FORMAÇÃO DOS GRUPOS	34
4.3 COLETA E PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA ANÁLISE	35
4.3.1 Coleta e processamento das amostras	35
4.3.2 Punção Aspirativa dos Linfonodos e Médula Óssea.....	36
4.3.3 Citologia de Pele	37
4.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL QUANTITATIVA (qPCR)	37
4.4.1 Extração de DNA	37
4.4.2 Quantificação e Pureza do DNA das Amostras	38
4.4.3 qPCR das amostras de medula óssea	38
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA	39
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
5.1 Sinais clínicos observados nos animais positivos para leishmaniose felina	43
5.2 Perfil Hematológico e Bioquímico	47
5.3 qPCR em Tempo Real das amostras de medula óssea	50
5.4 Determinação da carga parasitária na medula óssea	51
6 CONCLUSÕES	55
7 REFERÊNCIAS.....	56
APÊNDICES	78
ANEXOS	79

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral é uma antroponose causada por protozoários intracelulares obrigatórios pertencentes à família *Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014). Apresentam ciclo epidemiológico complexo e com múltiplos hospedeiros, no qual estão incluídos mamíferos domésticos e silvestres como hospedeiros vertebrados, e os flebotomíneos como hospedeiros invertebrados (DOS SANTOS et al., 2021).

No ambiente urbano, apesar dos cães domésticos (*Canis familiaris*) serem comumente mais afetados pela doença e considerados o principal reservatório do parasito, estudos comprovaram que felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) também podem ser infectados com *Leishmania* spp. A infecção nessa espécie tem sido relatada principalmente em países onde a doença é considerada endêmica (MENDONÇA et al., 2020; CAMPRIGHER et al., 2019).

O primeiro relato da infecção natural de um gato doméstico por *Leishmania* spp. foi descrito em 1912, na Argélia, em um felino de quatro meses de idade (SERGENT et al., 1912). No Brasil, o primeiro caso foi descrito por Mello, em 1940, em um gato que apresentava lesões na orelha e no plano nasal, cujo diagnóstico foi confirmado por meio de exame citológico, porém não foi identificada a espécie de *Leishmania* envolvida (SIMOES-MATTOS et al., 2004).

Foram identificadas, em todo o mundo, sete espécies de *Leishmania* infectando gatos domésticos, sendo *Leishmania infantum* a mais prevalente (PENNISI et al., 2013; PEREIRA e MAIA, 2021).

A apresentação clínica da leishmaniose em felinos varia de acordo com a espécie do protozoário envolvida e da resposta imune do hospedeiro, no entanto gatos são considerados mais resistentes, permanecendo assintomáticos, com parasitemia até dezesseis semanas após a inoculação de *L. infantum* em uma dose que geralmente resultaria em doença clínica em cães (AKHTARDANESH et al., 2018).

Quando apresentam doença clínica, os sinais são inespecíficos, podendo ser observado: gengivoestomatite crônica, linfadenomegalia, lesões cutâneas, lesões oculares, mucosas hipocoradas, hepatomegalia, icterícia, caquexia, febre, vômitos, diarreia, descarga nasal crônica, esplenomegalia, dispneia e aborto (PADUA, 2017).

Em relação ao diagnóstico da leishmaniose felina, os métodos mais utilizados são: exame

parasitológico (observação direta das formas amastigotas de *Leishmania*), testes imunológicos como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e por testes moleculares: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR) (PENNISI et al., 2013).

O exame parasitológico pode ser realizado por citologia e /ou biópsia de pele, possuindo um baixo custo e facilidade e rapidez na execução (BRESCIANI et al., 2010). Já os testes imunológicos são os mais utilizados na rotina clínica por maior facilidade de acesso, porém ainda não existe uma técnica padronizada e os felinos apresentam uma resposta imunológica variável (NOÉ & BABO-TERRA, 2016). Os métodos moleculares possuem maior índice de confiabilidade, possibilitam o diagnóstico de maior número de amostras, bem como realizar a quantificação da carga parasitária em diferentes tipos de matrizes biológicas (BENASSI et al., 2017; OTRANTO et al., 2017).

O diagnóstico da leishmaniose em felinos ainda é desafiador, uma vez que não há estudos sobre padronização dos métodos supracitados, associado ao fato da pouca compreensão da imunologia e fisiopatologia da Leishmaniose Felina (LF), tornando a identificação de animais infectados um desafio (SPADA et al., 2013; SILVEIRA et al., 2015). Desse modo, o conhecimento da apresentação clínica e parasitária da leishmaniose em gatos contribuiria para auxiliar no diagnóstico mais precoce desses animais, bem como em futuros avanços no diagnóstico e prognóstico da doença na espécie felina.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

A leishmaniose é causada por protozoários do gênero *Leishmania*, pertencentes a ordem *Trypanosomatida* e família *Trypanosomatidae* (AKHOUNDI et al., 2016). O desenvolvimento desse parasito compreende duas formas morfológicas principais: promastigota, que se caracteriza por possuir forma alongada, presença de flagelo livre, cinetoplasto na extremidade anterior e núcleo central, e a amastigota, cuja estrutura é arredondada e sem flagelo aparente (MARTINS, 2019; FREITAS e PINHEIRO, 2010). A primeira é encontrada em vetores artrópodes, representados por insetos denominados flebotomíneos, enquanto a segunda se localiza principalmente no interior das células do sistema fagocítico mononuclear de hospedeiros vertebrados (GALVIS-OVALLOS et al., 2017; DA COSTA et al., 2015).

As espécies de *Leishmania* são subdivididas em duas linhagens filogenéticas: *Euleishmania* (inclui os subgêneros *Leishmania*, *Viannia*, *Sauroleishmania* e Complexo *Leishmania enrietti*), e *Paraleishmania* (abrange as espécies *L. hertigi*, *L. Deanei*, *L. colombiensis*, *L. equatorensis*, *L. herreri* e gênero *endotrypanum*) (AKHOUNDI et al., 2016).

As espécies apontadas como causadoras da infecção em felinos no mundo incluem *L. infantum*, *L. mexicana*, *L. venezuelensis* e *L. braziliensis*. No Brasil, três espécies diferentes foram encontradas em gatos: *L. amazonensis* (SOUZA et al, 2005; SOUZA et al 2009; CARNEIRO et al., 2020), *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004; FIGUEIREDO et al., 2008; COSTA-VAL et al., 2020) e *L. infantum* (SAVANI et al., 2004; DA SILVA et al., 2008; DAHROUG et al., 2010; DA SILVA et al., 2010; COELHO et al., 2011a, VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; MORAIS et al., 2013; SILVA et al., 2014; SOUSA et al., 2014; METZDORF et al., 2017; BENASSI et al., 2017; COURA et al., 2018; MADRUGA et al., 2018; MARCONDES et al., 2018; PEDRASSANI et al., 2019; ROCHA et al., 2019; SILVA et al., 2020; COSTA-VAL et al., 2020; BERENGUER et al., 2020; DOS SANTOS et al., 2021), sendo a última espécie a mais

prevalente em todo o mundo e a principal causadora da leishmaniose em felinos domésticos no Brasil (PENNISI e PERSICHETTI, 2018; ASFARAM et al., 2019).

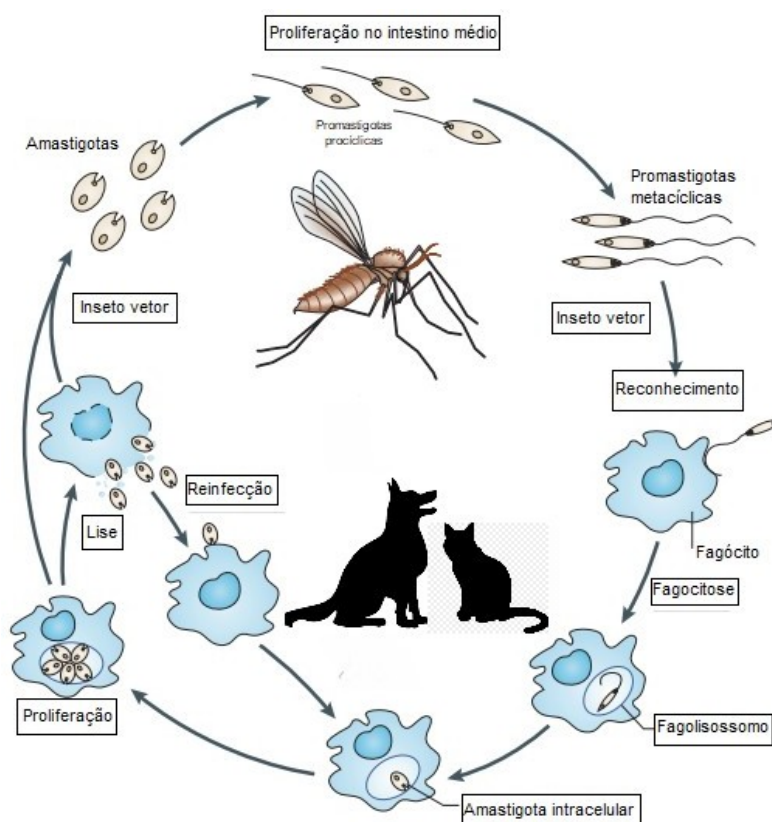
2.2 CICLO BIOLÓGICO

Leishmania possui um ciclo biológico heteroxeno, possuindo dois hospedeiros, um invertebrado (inseto vetor) e outro vertebrado (canídeos silvestres e domésticos, gatos, roedores, humanos, dentre outros) (DOS SANTOS et al., 2021). Os vetores são fêmeas da ordem *Diptera*, família *Psychodidae*; subfamília *Phlebotominae*, dos gêneros *Lutzomyia*, a espécie considerada transmissora de *Leishmania infantum* no Brasil é *Lutzomyia longipalpis*, porém, *Lutzomyia cruzi* é apontada como transmissora em áreas específicas dos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (BRASIL, 2016).

As fêmeas dos flebotomíneos necessitam de sangue para o desenvolvimento de seus ovos, então, durante o repasto sanguíneo no hospedeiro infectado adquirem o protozoário ao ingerir macrófagos parasitados por formas amastigotas de *Leishmania* spp. (ALCÂNTARA, 2019). No trato digestivo anterior do inseto ocorre o rompimento da célula fagocítica liberando as formas amastigotas, que se reproduzem por divisão binária e diferenciam-se em vários estágios morfolologicamente distintos para finalmente se tornar a forma infectante: promastigotas metacíclicas, e estas são inoculadas em novos indivíduos no momento da picada dos flebótomos (Figura 1) (OLIVEIRA et al., 2009).

No hospedeiro vertebrado, as formas promastigotas metacíclicas são fagocitadas por macrófagos, se transformando em formas amastigotas, e replicando-se no interior das células hospedeiras, que se rompem e as liberam para o meio extracelular, permitindo a reinfecção de fagócitos locais, perpetuando o ciclo do parasito (Figura 1) (KAYE e SCOTT, 2011).

FIGURA 1. Ciclo de vida da *Leishmania* spp. no hospedeiro vertebrado. Adaptado de Kaye & Scott (2011).



2.3 PATOGENIA E SINAIS CLÍNICOS

A infecção por *Leishmania* apresenta aspectos clínicos diferentes nos hospedeiros afetados, que podem estar relacionadas a vários fatores como: espécie envolvida, número de exposições a picadas infecciosas, via de inoculação, tamanho do inóculo, suscetibilidade individual do hospedeiro, natureza da resposta imune montada para infecção e coinfeção com outros patógenos (BANETH et al, 2020).

Diferentemente dos cães, estudos tem demonstrado que gatos possuem maior resistência a infecção por *Leishmania* spp., uma vez que manifestam sinais clínicos da doença quando possuem coinfeções associadas, como retrovirose (imunodeficiência e leucemia felina), neoplasias, doenças fúngicas (esporotricose), bacterianas (micoplasmose), protozooses (toxoplasmose) e outras doenças debilitantes que causam imunossupressão nessa espécie (PENNISI, 2015).

As características clínicas mais recorrentes nos felinos infectados são lesões cutâneas e mucocutâneas, incluindo dermatite ulcerativa, crostosa, nodular ou escamosa (PENNISI e PERSICHETTI, 2018). As alterações dermatológicas predominam na apresentação clínica da doença em gatos, e estima-se que sejam responsáveis por mais da metade das manifestações de LF causadas por *Leishmania infantum* (PENNISI, 2015).

Além disso, pode haver manifestação ocular como uveíte, unilateral ou bilateral, sendo a lesão mais descrita, com ocasionalmente um padrão granulomatoso pseudotumoral e eventualmente progride para panoftalmite (RICHTER et al., 2014). Blefarite e conjuntivite também foram descritas em alguns casos clínicos (CARACAPPA et al, 2008; NAVARRO et al., 2010; PENNISI et al., 2013).

Os sinais clínicos não cutâneos mais frequentes, encontrados isoladamente ou em combinação são linfadenomegalia, gengivoestomatite, anorexia, perda de peso, desidratação, letargia, mucosas hipocoradas, icterícia, febre, hipotermia, vômito, diarreia, corrimento nasal crônico, dispneia, poliúria, polidipsia e aborto (PENNISI et al, 2015a).

Em relação a alterações clínico-patológicas que parecem estar diretamente associadas a esta patologia foram observadas: anemia normocítica normocrômica, hiperproteinemia associada a hiperglobulinemia, este último foi detectado em mais de 80% dos gatos com FeL e deve ser investigado como possível biomarcador da leishmaniose felina (URBANI et al, 2019; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PEREIRA e MAIA, 2021).

Outros achados laboratoriais são leucocitose ou leucopenia, observados com pouca frequência, enquanto trombocitopenia e azotemia são relatados frequentemente (PEREIRA et al., 2019c; FERNANDEZ- GALLEGO et al., 2020). Foi descrito proteinúria, em um quarto dos animais doentes, sugerindo uma possível associação de LF e doença renal, como descrito em cães (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PEREIRA e MAIA, 2021). Observou-se também elevação das enzimas hepáticas, porém com menor frequência que em cães com leishmaniose (SOLLANO-GALLEGO et al., 2011).

2.4 RESPOSTA IMUNOLÓGICA

A resposta imunológica desempenha um papel primordial no controle da infecção por *Leishmania* spp., essa compreende mecanismos envolvidos na imunidade inata e na imunidade adquirida (FREITAS et al., 2013). A imunologia dos gatos frente a infecção pelo protozoário ainda não está totalmente esclarecida, a maior parte dos conhecimentos que se tem são provenientes de estudos realizados em humanos e cães (NASCIMENTO et al., 2022).

Para o estabelecimento da infecção, o protozoário adentra as células fagocitárias (monócitos, macrófagos residentes, células dendríticas e neutrófilos). Os fagócitos por sua vez se utilizam de mecanismos químicos e celulares de resposta rápida para controlar o crescimento e/ou eliminação do agente invasor (PALTRINIERI et al., 2010).

Após a fagocitose do parasito, estes ativam mecanismos intrínsecos, entre eles, a ação dos neutrófilos, células apresentadoras de antígenos (macrófagos e células dendríticas), a ativação do sistema complemento e a presença dos mediadores inflamatórios, como prostaglandinas e leucotrienos, desencadeando uma resposta primária ou inata para o controle da infecção (BARRAL & COSTA, 2011).

No entanto, *Leishmania* spp. possui mecanismos de resistência às respostas do sistema imune do hospedeiro. Caso os protozoários consigam resistir, o sistema imune desenvolve uma resposta do tipo adaptativa, que se dá pela expansão e diferenciação dos linfócitos, podendo ser do tipo celular, com participação dos linfócitos Th1, e do tipo humoral, pela ação dos linfócitos Th2, resultando na produção de anticorpos e envolvimento de linfócitos B (ABBAS et al., 2008).

2.4.1 Imunidade Adaptativa

Os neutrófilos são a primeira linha celular de defesa recrutada ao local de inoculação das formas promastigotas de *Leishmania* spp., estes assumem a função de fagocitar, eliminar os parasitos e recrutar outras células (MULLER et al, 2001). No entanto, estudos tem apontado essa célula como um importante responsável pela

progressão da infecção, pois a hipótese “Cavalo de Tróia” foi levantada, propondo que os neutrófilos infectados auxiliam na entrada “silenciosa” dos parasitos nos macrófagos (LASKAY et al., 2003).

Embora os neutrófilos sejam as células da linha de frente, é no interior dos macrófagos que existem as melhores evidências de replicação e sobrevivência do protozoário a longo prazo (KAYE & SCOTT, 2011). Os macrófagos agem como células apresentadoras de antígenos (APCs) e na produção de citocinas moduladoras da resposta mediada por linfócitos T (LT) (JARAMILLO, 2014).

Além dos macrófagos, as células dendríticas também são responsáveis pela fagocitose e consideradas mais eficientes na ativação dos linfócitos T. As mesmas capturam os antígenos que entram pelo epitélio, transportam-os para os linfonodos regionais, nos quais as células dendríticas (DCs) apresentam-os para o reconhecimento pelas células T (ABBAS et al., 2011).

As células T desempenham a função de modular e orientar por meio da produção de citocinas, a reação de macrófagos ao parasito (ABBAS et al., 2011; HOSEIN et al., 2017). Os LT constituem-se de duas principais subpopulações: as células T CD4⁺ e as células T CD8⁺ (FREITAS e PINHEIRO, 2010).

As células T CD4⁺ auxiliares são subdivididas funcionalmente pelo padrão de citocinas que produzem, em duas subpopulações: linfócitos T auxiliares CD4⁺, denominadas linfócitos T auxiliar 1 (Th1) e T auxiliar 2 (Th2) (BRADLEY, 2003; TIZARD, 2008).

Na infecção por *Leishmania* spp., as DCs e macrófagos apresentam os antígenos para células T CD4⁺ que modulam o tipo de resposta imune (PAPADOGIANNAKIS e KOUTINAS, 2015). A resposta imune orientada pelo auxiliar 1 (Th1), associada à produção das citocinas: interferon-gama (IFN- γ), interleucina 2 (IL-2) e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), estimula a fagocitose por macrófagos, produção de óxido nítrico e reativo intermediário com oxigênio, levando a eliminação intracelular do parasita (HOSEIN et al., 2017).

O IFN- γ ativa células natural killer (NK) e macrófagos, promove a diferenciação de Th1 e inibe a proliferação das células T CD4⁺ Th2, com posterior

ativação de linfócitos B e produção de IgG2 (BARBIERI, 2006). Estudos realizados com cães apontam que a produção de níveis mais elevados de IFN- γ estão associados a resistência a infecção, sendo os animais assintomáticos para a doença (SANTOS-GOMES et al. 2002; CHAMIZO et al. 2005; ROSÁRIO et al, 2018).

Outra citocina que é apontada por conferir resistência é a IL-12, considerada a principal indutora das células Th1, com consequente aumento da produção de IFN- γ (SANTOS-GOMES et al., 2002). Já a TNF- α é uma citocina considerada de alerta, sendo secretada pelos macrófagos residentes nos tecidos (VORONOV et al., 2010).

Por outro lado, a suscetibilidade à infecção e à progressão da doença é mediada predominantemente por uma resposta imune não auxiliar de Th2 e pela produção de citocinas como IL-4, IL-10, IL-13 e fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que estão associados à regulação negativa da resposta imune celular, a um alto nível de anticorpos e à disseminação de *L. infantum* pelo organismo (SOLANO- GALLEGO et al., 2011).

A IL-4 atua na diferenciação dos linfócitos TCD4⁺ para o padrão Th2, e em conjunto com IL-10, inibe a ativação das células CD4⁺ Th1, aumentando a produção de IgG1, IgA e IgE (BELKAID et al., 2002).

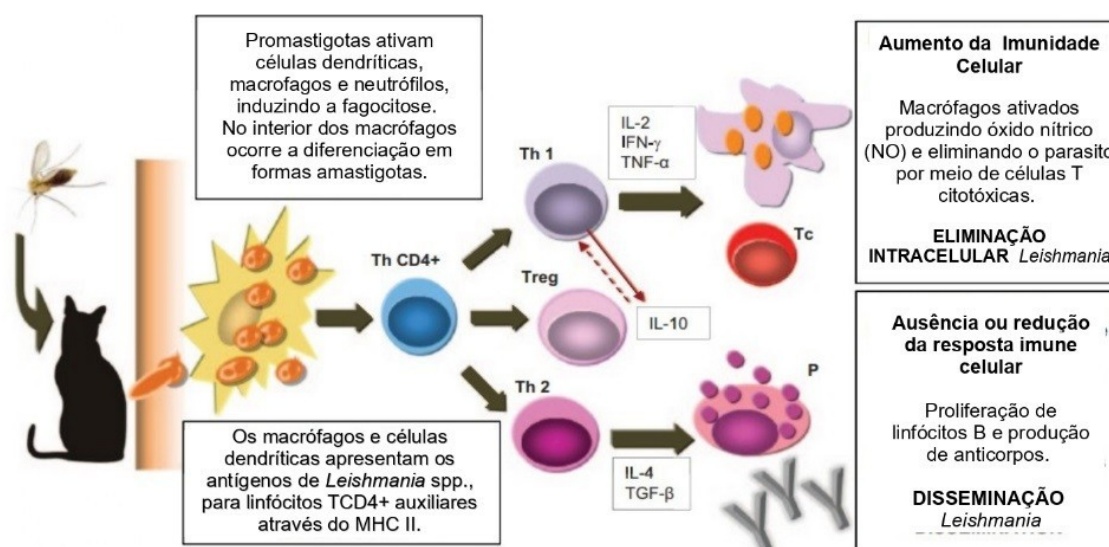
A citocina TGF- β causa aumento da carga parasitária na infecção pelo protozoário, uma vez que desativa a função dos macrófagos, esse efeito foi observado em estudo realizado por Oliveira e colaboradores (2012), no modelo experimental da infecção *L. amazonensis*. Interleucina-13 também desempenha o papel de suprimir a função dos macrófagos, além de estimular o crescimento das células B (BIER et al., 2003).

Adicionalmente, IL-10 e TGF-B são duas citocinas com efeito imunossupressor, que modulam a resposta imune exacerbada, a imunopatologia nas alergias, a autoimunidade e as doenças infecciosas (JARAMILLO, 2015).

Em felinos observam-se respostas imunológicas inatas e adaptativas diferentes, o que poderia explicar a menor prevalência da infecção por *Leishmania* spp. nessa espécie, bem como a apresentação clínica da doença em gatos comparada a cães (PENNISI et al. 2015). Segundo Day et al. (2016) apesar dos cães e gatos possuírem sistemas imunológicos semelhantes, os componentes deles podem interagir de forma diferente, levando a respostas imunes distintas mediante a infecção pelo protozoário.

Em gatos, a resposta parece envolver predominantemente a imunidade mediada por células, com ativação de macrófagos para a destruição das formas amastigotas (SOARES et al., 2015). Pennisi et al., (2015) propôs que felinos apresentam uma resposta imune que difere da apresentada por cães, pois apesar de alguns gatos desenvolverem doença clínica grave após a infecção por *L. infantum*, eles possuem uma “imunidade natural” que promove a remissão espontânea das lesões devido a eficácia da resposta Th1 (Figura 2).

FIGURA 2. Resposta imunológica sugerida para felinos frente a infecção por *Leishmania* spp., IFN- γ = interferon gamma, IL= interleucina, MHC II= Complexo Principal de histocompatibilidade, NO = Óxido nítrico, Tc= Célula citotóxica, TCD4+= Células T-helper tipo 1, Th2= Células T- helper tipo 2; TGF- β = Fator de crescimento transformador beta; TNF- α = fator de necrose tumoral alfa; Treg= células T regulatórias (Adaptado de SOARES et al, 2015).



Estudos envolvendo a resposta imunológica dos felinos frente a infecção por *Leishmania* spp. foram realizados no Brasil. Vides (2014) avaliou a expressão gênica das citocinas IL-4, IL-10, IL-12 e IFN- γ no baço de gatos, e observou que não houve diferença estatística significativa entre os animais positivos e os do grupo controle, concluindo que a participação de linfócitos Th1 e Th2 é pequena ou ausente.

Hirata (2015) ao avaliar as citocinas participantes da resposta imune celular (IFN- γ , TNF- α , IL-2) e resposta imune humoral (IL-5) em amostras de baço de gatos naturalmente infectados, notou aumento na expressão IFN- γ nos animais positivos em

relação ao grupo de felinos não infectados, sugerindo assim a relevância da participação do IFN- γ nos mecanismos de proteção contra o parasito.

Em conformidade ao observado no estudo anterior, Priolo et al. (2019), em experimento realizado com gatos provenientes de áreas endêmicas da Itália e Espanha, demonstraram que após estimulação *in vitro* com antígeno solúvel de *Leishmania infantum* houve a produção de IFN- γ . Este achado é importante para destacar que na presença do protozoário o sistema imunológico dos gatos desenvolve resposta imune protetora mediada por células.

Em contrapartida, Silva (2019) avaliando a resposta imunológica dos gatos com leishmaniose, observou aumento significativo das imunoglobulinas IgA, IgG e IgM em felinos infectados com *L. infantum* em relação ao grupo controle, sugerindo a participação da resposta imune humoral na infecção dessa espécie.

Em relação a produção de anticorpos por felinos, Simões-Mattos et al. (2005), ao estudarem gatos infectados com *L. brasiliensis*, observaram que não há correlação entre a presença de lesões ativas e a positividade em testes sorológicos, sugerindo assim que a soroconversão ocorre após a cura clínica dos animais.

O único estudo avaliando o papel do sistema complemento na infecção felina por *L. infantum* mostrou que, ao contrário de humanos e cães, as proteínas dos gatos são consumidas por parasitos na via lectina, que hipoteticamente pode justificar sua baixa predisposição para desenvolver a doença clínica (TIRADO et al., 2021).

Um fator que deve ser descartado para avaliação da resposta imunológica dos gatos é a ocorrência de coinfeções secundárias, como FIV (*Feline immunodeficiency Virus*) e FeLV (*Feline Leukemia Virus*), pois podem prejudicar a resposta imune celular e facilitar a disseminação visceral do parasito (GREVOT et al., 2005). Portanto ao avaliar a imunidade dos felinos frente a infecção por *Leishmania*, é imprescindível considerar a ocorrência de infecções por outros agentes imunossupressores (SILVEIRA-NETO et al., 2015).

2.5 DIAGNÓSTICO

A maioria das técnicas diagnósticas para infecção por espécies de *Leishmania* disponíveis para cães, também são utilizadas em gatos. A abordagem diagnóstica deve ser baseada no histórico clínico dos animais, exames laboratoriais (hemograma completo e dosagem de enzimas bioquímicas) e testes diagnósticos

específicos para o parasito. Além disso, ressalta-se a importância de realizar exames para exclusão de doenças compatíveis e/ou concomitantes (SOARES et al., 2015; PENNISI et al., 2015; BRIANTI et al., 2017).

O diagnóstico pode ser realizado por métodos diretos: parasitológicos, métodos indiretos: sorológicos (Reação de imunofluorescência indireta-RIFI, Ensaio de Imunoabsorção Enzimática-ELISA, aglutinação direta e *Western blot*), moleculares (Reação em Cadeia da Polimerase-PCR e Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real- qPCR (PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015). *Leishmania* spp. pode ser detectada no sangue periférico, pele, medula óssea, órgãos linfáticos, fígado, mucosa oral, conjuntival, exsudato nasal, olhos, estômago, rins, entre outros (PENNISI & PERSICHETTI, 2018).

O teste considerado padrão ouro para o diagnóstico de leishmaniose felina é a observação das formas amastigotas de *Leishmania* em aspirados da medula óssea, baço e linfonodo (ASFARAM et al., 2019; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015). O exame parasitológico possibilita a visualização do parasito em lâmina, pode ser realizado por citologia e /ou biópsia de pele. A citologia por aspiração ou impressão também pode ser realizada em órgãos afetados, como fígado, baço e rim (BRESCIANI et al., 2010).

O parasitológico direto por punção aspirativa de linfonodo poplíteo foi demonstrado como mais sensível em comparação com a citologia de outros órgãos (COSTA et al., 2010). Já a histopatologia tem sensibilidade e especificidade aceitáveis, principalmente para o diagnóstico de gatos com lesões cutâneas (POCHOLLE et al., 2012).

A cultura de promastigotas de *Leishmania* é considerado método direto adicional, possui alta especificidade e baixa sensibilidade, como desvantagem podemos citar a demora para obtenção dos resultados (POCHOLLE et al., 2012). Amostras de medula óssea, linfonodos e sangue podem ser utilizadas, no entanto alguns autores citam que o sangue, por possuir baixa parasitemia não é um tecido indicado para cultura de *Leishmania* em gatos (MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007).

Quanto ao emprego de técnicas sorológicas, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), também conhecido como teste de anticorpos por fluorescência indireta (IFAT), tem sido considerada como técnica de referência. O título de corte da RIFI foi fixado em 1:80 para gatos, assim como em cães (PENNISI et al., 2012). Outros métodos incluem ELISA e *Western blot*, que foram modificados pelo uso de um marcador molecular específico altamente imunogênico, denominado superóxido dismutase de ferro

(Fe-SOD) (LONGONI et al., 2012).

No entanto, os métodos sorológicos não são considerados tão eficientes para detectar a infecção em felinos, visto que a resposta imunológica dessa espécie é bastante variável, e não há padronização nos testes sorológicos para gatos (NOÉ & BABO-TERRA, 2016).

Dentre as técnicas de biologia molecular para diagnóstico de leishmaniose em gatos pode ser utilizada a PCR convencional e a PCR em tempo real-qPCR (BENASSI et al., 2017). A reação em Cadeia da Polimerase é uma ferramenta importante para a detecção do DNA de *Leishmania*, e demonstrou ser um método sensível para detecção direta e identificação da espécie envolvida (SCHÖNIAN et al., 2003).

Além disso, a PCR é uma boa alternativa para confirmar o diagnóstico e detectar a infecção em gatos assintomáticos (GRAMICCIA e GRADONI, 2005). A técnica de PCR pode ser aplicada a uma variedade de matrizes biológicas, incluindo medula óssea, biópsia de pele, aspirado de linfonodo, swab conjuntival e oral (OTRANTO et al., 2017).

Já a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) tornou-se cada vez mais popular nos últimos anos, pois permite não apenas detectar o parasito, como também quantificar a carga parasitária nos tecidos e identificar as espécies de *Leishmania*. Dentre as vantagens da técnica da qPCR podemos citar a rapidez na execução, seu amplo alcance de amostras biológicas, e a redução na contaminação cruzada, pois não há necessidade de análises pós-PCR (GALLUZZI et al., 2018).

2.6 LEISHMANIOSE FELINA

O primeiro caso de infecção natural por *Leishmania* em felino doméstico foi descrito em 1912, na Argélia, em um gato de quatro meses, que convivia com um cão e uma criança, ambos positivos para leishmaniose. O diagnóstico foi realizado por meio da visualização das formas amastigotas em amostra de medula óssea, após a morte do animal (SERGENT et al., 1912).

Após os primeiros relatos vários casos foram descritos em todo o mundo e evidenciaram a ocorrência da doença nesta espécie animal em países como: Estados Unidos (CRAIG et al., 1986; BARNES et al., 1993; TREINOR et al., 2010), Itália (BARBOSA-SANTOS et al., 1988; GRAMICCIA et al., 2002; POLI et al., 2002; PENNISI et al., 2004; ENNAS et al., 2012), Argentina (BRUMPT, 1949), Portugal (COSTA-DURÃO et al., 1994; MARCOS et al., 2009; CARDOSO et al., 2010; MAIA et al., 2010), Espanha (CRAIG et al., 1989; BARNES et al., 1993; HÉRVAS et al., 1999; HÉRVAS et al., 2001; LEIVA et al., 2005; MARTÍN-SÁNCHEZ et al., 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2007; AYLLON et al., 2008; SHERRY et al., 2011), França (DUNAN et al., 1989; LAURELLE et al., 1996; OZON et al., 1998; PRATLONG et al., 2004; GREVOT et al., 2005) e Venezuela (BONFANTE-GARRIDO et al., 1996).

No Brasil, o primeiro registro foi no estado do Pará, em um gato com lesões em focinho e orelhas, o qual teve citologia positiva, porém não foi identificada a espécie de *Leishmania* que causou a infecção (MELLO, 1940). Após isso, outros casos foram relatados em alguns estados do país (Tabela 1).

TABELA 1. Epidemiologia da infecção por *Leishmania* spp. em felinos domésticos no Brasil.

Estado	Autores	N amostral	% Positivos				
			Parasitológico	ELISA	RIFI	PCR	qPCR
Pará	Mello (1940)	1	100	-	-	-	-
	Oliveira et al. (2015 a)	443	-	-	4	-	-
	Carneiro et al. (2020)	1	100	-	-	100	-
Maranhão	Rocha et al. (2019)	105	-	-	30,4	5,7	-
Piauí	Mendonça et al.(2017)	83	4	4	-	-	-
Bahia	Santos et al. (2021)	90	4,4	-	-	7,8	-
Pernambuco	Silva et al. (2013)	153	-	3,9	-	-	-
	Morais et al.(2013)	5	-	-	-	80	-
	Berenguer et al.(2020)	128	0,7	-	-	0,7	-
Paraíba	Silva et al. (2020)	2	100	100	-	100	-
Rio Grande do Norte	Bezerra et al. (2019)	91	-	-	15,3	-	-
Minas Gerais	Passos et al. (1996)	1	-	-	-	100	-
	Silva et al. (2010)	1	-	-	100	100	-
	Coura et al. (2018)	100	-	-	54	-	-
	Costa-Val et al.(2020)	64	-	29,8	-	12,5	-
Rio de Janeiro	Schubach et al. (2004)	2	100	-	-	-	-
	Silva et al. (2008)	8	-	-	25	25	-
	Figueiredo et al.(2009)	1	100	100	100	-	-
Paraná	Matos et al. (2018)	679	-	43,4	15,8	-	-
Santa Catarina	Pedrassani et al.(2019)	30	-	-	6,6	-	-
Mato Grosso	Dahroug et al. (2010)	16	-	-	-	37,5	-
	Dahroug et al. (2011)	1	-	-	-	100	-
	Madruga et al. (2018)	1	100	-	-	100	-
	Headley et al. (2019)	2	100	-	-	-	-
Mato Grosso do Sul	Braga et al. (2014 ^a)	50	-	-	4,0	-	-
	Sousa et al. (2014)	151	-	-	6,6	-	-
	Metzdorf et al. (2017)	100	4,0	-	-	6,0	-
São Paulo	Bresciani et al. (2010)	283	0,7	-	-	-	-
	Coelho et al. (2011a)	52	3,8	-	-	3,8	-
	Coelho et al. (2011b)	70	-	4,2	-	-	-
	Vides et al. (2011)	55	18,2	25,4	10,9	100	-
	Neto et al. (2011)	113	-	11,5	-	-	-
	Sobrinho et al. (2012)	302	9,9	12,9	4,6	100	-
	Cardia et al. (2013)	386	-	-	0,5	-	-

Continuação: TABELA 1. Epidemiologia da infecção por *Leishmania* spp. em felinos domésticos no Brasil.

Estado	Autores	N amostral	% de Positivos				
			Parasitológico	ELISA	RIFI	PCR	qPCR
São Paulo	Braga et al. (2014b)	50	4,0	-	4,0	-	-
	Hirata (2015)	95	-	-	-	-	12,6
	Oliveira et al.(2015b)	52	-	-	-	13,5	-
	Benassi et al. (2017)	108	-	-	-	-	1,8
	Marcondes et al. (2018)	90	14	-	14	5,5	-
	Leonel et al. (2020)	94	-	31,9	-	-	-

A partir dos dados acima descritos, observa-se que apenas uma pequena fração desses estudos foi realizada na região Nordeste que abriga 58% de todos os casos notificados de leishmaniose visceral em humanos no Brasil, dos anos de 2015 a 2019 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Ainda de acordo com o Sistema de Agravos de Notificação (SINAN), o Maranhão, no período acima citado, teve 3.052 casos notificados, sendo 348 deles registrados no município de São Luís, capital do estado, o que torna esta região uma área de relevância epidemiológica para esta doença no país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020).

O único relato de leishmaniose em gatos no Maranhão, mais especificamente no município de São Luís, foi realizado por Rocha et al. (2019), no qual foram avaliados 105 gatos. O estudo obteve positividade em 32 (30,48%) felinos positivos por RIFI e 3 (2,86%) por PCR, em amostras de sangue e swab conjuntival, respectivamente. Dentre os fatores que contribuem para esse cenário estão o acúmulo de resíduos sólidos nos quintais das residências, ausência de coleta de lixo, livre acesso de gatos às ruas e coabitação com cães positivos para leishmaniose visceral, assim como, a intensa ação do homem atuando no desmatamento de áreas de floresta, gerando degradação ambiental dos ambientes silvestres, que facilita a transmissão de muitos patógenos para o ambiente urbano (DA COSTA et al., 2015; ROCHA et al., 2019).

Aspectos relacionados ao vetor tem sido relacionados ao aumento no número de casos de LF, incluindo a adaptação a novos hospedeiros e mudanças na fonte de alimentação de flebotomíneos devido ao uso generalizado de repelentes de insetos em cães como forma de prevenção (MAIA et al., 2010; ABBATE et al., 2020).

Estudos epidemiológicos sugerem que gatos que vivem em áreas endêmicas têm dados de risco de exposição e prevalência semelhantes a cães que habitam na mesma área, apesar de geralmente serem assintomáticos ou subclínicos (OTRANTO et al., 2017; IATTA et al., 2019).

O papel dos gatos no ciclo de transmissão da leishmaniose permanece controverso e tem sido amplamente negligenciado. Não se sabe se os mesmos servem como hospedeiros primários, secundários ou acidentais (MAIA e CAMPINO, 2011; PENNISI et al., 2015). No entanto, foi demonstrado experimentalmente a infecciosidade de felinos domésticos positivos para leishmaniose para flebotomíneos, por meio de xenodiagnóstico na Itália e no Brasil, respectivamente (MAROLI et al. 2007; DA SILVA et al. 2010; MENDONÇA et al, 2020), comprovando que os gatos podem ser um hospedeiro secundário para *L. infantum*.

Em 2020, foi realizado o primeiro estudo que comprovou a transmissão da leishmaniose visceral de um gato infectado por *Leishmania infantum* para um cão saudável. Após a realização do xenodiagnóstico no gato, as fêmeas de *Lutzomyia longipalpis* foram dissecadas para verificar a infecção por *Leishmania*, posteriormente os mosquitos infectados foram alimentados no cão. A infecção no canino foi comprovada por meio de exames clínicos, sorológicos, parasitológicos e moleculares. Com essas descobertas, evidenciou-se não apenas a possibilidade de infecção do vetor, mas também a transmissão para outro hospedeiro (cão) e possivelmente para outras espécies, incluindo humanos (BATISTA et al. 2020).

Mesmo com o número crescente de casos de FeL, tem-se poucos estudos sobre a quantidade de casos da infecção por *Leishmania* spp. em gatos no estado do Maranhão, como também um conhecimento limitado sobre os aspectos clínicos e parasitológicos da infecção em felinos domésticos (PENNISI et al., 2015a; SILVEIRA-NETO et al., 2015). Diante disso, o presente estudo objetivou avaliar o perfil clínico e parasitológico de gatos domésticos (*Felis catus domesticus*) naturalmente infectados por *Leishmania* spp. no município de São Luís- MA.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar os aspectos clínicos e parasitológicos de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp.

3.2 Específicos

- Identificar as principais alterações clínicas em gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp.
- Avaliar os parâmetros hematológicos e bioquímicos de animais positivos e negativos para leishmaniose felina.
- Quantificar a carga parasitária na medula óssea dos gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp.
- Verificar possíveis correlações entre a carga parasitária e sinais clínicos apresentados pelos gatos positivos para leishmaniose.

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ANIMAIS

Foram triados trinta e seis gatos (*Felis catus domesticus*) provenientes de atendimentos em Clínicas Veterinárias e no Hospital Veterinário “Francisco Edilberto Uchôa Lopes”, na cidade de São Luís-MA, dos quais vinte animais compuseram os grupos experimentais. Inicialmente foi explicado aos tutores/responsáveis pelos animais os objetivos do estudo e solicitado a assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Anexo A), em seguida realizada anamnese e exame clínico detalhado dos felinos, sendo os dados anotados em fichas individuais (Anexo B).

O experimento foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA) da Universidade Estadual do Maranhão, protocolo N° 24/2020 (Anexo C).

4.2 FORMAÇÃO DOS GRUPOS

O critério utilizado para formação dos grupos experimentais foi fundamentado na observação de formas amastigotas de *Leishmania* spp. no exame parasitológico direto e confirmação pela amplificação do DNA do parasito na medula óssea pela Reação em cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR). Os animais foram divididos em dois grupos: (GP) formado por dez animais positivos para leishmaniose, com ou sem sinais clínicos da doença, o segundo grupo (GC), corresponde ao grupo controle, foi composto com dez animais livres da infecção, confirmados pelo exame parasitológico direto e a qPCR da medula óssea, e clinicamente hígidos.

Além disso, adotou-se critérios de inclusão e exclusão em nosso estudo. Os animais deveriam ter peso acima de dois quilogramas e idade igual ou superior a seis meses, e como critérios de exclusão, os gatos que apresentaram um ou mais sinais clínicos sugestivos de alguma outra enfermidade, foram excluídos do grupo GC.

Para avaliação da correlação entre os sinais clínicos e a carga parasitária da medula óssea, os animais do grupo GP, foram divididos em três grupos: assintomáticos (sem presença de sinal clínico), oligossintomáticos (um a três sinais clínicos) e polissintomáticos (acima de três sinais clínicos), classificação de acordo com Mancianti et al. (1988).

4.3 COLETA E PREPARAÇÃO DE MATERIAL PARA ANÁLISE

4.3.1 Coleta e processamento das amostras

Foram coletados 5 mL de sangue de cada animal, por meio de punção da veia jugular externa, sendo 2 mL armazenados em tubos tipo “vacutainer” contendo anticoagulante Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético (EDTA), e 3 mL armazenados em tubos estéreis sem o anticoagulante (Figura 3).

FIGURA 3. Coleta de sangue em felino por punção em veia jugular externa. São Luís, MA. 2022.

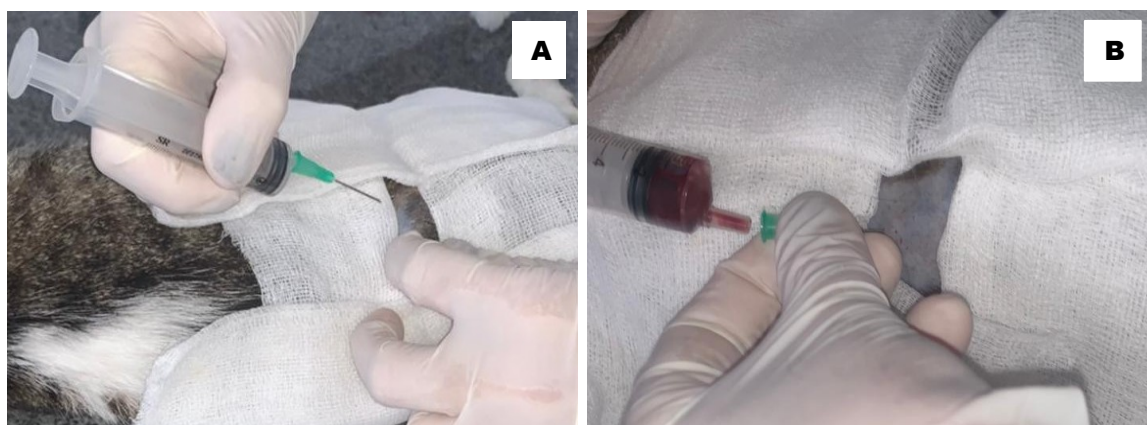


O material coletado foi acondicionado em caixas isotérmicas, as amostras de sangue armazenadas em tubos com EDTA foram encaminhadas ao Laboratório de Patologia Clínica da Universidade Estadual do Maranhão (UEMA), para determinação das séries vermelhas e brancas. Para avaliação do perfil bioquímico, as amostras sem anticoagulante foram centrifugadas a 3.200 g por 5 minutos (rpm), o soro foi separado e transferido para tubos de polipropileno tipo *eppendorfs* de 1,5 mL de capacidade. As alíquotas foram utilizadas para determinação das concentrações séricas de ureia, creatinina, proteína sérica total, albumina e as atividades séricas de alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST).

4.3.2 Punção Aspirativa dos Linfonodos e Médula Óssea

Após realização da medicação pré-anestésica (MPA) dos gatos, com acepromazina (dose: 0,05 mg/kg/IM) e meperidina (dose: 0,3 mg/kg/IM) e monitoração por dez minutos, realizou-se a indução anestésica com o uso de ketamina (dose: 5 mg/kg/IV) e diazepam (dose: 0,5 mg/kg/IV). Com o animal em plano anestésico, realizou-se tricotomia e antissepsia no local da coleta, procedeu-se com as citologias aspirativas dos linfonodos poplíteos, utilizando agulhas 25 mm x 0,7 mm acopladas com seringas de 10 mL, e da medula óssea na região da crista ilíaca, utilizando-se agulha 25 mm x 8 mm acoplada a seringa de 10 mL (Figura 4).

FIGURA 4 (A E B). Punção aspirativa de medula óssea em região de crista ilíaca de felino, proveniente de área endêmica para leishmaniose visceral canina e humana, São Luís-MA, 2022.



O material coletado dos linfonodos foi transferido para lâminas de vidro e utilizado para realização de esfregaços, para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp. Após secagem das lâminas a temperatura ambiente, as mesmas foram coradas com kit panótico rápido e visualizadas em microscópio óptico, na objetiva de aumento de 100x em óleo de imersão. Da mesma forma procedeu-se com a amostra coletada da medula óssea, sendo o restante do aspirado transferido para tubos contendo anticoagulante EDTA, e em seguida armazenados em freezer a temperatura de -20°C, para posterior pesquisa do DNA do parasita por meio da reação em cadeia da polimerase em tempo real (qPCR)

4.3.3 Citologia de Pele

Durante as coletas, os gatos sintomáticos, nos quais observou-se lesões nodulares ou ulcerativas, foram submetidos ao exame de citologia de pele ou de nódulo, sendo utilizadas as técnicas: de impressão direta com lâmina (imprint), escarificação (com uso de escova ginecológica), punção aspirativa com auxílio de agulha fina (PAAF) (Figura 5), 13 mm x 4,5 mm, e seringa de 5 mL. Escolheu-se a técnica que mais se adequasse a lesão observada. O material coletado foi transferido para lâminas de vidro, após secagem a temperatura ambiente, foram coradas com o kit panótico rápido, e realizada a leitura da lâmina em microscópio óptico, para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp.

FIGURA 5. Citologia de pele em lesão localizada em região torácica direita, utilizando técnica de escarificação com auxílio de escova ginecológica. São Luís-MA, 2022.



4.4 REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL QUANTITATIVA (qPCR)

4.4.1 Extração de DNA

As amostras dos aspirados de medula óssea armazenadas a -20°C, foram retiradas do freezer, mantidas por 10 minutos em temperatura ambiente para extração do DNA utilizando-se o kit comercial de extração NewGene Prep (Simbios Biotecnologia, Brasil), de acordo com as recomendações do fabricante.

4.4.2 Quantificação e Pureza do DNA das Amostras

O DNA extraído foi purificado utilizando o kit NewGene Preamp, seguindo as orientações do fabricante, após isso as amostras foram colocadas no espectrofotômetro (NanoDrop Lite, Nano-Drop Technologies®, Deleware, EUA) para quantificação e avaliação da qualidade do DNA das amostras. A proporção da absorbância utilizada foi de 260 a 280 nanômetro. O DNA foi considerado puro quando o valor da relação de absorbância encontrou-se próximo a 1.8 ng/μL. As amostras que não se enquadraram nesse valor foram descartadas do experimento. Após a purificação, as alíquotas foram armazenadas a -20°C até o momento da realização da qPCR.

4.4.3 qPCR das amostras de medula óssea

A qPCR para detecção do DNA do protozoário *Leishmania* spp. foi realizada em todas as amostras de MO dos gatos do estudo. Para tanto, foram utilizados os oligonucleotídeos iniciadores senso (5'-CCTATTTTACACCAACCCCCAGT-3') e anti-senso (5'-GGGTAGGGGCGTTCTGCGAAA-3'), obtendo-se ao final da reação a amplificação de um fragmento de DNA no tamanho de 121 pares de bases.

Para a reação de qPCR quantitativa foi utilizado o kit NewGene LVCamp (Simbios Biotecnologia, Brasil) em volume final de 30 μL, sendo 28 μL da solução Mastermix LVC (composta pela solução tampão, dNTP's, água, primers e sonda TaqMan®- FAM) adicionada da enzima Taq polimerase, e 2μL de cada amostra de DNA extraída da MO dos felinos. Como controles utilizou-se o NewGene LVCRefQ, incluso no kit, composto pelos reagentes PA (ponto de alta carga), PB (ponto de baixa carga) e CIQ (Controle Interno de Qualidade) (Tabela 2).

TABELA 2. Controles utilizados na Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR).

Controles	Equivalente genoma/mL	Leitura
PA	40.000	<i>Standards</i>
PB	400	<i>Standards</i>
CIQ	400 – 40.000	<i>Unknown</i>

Fonte: Simbios Biotecnologia

Para realização da técnica, procedeu-se com a retirada das amostras de DNA, já extraídas e o mastermix do congelador para a bancada de trabalho até alcançarem a temperatura ambiente. Retirou-se do freezer, a enzima Taq Polimerase e os frascos contendo os controles que foram utilizados na reação e armazenou-os em caixa isotérmica com gelo durante o uso. Prosseguiu-se com a limpeza da bancada com álcool 70% antes do início das atividades.

No tubo da solução mastermix adicionou-se 5 µL da enzima Taq polimerase, em seguida levou-se para centrifugar a 10.000 g por 30 segundos. Em seguida, aliquotou-se 28 µL da mistura e pipetou-se em cada um dos 24 poços da placapara qPCR. Em seguida, nos três primeiros poços e duas primeiras colunas da placa, adicionou-se 2 µL dos controles usados na reação, PA, SIQ e PB, respectivamente, em duplicata, seguindo a sequência dos poços aplicou-se 2 µL de cada amostra de DNA nas placas, verificou-se se havia a presença de bolhas, para então fechá-la e dar início a amplificação.

As reações de amplificação foram conduzidas no termociclador BIO-RAD CFX96™ Real-Time System (Berkeley, Califónia) com desnaturação inicial a 95°C por 3 minutos, 39 ciclos de desnaturação a 95°C por 15 segundos e anelamento a 60°C por 1 minuto. Os produtos da qPCR foram analisados com o programa específico do equipamento. A validação dos resultados da quantificação foram determinados pela observação do valor do índice de regressão (R^2), obtido a partir de quatro pontos de referência que apresentaram leitura (CT), ou seja, foram positivos na qPCR, utilizando-os como *Standard* no momento da leitura dos resultados no software. O valor de R^2 deve ser superior a 0,9 (Apêndice B).

4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram analisados e armazenados em planilhas no Microsoft Excel, em tabelas e/ou gráficos conforme o tipo de variável analisada. Foi calculado a média e desvio padrão dos resultados do perfil hematológico e bioquímico. A normalidade dos dados foi demonstrada pelo teste *Shapiro-Wilk*. Para avaliação dos parâmetros hematológicos e bioquímicos entre os grupos foi utilizado o teste qui-quadrado. Os testes de correlação de *Spearman* e o teste de *Mann-Whitney* foram utilizados para avaliar a intensidade de correlação entre a carga parasitária e os sinais clínicos dos animais, e comparar os grupos clínicos (oligossintomático e polissintomático),

respectivamente. Para execução dos testes estatísticos foi utilizado o apoio instrumental do software GraphPad Prism 9.0 (Prism Software, Irvine, CA, USA), considerando níveis de significância de 5%.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O presente estudo é o segundo realizado no estado do Maranhão, sendo o primeiro a utilizar a Reação em Cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para diagnóstico e quantificação de *Leishmania* spp. em gatos domésticos. O mesmo compreendeu a triagem de 36 gatos com idade igual ou superior a seis meses de idade, nos quais em 8,3% (3/36) observou-se formas amastigotas do parasito por meio do exame parasitológico direto, em amostras coletadas de pele e linfonodos, e 27, 7% (10/36) apresentaram DNA do protozoário na qPCR de MO.

Nosso estudo encontrou positividade superior, no exame parasitológico direto, se comparado com os resultados observados por Mendonça et al. (2017), que encontraram positividade de 4% (3/84) em lâminas coletadas de linfonodos poplíteos. Vides (2014) em seu experimento encontrou 7% (7/95) dos gatos positivos para leishmaniose em amostras de linfonodos e medula óssea.

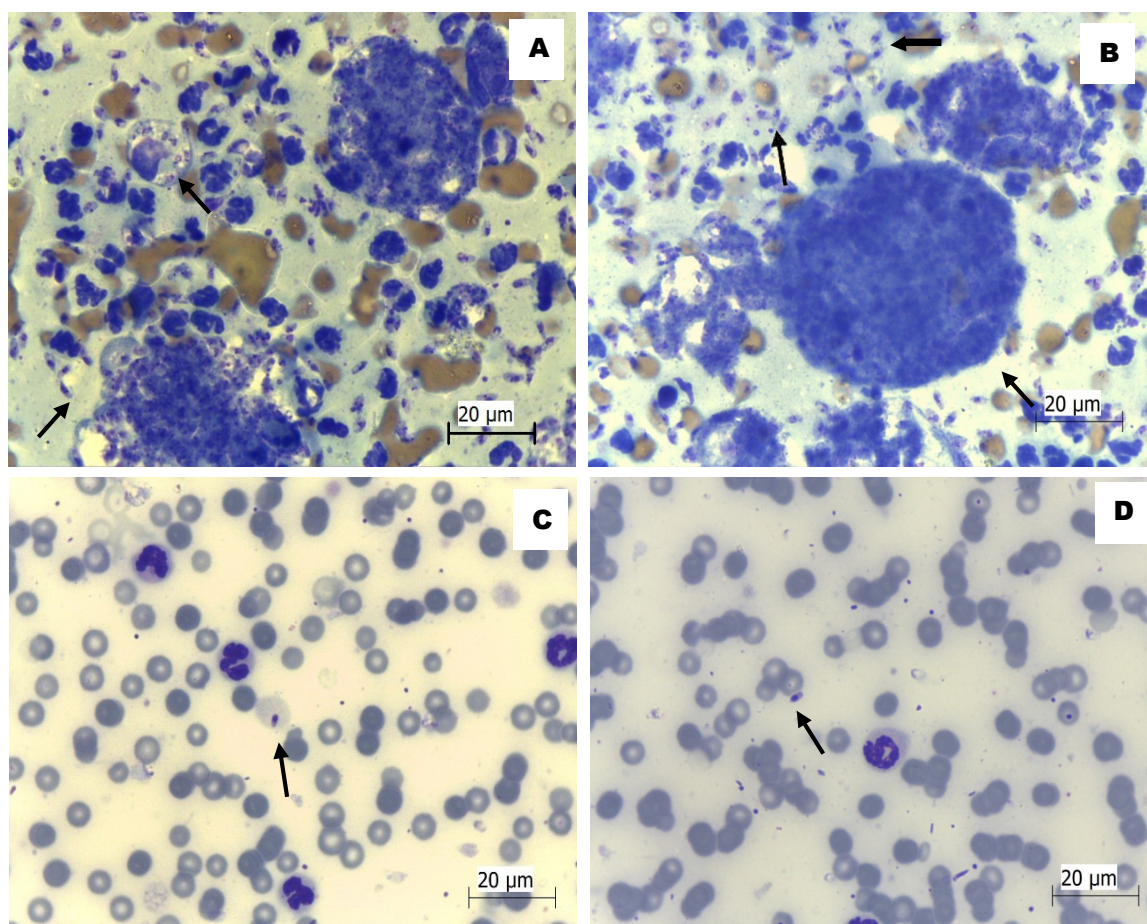
De posse desses resultados, os animais foram divididos em dois grupos: dez gatos positivos com ou sem sinais clínicos para leishmaniose felina (GP) e dez gatos no grupo controle (GC) negativos para a enfermidade em questão. Os dez felinos que compuseram o grupo infectado (GP) eram a maioria fêmeas 80% (8/10), com idade entre 6 meses e 11 anos de idade, 50% (5/10) eram castrados, todos domiciliados, sendo que 80% (8/10) habitavam em residências localizadas na área urbana do município de São Luís, coabitavam com outros animais (caninos e felinos), destes, quatro gatos 40% (4/10) conviviam com cães sabidamente positivos para leishmaniose visceral.

Entre as variáveis epidemiológicas supracitadas, a coabitação com cães com leishmaniose visceral foi mencionada em outros estudos como fator indicativo da presença da infecção por *Leishmania* spp. em gatos domésticos (ROCHA et al. 2019; MORELLI et al., 2020).

Em trinta por cento dos gatos do grupo GP observou-se a presença de formas amastigotas de *Leishmania* spp. em lâmina de microscopia (Figura 6 e 7). A região da orelha, coxins e linfonodos desses animais foram os locais onde observou-se a presença do parasito. O animal que apresentou maior parasitismo foi o que teve citologia coletada da

região das orelhas (Figura 6 A e B). Esse resultado assemelha-se ao observado por Alcântara (2019), onde dois felinos infectados com *Leishmania infantum* haviam apresentado carga parasitária média e alta em citologias dermatológicas da mesma região.

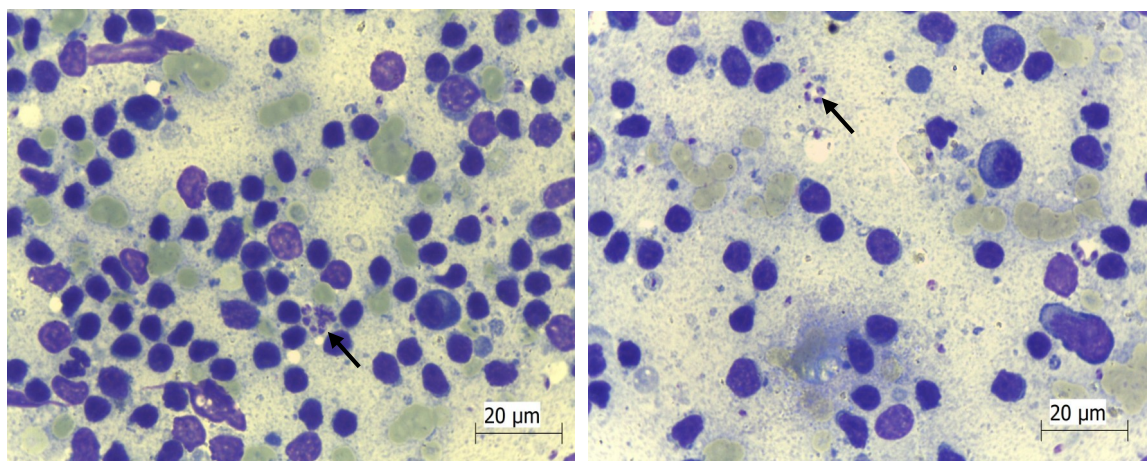
Figura 6. Fotomicrografia de esfregaços de lesões de pele em felinos naturalmente infectados com *Leishmania* spp., em A e B, formas amastigotas do parasito em fragmento de pele da orelha, apresentando alta carga parasitária. Em C e D – formas amastigotas do parasito em citologia coletada de lesões em coxins, observa-se na seta preta, a presença do protozoário. Objetiva 100x. Coloração Panótico Rápido®. São Luís-MA, Brasil, 2022.



Outras regiões utilizadas para coleta das citologias foram a medula óssea e linfonodos poplíteos dos animais, no entanto, encontrou-se a presença de *Leishmania* apenas no último (Figura 7). Nossos resultados assemelham-se ao estudo de Coura et al., (2018), no qual ao realizar exame parasitológico em MO de gatos para pesquisa de *Leishmania* spp, não observou a presença do protozoário em lâminas. A maioria dos estudos realizados com a utilização do método de observação direta do parasito para diagnóstico da leishmaniose em felinos, obtiveram resultados positivos

em esfregaços coletados da região dos linfonodos (METZDORF et al., 2017; BERENGUER et al., 2020; CARNEIRO et al., 2020; SANTOS et al., 2021). Dentre os órgãos linfoides, os linfonodos têm sido apontados como locais de coleta mais sensíveis para diagnóstico da leishmaniose em gatos.

FIGURA 7. Fotomicrografia de esfregaços de linfonodos poplíteos de gato naturalmente infectados com *Leishmania* spp. Nas setas formas amastigotas do parasita. Objetiva 100x. Coloração Panótico Rápido®. São Luís- MA, Brasil, 2022.



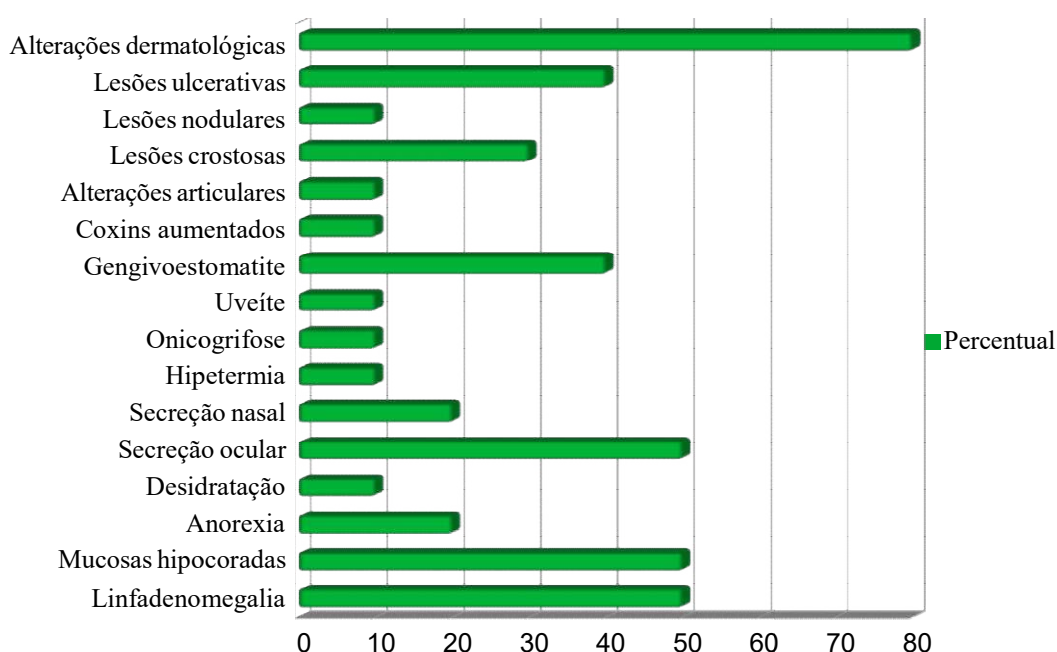
Em relação aos animais do grupo controle, esses possuíam entre seis meses e dois anos de idade, sendo 60% fêmeas (6/10) e 40% machos (4/10), sem raça definida, com teste negativo nos exames diagnósticos e clinicamente hígidos.

5.1 Sinais clínicos observados nos animais positivos para leishmaniose felina

Todos os animais examinados foram classificados como sintomáticos e assintomáticos, após a avaliação física. Cem por cento dos gatos positivos para leishmaniose apresentavam dois ou mais sinais clínicos. Similarmente, no experimento de Silva et al., (2019), todos os gatos pertencentes ao grupo de positivos para LF apresentaram uma ou múltiplas alterações no exame físico.

Os sinais clínicos mais observados em nosso estudo foram: alterações dermatológicas (80%), secreção ocular (50%), mucosas hipocoradas (50%), linfadenomegalia (50%), gengivoestomatite (40%), secreção nasal e anorexia (20%) (Figura 8).

FIGURA 8. Sinais clínicos apresentados por gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. São Luís, MA, Brasil, 2022.



As lesões cutâneas mais prevalentes foram as do tipo: ulcerativas e crostosas, com 40% e 30%, respectivamente (Figura 9). Em relação a localização, essas encontrava-se em região de cabeça, especificamente na extremidade das orelhas, no focinho e ao redor da boca, como também em membros anteriores e posteriores (Figura 9 A, B, C, D, E).

FIGURA 9. Alterações físico-clínicas em gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. **A e B** lesões em bordas e base de orelhas, **C e D**: aumento de volume em região de coxins e lesão localizada em região de dígitos de gato, **E**: lesão localizada em região peribulcal; **F**: gengivoestomatite, **G**: secreção ocular; **H**: uveíte em olho direito; **I**: mucosas oculares hipocoradas. São Luís-MA, Brasil, 2022.



Os sinais clínicos observados em nosso estudo são semelhantes aos relatados na revisão sistemática realizada por Abramo et al. (2021), que relataram lesões cutâneas como uma das principais alterações observadas em gatos com leishmaniose, e essas geralmente estão localizadas na cabeça, mais precisamente nas orelhas, pálpebras,

focinho e boca e nas partes distais dos membros anteriores e posteriores. Presume-se que as regiões de orelha externa, focinho, região periocular e plano nasal são mais afetados devido ao fato dos flebotomíneos terem predileção por áreas glabras, no momento do repasto sanguíneo (DA SILVEIRA-NETO et al, 2015).

Dentre os gatos do grupo GP, um deles apresentou hiperplasia na região dos coxins com presença de lesões ulceradas, esse sinal clínico ainda não havia sido observado em nenhum outro estudo realizado em animais com LF. Outros autores já relataram lesões ulceradas e nódulos localizados nos coxins (SOUZA et al., 2005; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020).

Entre as alterações não dermatológicas, as mais citadas na literatura que são similares as encontradas em nossa pesquisa foram: linfonodos hipertrofiados (BRIANTI et al., 2019; SILVA 2019; SANTOS et al., 2021), alterações oculares (uveíte e secreção ocular) (VERNEUIL, 2013; RICHTER et al., 2014; LEAL et al., 2018; PEREIRA et al., 2019c; PIMENTA et al., 2015) e gengivostomatite (VERNEUIL, 2013; MAIA et al., 2015; MIGLIAZZO et al., 2015; BEZERRA et al., 2019; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; SANTOS et al., 2021).

As alterações oculares e linfadenomegalia são achados frequentemente observados em gatos e cães positivos para leishmaniose. O último achado pode ser explicado pelo fato dos linfonodos funcionarem como “filtros” que interceptam os antígenos presentes na linfa, ou seja, durante a infecção por *Leishmania* spp. irão atuar na defesa do organismo do hospedeiro frente ao parasito (TIZARD, 2014).

Em relação aos sinais oculares, no estudo realizado por Pennisi et al., (2015), essas foram relatadas em aproximadamente um terço dos gatos afetados. Já a revisão de literatura realizada por Pereira e Maia (2021) constatou que um quarto dos animais com LF apresentava uveíte.

O quadro clínico variável e a presença desse grande número de sinais encontrados nos felinos domésticos que compuseram nosso estudo, ressaltam a importância da inclusão do diagnóstico diferencial para leishmaniose visceral em gatos que habitam em áreas endêmicas.

5.2 Perfil Hematológico e Bioquímico

Na análise hematológica dos grupos experimentais (Tabela 3), não observou-se alteração na média dos eritrócitos, nas concentrações de hemoglobina e nos valores de hematócrito do grupo GP como também nos animais livres da infecção pelo parasito. Ao avaliar individualmente esses parâmetros no grupo (GP), constatou-se que três animais 30% (3/10) estavam com quadro de anemia normocítica normocrômica.

Já no leucograma houve elevação da média dos leucócitos e neutrófilos no grupo dos gatos positivos para leishmaniose, nos apontando assim a presença de um processo infeccioso nesses animais. Além disso, observou-se que quatro felinos positivos 40% (4/10) apresentaram monocitose, enquanto nos felinos do GC não foram observadas alterações em monócitos, havendo assim diferença estatística entre os grupos analisados ($P < 0,05$).

A neutrofilia e a monocitose observada nos gatos do grupo GP pode estar relacionada as lesões de pele presentes nesses animais, pois as mesmas apresentavam-se com presença de processo infeccioso e inflamatório associado. Como se sabe, os monócitos participam da regulação da resposta inflamatória e desempenham função imunorreguladora na apresentação de antígenos aos linfócitos T (THRALL et al., 2015).

Ao avaliar a contagem de plaquetas, observou-se redução na média de ambos os grupos, sendo que oito gatos do grupo positivo (GP) e do grupo controle (GC) apresentaram trombocitopenia (Tabela 3). Similarmente, há relatos da redução na contagem de plaquetas em felinos positivos e sintomáticos para leishmaniose (RICHTER et al., 2014; PIMENTA et al., 2015; BASSO et al., 2016; PEREIRA et al., 2019).

TABELA 3. Média e Desvio padrão dos parâmetros hematológicos grupo de gatos positivos para leishmaniose (GP) e grupo controle (GC). São Luís, MA, Brasil, 2022.

Parâmetros (GP)	Gatos positivos $\bar{x} \pm \sigma$	Gatos negativos (GC) $\bar{x} \pm \sigma$	Referências*
Eritrócitos ($\times 10^6 \mu\text{L}$)	$6,5 \pm 1,97$	$6,9 \pm 1,78$	5,0-10,0
Hemoglobina g/dL	$12,6 \pm 6,38$	$10 \pm 1,73$	8-15
Hematócrito %	$33,1 \pm 8,73$	$34,1 \pm 8,9$	24-45
Leucócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	$20,8 \pm 7$	$8,7 \pm 4,37$	5,5-19,5
Neutrófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	$15 \pm 5,14$	$5,7 \pm 3,23$	2,5-12,5
Linfócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	$4,6 \pm 1,71$	$2,5 \pm 1,08$	1,5-7
Eosinófilos ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	$0,6 \pm 0,97$	$0,6 \pm 0,84$	0-0,75
Monócitos ($\times 10^3 \mu\text{L}$)	$0,4 \pm 0,5^a$	0 ± 0	0-0,85
Plaquetas (mm^3)	$132,7 \pm 92,24$	$201 \pm 124,10$	230-680

*Valores segundo SCHALM's Veterinary Hematology (2000). A letra a mostra a diferença estatística significativa ($P < 0,05$) em comparação com o grupo controle (GC).

Quanto a análise do perfil bioquímico para avaliação da função hepática, houve elevação na média da enzima alanina aminotransferase (ALT) nos gatos do grupo GP, no entanto apenas dois gatos positivos para LF apresentaram aumento nesse parâmetro. Devido a isso não podemos considerar como alteração significativa em nosso estudo (Tabela 4).

Na avaliação da função renal, a enzima ureia, apresentou diferença estatística significativa entre os grupos ($P < 0,05$). Segundo Pereira & Maia, (2021), a azotemia é frequentemente relatada nos casos de infecção por *Leishmania* spp. em gatos. Na pesquisa realizada por Navarro et al. (2010), observou-se a presença de infiltrado inflamatório intersticial formado por macrófagos, linfócitos e plasmócitos, como também

proteinúria tubular nos rins dos gatos com LFs, essas alterações podem ocasionar um quadro de disfunção renal.

No que se refere ao perfil de proteínas totais e frações, como albumina e globulina, considerou-se hiperproteinemia em 30% (3/10) dos felinos do GP, seguidos de hiperglobulinemia em 40% (4/10) e hipoalbuminemia em 30% (3/10) dos gatos. A relação Albumina/Globulina estava abaixo do valor de referência em 30% (3/10) dos animais avaliados. Resultados semelhantes foram encontrados no experimento realizado por Santos et al., (2021) em que observou-se elevação na dosagem de proteínas totais e globulinas. Segundo Chatzis et al., (2020), a hiperglobulinemia é um dos achados mais frequentes em felinos com leishmaniose.

TABELA 4. Média e Desvio padrão dos parâmetros bioquímicos do grupo de gatos positivos para leishmaniose (GP) e grupo controle (GC). São Luís, MA, Brasil, 2022

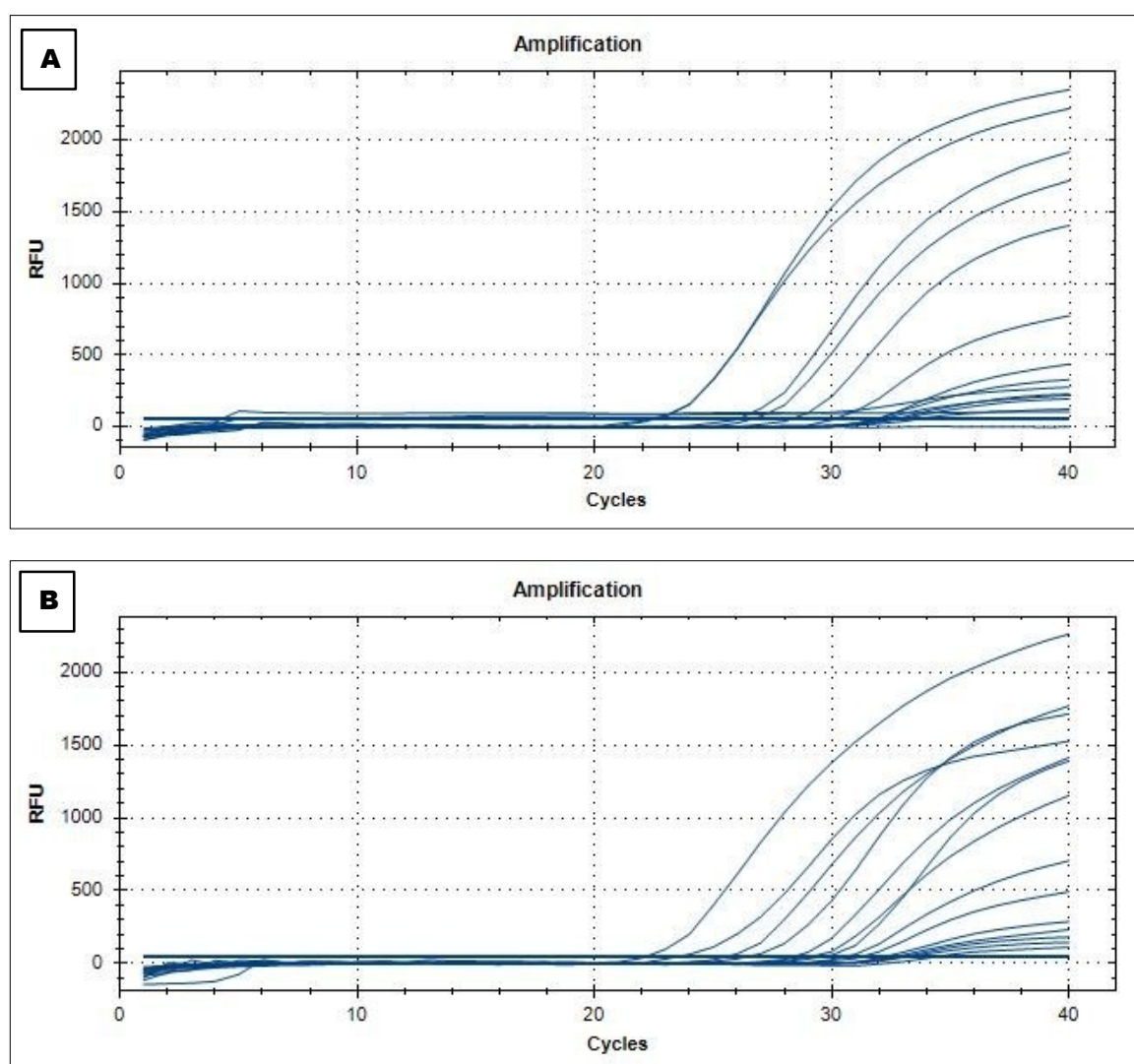
Parâmetros (GP)	Gatos positivos $\bar{x} \pm \sigma$	Gatos negativos (GC) $\bar{x} \pm \sigma$	Referências*
ALT (U/L)	79,48 $\pm$ 171,11	44 $\pm$ 23,56	10-50
AST (U/L)	37,69 $\pm$ 47,48	29 $\pm$ 15,3	10-88
Ureia (mg/dL)	45,41 $\pm$ 21,4 ^a	51,01 $\pm$ 16,47	42,8-64,2
Creatinina (mg/dL)	0,73 $\pm$ 0,69	0,6 $\pm$ 0,34	0,5-1,8
Proteínas totais (g/dL)	7,51 $\pm$ 1,45	7,2 $\pm$ 1,14	5,8-7,9
Albumina (g/dL)	2,4 $\pm$ 0,75	3,0 $\pm$ 0,86	1,9-3,8
Globulina (g/dL)	5,1 $\pm$ 1,51	4,2 $\pm$ 1,11	2,6-5,1
Relação A/G	0,5 $\pm$ 0,21	0,8 $\pm$ 0,3	0,4-1,1

*Valores segundo KANEKO, J. J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals (2008).

5.3 qPCR em Tempo Real das amostras de medula óssea

Na Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real quantitativa (qPCR), 27,7% (10/36) apresentaram DNA do protozoário *Leishmania* spp. na medula óssea, apresentando valores de Ct entre 22,13 e 34,18 (Figura 11).

FIGURA 10 A e B. Curva detecção para DNA de *Leishmania* spp. em amostras de medula óssea de gatos. Análise realizada pelo aparelho *BIO-RAD CFX96™* Real-Time System (Berkeley, Califônia). São Luís-MA, 2022.



Poucos estudos no Brasil utilizaram a técnica de qPCR para diagnóstico de leishmaniose em felinos (HIRATA, 2015; BENASSI et al., 2017). Hirata (2015), ao avaliar a presença de *Leishmania* spp. na medula óssea de gatos de uma área endêmica no estado de São Paulo, encontrou positividade de 12,6% (12/95) com o emprego da qPCR. Benassi et al. (2017), obteve 1,85% (2/108) dos felinos positivos para *Leishmania* spp. na qPCR de amostras de swab conjuntival. Ambos estudos obtiveram percentuais inferiores ao compararmos ao resultado encontrado em nosso experimento.

Nos dez felinos do grupo infectado houve a amplificação do DNA de *Leishmania* na medula óssea, entretanto, em sete (70%) destes animais não foi observada a presença de formas amastigotas do parasito no exame parasitológico direto do mesmo tecido. Diante do exposto, podemos afirmar que a qPCR é uma técnica que apresenta maior sensibilidade quando comparada ao exame parasitológico direto de órgãos linfoides.

Além disso, a Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real pode ser utilizada não somente para fins de diagnóstico, como também para o monitoramento dos gatos durante o tratamento, uma vez que é possível realizar a quantificação da carga parasitária apresentada por esses animais (ATTIPA et al., 2017)

Em relação a amostra utilizada para realização da qPCR, a medula óssea (MO) é um dos tecidos de predileção para realização do diagnóstico molecular, devido ao seu intenso parasitismo já demonstrado em estudos com cães e seres humanos com infecção ativa por *Leishmania* spp. (SOLCÀ et al., 2014; NORONHA et al., 2019).

Em gatos, foi demonstrado que MO é uma amostra apropriada para o diagnóstico de leishmaniose por PCR (CHATZIS et al., 2014; MARCONDES et al., 2018). Além disto, a realização da coleta de medula óssea sob correta sedação dos gatos causa menor impacto no bem-estar desses animais (WOODS et al., 2021).

5.4 Determinação da carga parasitária na medula óssea

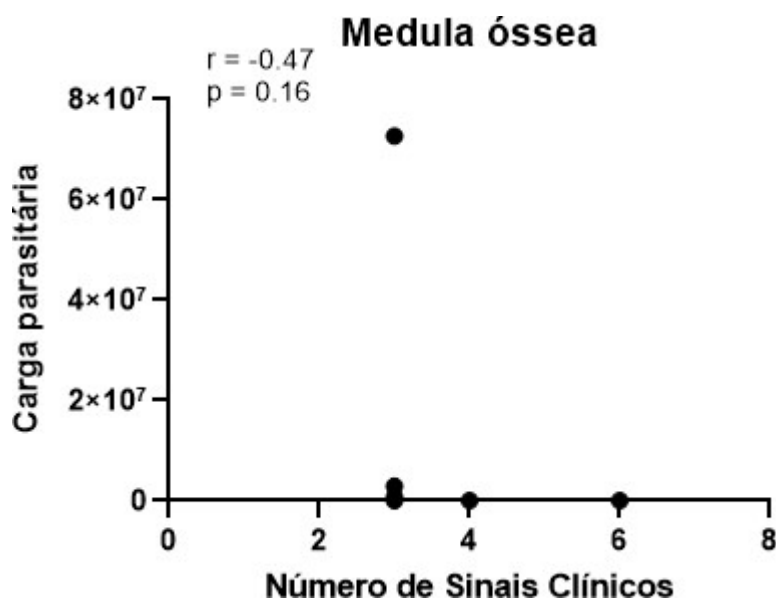
Os resultados individuais da carga parasitária na medula óssea dos dez gatos infectados por *Leishmania* spp. encontram-se apresentados na tabela 5. Houve variação de 11.050 a 72.680.000 cópias de parasitas/mL nos animais do nosso estudo.

Tabela 5. Carga parasitária da medula óssea de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. São Luís-MA, 2022.

CARGA PARASITÁRIA	
Gatos	parasitos/ mL
1	49.330
2	11.050
4	26.170
7	37.590
13	2.886.000
14	72.680.000
20	30.220
23	96.990
26	165.300
29	755.200

Ao se proceder o teste de correlação entre os sinais clínicos a carga parasitária encontrada na medula óssea, podemos observar que essa foi inversamente proporcional àquela ($r = -0.47$), ou seja, quanto maior a quantidade de parasitos na medula óssea, menos os sinais clínicos apresentaram os gatos positivos para leishmaniose. Não houve diferença estatística significativa entre as variáveis analisadas ($p > 0,05$) (Figura 11).

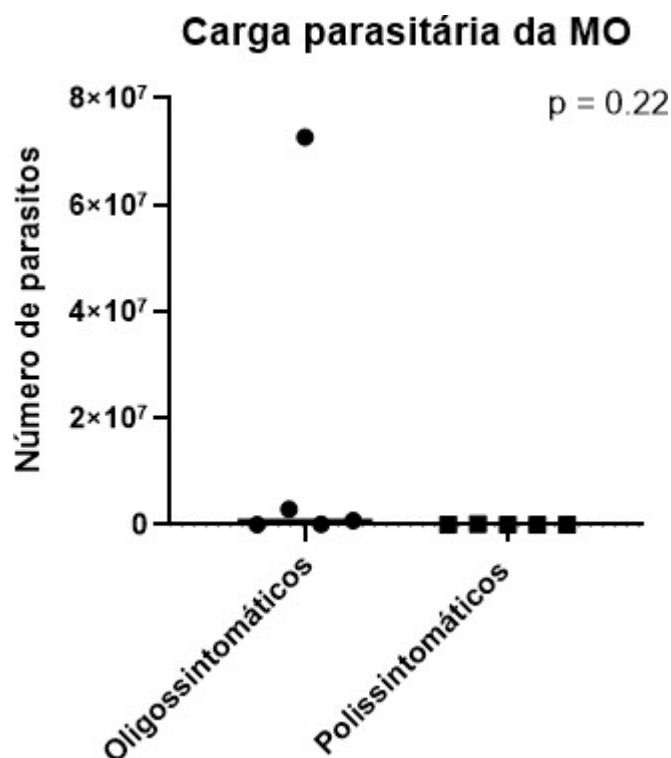
FIGURA 11. Correlação entre os sinais clínicos apresentados pelos gatos do grupo GP e a carga parasitária da medula óssea. São Luís-MA, 2022.



Nosso estudo foi o primeiro a avaliar a correlação entre a carga parasitária na MO e a sintomatologia clínica apresentada por animais positivos para leishmaniose felina. A literatura aponta que geralmente os gatos com a infecção por *Leishmania* spp. são assintomáticos, ou seja, mais resistentes ao desenvolvimento clínico da doença (PENNISI, 2010). Desta forma, pode-se inferir que apesar da elevada quantidade de parasitos presentes na MO, o sistema imunológico dos felinos é capaz de controlar as manifestações clínicas. No entanto, deve-se considerar também que os sinais clínicos apresentados podem estar relacionados a presença de coinfeções associadas.

Já ao correlacionar os grupos dos animais oligossintomáticos e polissintomáticos em relação a carga parasitária apresentada na MO, não houve diferença estatística significativa entre os grupos avaliados ($p>0,05$) (FIGURA 12).

FIGURA 12. Correlação entre os grupos dos animais oligossintomáticos e polissintomáticos com a carga parasitária da medula óssea dos gatos positivos para leishmaniose. São Luís- MA, 2022.



Em contraste ao resultado observado em nosso estudo, Ramos (2012), observou que os cães polissintomáticos para leishmaniose apresentaram carga parasitária mais elevada, quando comparado ao grupo de animais oligossintomáticos.

6. CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados, pode-se inferir:

- Foi constatada a presença do parasito *Leishmania* spp. infectando gatos domésticos no município de São Luís-MA.
- Todos os gatos positivos para leishmaniose foram sintomáticos, os sinais clínicos mais sugestivos da presença da infecção em felinos foram: lesões dermatológicas, linfadenomegalia e alterações oculares.
- Na avaliação hematológica e bioquímica, os gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. apresentaram monocitose e elevação da dosagem de ureia.
- A carga parasitária da medula óssea dos gatos positivos para leishmaniose foi considerada baixa a alta.
- Não houve correlação positiva entre a carga parasitária e a quantidade de sinais clínicos, no entanto observou-se que os animais com menor carga parasitária apresentaram mais sinais clínicos. Frente ao exposto, recomenda-se a realização do diagnóstico diferencial para descartar coinfecções associadas.
- Ressalta-se a importância da associação dos achados clínicos e parasitários para um melhor diagnóstico e prognóstico da leishmaniose em felinos, e sugerem-se mais estudos sobre a apresentação clínica e parasitária da doença em gatos que se encontram em diferentes estágios clínicos da infecção.

7. REFERÊNCIAS

ABBATE, J. M.; MAIA, C.; PEREIRA, A.; ARFUSO, F.; GAGLIO, G.; RIZZO, M.; CARACAPPA, G.; MARINO, G.; POLLMEIER, M.; GIANNETTO, S.; BRIANTI, E. Identification of trypanosomatids and blood feeding preferences of phlebotomine sand fly species common in Sicily, Southern Italy. **Public Library of Science**, vol.15, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0229536>>.

ABBAS, A. B.; LITCHMAN A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008, p. 564.

ABRAMO, F.; ALBANESE, F.; GATTUSO, S.; RANDONE, A.; FILECCIA, I.; DEDOLA, C.; IBBA, F.; OTTAIANO, P.; BRIANTI, E. Skin Lesions in Feline Leishmaniosis: A Systematic Review. **Patógenos**, vol. 13, p. 472, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.3390/patogenos10040472>>.

AKHOUNDI M, KUHLS K, CANNET A, VOTÝPKA J, MARTY P, DELAUNAY P, SERENO D. Uma visão geral histórica da Classificação, Evolução e Dispersão de Parasitas e Moscas-de-*Leishmania*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, 2016. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0004770>.

AKHTARDANESH, B.; KHEIRANDISH, R.; SHARIFI, I.; MOHAMMADI, A.; MOSTAFAVI, A.; MAHMOODI, T.; MAHMOODI T, EBRAHIMI M. Low susceptibility of domestic cats to experimental *Leishmania infantum* infection. **Journal of Vector Borne Diseases** 2018; 55(3): 230-234. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4103/0972-9062.249481>.

ALCÂNTARA, D. S. Potencial de transmissão, resposta inflamatória da pele e parasitismo de gatos com leishmaniose visceral. Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal-UFPI, 2019. Dissertação (Mestrado), 66 p.

ASFARAM, S.; FAKHAR, M. & TESHNIZI, S. H. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **Journal of Venomous Animals and Toxins Including Tropical Diseases**, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0012>.

ATTIPA, C.; PAPASOULIOTIS, K.; SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G.; NACHUM-BIALA, Y.; SAVANI, E.; KNOWLES, T.G.; MENGI, S.; MORRIS, D.; HELPS, C.; CARVER, S.; TASKER, S. Follow-up monitoring in a cat with leishmaniosis and coinfection with *Hepatozoon felis* and “*candidatus mycoplasma haemominutum*”. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, vol. 1, p. 6, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-018-2717-8>>.

AYLLON, T.; TESOURO, M. A.; AMUSATEGUI, I.; VILLAESCURA, A.; RODRIGUEZ-FRANCO, F.; SAINZ, A. Serologic and Molecular Evaluation of *Leishmania infantum* in Cats from Central Spain. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1149, p.361-364, 2008.

BANETH, G.; NACHUM-BIALA, Y.; ZUBERI, A.; ZIPORI-BARKI, N.; ORSHAN, L.; KLEINERMAN, G.; SHMUELI-GOLDIN, A.; BELLAICHE, M.; LESZKOWICZMAZUZ, M.; SALANT, H.; YASUR-LANDAU, D. *Leishmania* infection in cats and dogs housed together in an animal shelter reveals a higher parasite load in infected dogs despite a greater seroprevalence among cats. **Parasite Vectors**, vol. 13, p. 4–11. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/s13071-020-3989-3>>.

BARBOSA- SANTOS, E.G.O.; MARZOCHI, M.C.A.; CONCEIÇÃO, N.F.; SILVA, P.C.T.; SILVA, V.L. Vaccination and experimental infection of cats (*Felix domesticus*) with *Leishmania*. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.83, supl. 1 p.159, 1988.

BARNES, J. C.; STANLEY, O.; CRAIG, T, M. Diffuse cutaneous leishmaniasis in a cat. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 2020, n. 3, p. 416- 418, 1993. ISSN: 0003- 1488.

BASSO, M. A.; MARQUES, C.; SANTOS, M.; DUARTE, A.; et al. Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl glucamine antimoniat. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 2, n. 1, 2016.

BATISTA, J. F.; NETO, F. C. R. M.; LOPES, K. S. P. P.; SATO, M. O.; COSTA, C. H. N.; MENDONÇA, I. L. Transmission of *Leishmania infantum* from cats to dogs. **Brazilian Journal Veterinary Parasitology**, vol.29, p.42020. Disponível em:<<https://doi.org/10.1590/s1984-29612020099>>.

BARRAL, A.; COSTA, J. **Leishmanias e a Leishmaniose Tegumentar nas Américas**, cap. 14. p. 146-153, 2011.

BIER, O.; SILVA, W. D. & MOTA, I. **Imunologia Básica e Aplicada**. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2003. 388p.

BELKAID, Y.; PICCIRILLO, C. A.; MENDEZ, S.; SHEVACH, E. M. & SACKS, D. L. CD4+CD25+ regulatory T cells control *Leishmania major* persistence and immunity. **Nature**, v. 420, p. 502- 507, 2002. Disponível em: <<https://doi.org/10.1038/nature01152>>.

BENASSI, J. C.; BENVENGA, G. U.; FERREIRA, H. L.; PEREIRA, V. F.; KEID, L. B.; SOARES, R.; et al. Detection of *Leishmania infantum* DNA in conjunctival swabs of cats by quantitative real-time PCR. **Experimental Parasitology**, vol. 177, pag. 93-97, 2017.

BERENGUER, L. K. A. R.; GOMES, C. F. C. A.; NASCIMENTO, J. O.; BERNARDI, J. C. M.; LIMA, V. F. S.; OLIVEIRA, J. B.; RAMOS, C. A. N.; RAMOS, R. A. N.; ALVES, L. C. *Leishmania infantum* infection in a domestic cat: a real threat or an occasional finding?. **Acta Parasitology**, vol. 66, p. 673–676, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s11686-020-00294-z>>.

BEZERRA, J. A. B.; OLIVEIRA, I. V. P. M.; YAMAKAWA, A. C.; NILSSON, M. G.; TOMAZ, K. L. R.; OLIVEIRA, K. D. S.; et al. Serological and molecular investigation of *Leishmania* spp. infection in cats from an area endemic for canine and human leishmaniasis in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, Jaboticabal, v. 28, n. 4, p. 790-796, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1984-29612019082>>.

BONFANTE-GARRIDO, R.; BARROETA, S.; DE ALEJOS, M. A.; MELÉNDEZ, E.; TORREALBA, J.; VALDIVIA, O.; MOMEN, H.; GRIMALDI JÚNIOR, G. Disseminated American cutaneous leishmaniasis. **International Journal of Dermatology**, vol. 35, p. 561-565, 1996. Disponível em: <<https://doi.org/j.1365-4362.1996.tb03655.x>>.

BRADLEY, L. M. Migration and T-lymphocyte effector function. **Current Opinion in Immunology**, vol. 15, p. 343- 348, 2003. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(03\)00043-8](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(03)00043-8)>.

BRAGA, A. R. C.; CORRÊA, A. P. F. L.; CAMOSSI, L. G.; SILVA, R. C. D.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S. B. Coinfection by *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. in domestic cats (*Felis catus*) in State of Mato Grosso do Sul. **Revista Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 47, p. 796–797, 2014a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0037-8682-0041-2014>>.

BRAGA, A. R. C.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S. B. Evaluation of canine and feline leishmaniasis by the association of blood culture, immunofluorescent antibody test and polymerase chain reaction. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, vol. 20, p. 1–7, 2014b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1186/1678-9199-20-5>>.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Depto. de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**, 2014.

BRASIL. **Guia de Vigilância em Saúde** [recurso eletrônico]. Brasília: Ministério da Saúde, 2016. 773 p. Disponível em: <https://portalarquivos2.saude.gov.br/images/pdf/2016/novembro/18/Guia-LV-2016.pdf>. Acesso em: 20/06/2020.

BRIANTI, E.; FALSONE, L.; NAPOLI, E.; GAGLIO, G.; GIANNETTO, S.; PENNISI, M. G.; VITO PRIOLO, LATROFA, M. S.; TARALLO, V. D.; BASANO, F. S.; NAZZARI, R.; DEUSTER, K.; POLLMEIER, M.; GULOTTA, L.; COLELLA, V.; DANTAS-TORRES, F.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. Prevenção de leishmaniose felina com uma coleira de matriz polimérica com imidacloprida a 10%/flumetrina a 4,5%. **Parasites & Vectors**, vol. 10, p. 334. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13071-017-2258-6>>.

BRIANTI, E.; CELI, N.; NAPOLI, E.; ABBATE, J. M.; ARFUSO, F.; GAGLIO, G.; IATTA, R.; GIANNETTO, S.; GRAMICCIA, M.; OTRANTO, D. Tratamento e acompanhamento a longo prazo de um gato com leishmaniose. **Parasites & Vectors**, vol. 12, p.121, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13071-019-3388-9>>.

BRESCIANI, K.; SERRANO, A.; DE MATOS, L.; SAVANI, E. S. M. M.; D'AURIA, S. R. N.; PERRI, S. H. V.; BONELLO, F. L.; COELHO, W. M.; AOKI, C. G.; COSTA, A. J. Ocorrência de *Leishmania* spp em felinos do município de Araçatuba. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.4322/rbpv.01902012.20624352>>.

BRUMPT, E. Parasites animaux. **Précis de parasitologie II**. 6° ed. Paris: Masson et cie, 1949, p. 248-256.

CAMPRIGHER, V. M.; MATOS, A. M. R. N.; FERREIRA, F. P.; BATINA, P. N.; COSTA, S. C.; NAVARRO, I. T.; ZANUTTO, M. S. Ocorrência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em felinos em área endêmica do estado de São Paulo. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol.71, no.2, Belo Horizonte, Mar./Apr. 2019.

CARACAPPA, S.; MIGLIAZZO, A.; LUPO, T.; LO DICO, M.; CALDERONE, S.; REA, S.; CURRÒ, V.; VITALE, M. Analisi biomolecolari, sierologiche ed isolamento in un gatto infetto da *Leishmania* spp. In: PROCEEDINGS OF THE 7TH NATIONAL CONGRESS OF THE ITALIAN SOCIETY OF VETERINARY LABORATORY DIAGNOSTICS (SIDILV), **Anais Congresso Nazionale SIDiLV**, Messina: vol. 10, p. 134-135, 2008.

CARDIA, D. F. F.; CAMOSSO, L. G.; NETO, L. S.; LANGONI, H.; BRESCIANI, K. D. S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. infection in cats from Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol. 197, p. 634–637, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.017>>.

CARDOSO, L.; LOPES, A. P.; SHERRY, K.; SCHALLIG, H.; SOLANO-GALLEGO, L. Low seroprevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on DAT and ELISA. **Veterinary Parasitology**, 2010, 174: 37-42.

CARNEIRO, L. A.; DOS SANTOS, T. V.; LIMA, L. V. D. R.; RAMOS, P. K. S.; CAMPOS, M. B.; SILVEIRA, F. T. Primeiro relatório sobre leishmaniose felina causada pela *Leishmania* (*Leishmania*) na Amazônia no Brasil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. Vol. 19, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100360>>.

COELHO, W. M.; RICHINI-PEREIRA, V. B.; LANGONI, H.; BRESCIANI, K. D. Detecção molecular de *Leishmania* sp. em gatos (*Felis catus*) do Município de Andradina, Estado de São Paulo, Brasil. **Veterinary Parasitology**, vol. 176, p. 281- 282, 2011a. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.10.052>>.

COELHO, W. M. D.; AMARANTE, A. F. T.; APOLINÁRIO, J. C.; COELHO, N. M. D.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; BRESCIANI, K. D. S. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania* spp. infections and risk factors for cats from Brazil. **Parasitology Research**, vol. 109, p. 1009–1013, 2011b. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00436-011-2461>>.

COSTA-VAL, A. P.; COURA, F. M.; BARBIERI, J. M.; DINIZ, L.; SAMPAIO, A.; REIS, J. K. P.; BUENO, B. L.; GONTIJO, C. M. F. Serological study of feline leishmaniasis and molecular detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in cats (*Felis catus*). **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, vol. 29, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1984-29612020023>>.

COURA, F. M.; PASSOS, S. K. P.; PELEGRINO, M. O. F.; LEME, F. O. P.; PAZ, G. F.; GONTIJO, C. M. F.; COSTA-VAL, A. P. Serological, molecular, and microscopic detection of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, vol. 27, p. 570– 574, 2018. Disponível em: < <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180052>>.

COSTA, T.; ROSSI, C.; LAURENTI, M.; GOMES, A. A. D.; VIDES, J. P. S.; SOBRINHO, L. S. V.; MARY, M. Ocorrência de Leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 213-217, 2010. Disponível em:><https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2010.26858>>.

COSTA-DURÃO, J. F.; REBELO, E.; PELETEIRO, M. C.; CORREIA, J. M. J.; SIMÕES, G. Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal (Conselho de Sesimbra). Nota preliminar. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v. 89, n. 511, p. 140-144, 1994. ISSN: 00035-0389.

CHAMIZO, C.; MORENO, J.; ALVAR, J. Semi-quantitative analysis of cytokine expression in asymptomatic canine leishmaniasis. **Veterinary immunology and immunopathology**, v.103, p.67-75, 2005. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/J.VETIMM.2004.08.010>>.

CHATZIS, M. K.; ANDREADOU, M.; LEONTIDES, L.; KASABALIS, D.; MYLONAKIS, M.; KOUTINAS, A. F.; T. RALLIS, T.; IKONOMOPOULOS, J.; SARIDOMICHELAKIS, M. Cytological and molecular detection of *Leishmania infantum* in different tissues of clinically normal and sick cats. **Veterinary Parasitology**, vol. 202, p. 217–25, 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.02.044>>.

CRAIG, T. M.; BARTON, C. L.; MERCER, S. H.; DROLESLEY, B. E.; JONES, L. P. Dermal leishmaniasis in a Texas cat. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 35, n. 6, p. 1100-1102, 1986. ISSN: 0002-9637.

DA COSTA, A. P.; COSTA, F. B.; SOARES, H. S.; RAMIREZ, D. G.; MESQUITA, E. T.; GENNARI, S. M.; MARCILI, A. *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania infantum* *chagasi* Infection in Wild Mammals from Maranhão State, Brazil. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. Vol. 15, p. 656-666, 2015. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1089/vbz.2015.1771>>.

DAHROUG, M. A. A.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SOUSA, V. R. F.; DUTRA, V.; TURBINO, N. C.; NAKAZATO, L.; SOUZA R. L. *Leishmania (Leishmania) chagasi* in captive wild felids in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. Vol. 104, p. 73-74, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.trstmh.2009.08.003>>.

DAHROUG, M. A.; ALMEIDA, A. B. P. F.; SOUSA, V. R. F.; DUTRA, V.; GUIMARÃES, L. D.; SOARES, C.; NAKAZATO, L.; SOUZA, R. L. The first case report of *Leishmania (leishmania) chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, vol. 1, p. 249-250, 2011. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(11\)60036-1](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(11)60036-1)>.

DA SILVA, A. V.; DE SOUZA, C. C. D.; DE PITA, P. D.; BRAZIL, R. P.; CARREIRA, J. C. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, vol. 105, p. 92-94 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.09.001>>.

DA SILVA, S. M.; RABELO, P. F.; GONTIJO, N. F.; RIBEIRO, R. R.; MELO, M. N.; RIBEIRO, V. M.; et al. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol. 174, p.150-154 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.005>>.

DA SILVEIRA-NETO, L.; MARCONDES, M.; BILSLAND, E.; MATOS, L. V. S.; VIOL, M. A.; BRESCIANI, K. D. S. Clinical and epidemiological aspects of feline leishmaniasis in Brazil. **Semina: Ciênc Agrár**, 2015; 36(3): 1467-1480. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2015v36n3p1467>>.

DOS SANTOS, N. S.; PINHO, F. A.; HLAVAC, N. R. C.; NUNES, T. L.; ALMEIDA, N. R.; SOLCÀ, M. S.; VARJÃO, B. M.; PORTELA, R. W.; RUGANI, J. N.; RÊGO, F. D.; BARROUIN-MELO, S. M.; AND SOARES, R. P. Feline Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, vol 8, artigo734916. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734916>>.

DUNAN, S.; MARY, C.; GARBEL, L.; BRETON, Y.; OLIVON, B.; FERREY, P.; et al. A propos d'un cas de leishmaniose chez un chat de la region Marseillaise. **Bulletin de la Société Française de Parasitologie**, v. 7, n.1, p. 17-20, 1989. ISSN: 1169-7970.

ENNAS, F.; CALDERONE, S.; CAPRÌ, A.; PENNISI, M. G. Un caso di leishmaniosi felina in Sardegna. **Veterinaria**, v. 26, n. 2, p. 55-59, 2012. ISSN: 0394- 3151.

FELDMAN, B. F.; ZINKL, J. G.; JAIN, N. C. **Hematologia Veterinária de Schalm**. 5ª Edição, Lippincott Williams & Wilkins, 1120-1124, 2000.

FERNANDEZ-GALLEGO, A.; BERNABE, F. L.; DALMAU, A.; ESTEBAN-SALTIVERI, D.; FONTE, A.; LEIVA, M.; ORTUÑEZ-NAVARRO, A.; PEÑA, M. T.; TABAR, M. D.; REAL-SAMPIETRO, L.; SALÓ, F.; LLORET, A.; BARDAGÍ, M. Feline leishmaniosis: diagnosis, treatment and outcome in 16 cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, vol. 22, p. 993-1007, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1098612X20902865>>.

FIGUEIREDO, F. B.; PEREIRA, S. A.; GREMIÃO, I. D. F.; NASCIMENTO, L. D.; MADEIRA, M. F.; SCHUBACH T. M. P. Leishmaniose tegumentar americana em felino doméstico no município do Rio de Janeiro, Brasil – Relato de caso. **Clínica Veterinária**, 2008.

FREITAS, J. C. C.; PINHEIRO, D. C. S. N. Aspectos celulares e moleculares da resposta imunitária a *Leishmania* spp Cellular and molecular aspects of immune response to *Leishmania* spp. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, vol. 105, p. 573-576. 2010.

FREITAS, J. C. C.; NUNES- PINHEIRO, D. C. S.; LOPES-NETO, B. E. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania* spp. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 45, p. 24-29, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0037-86822012000100006>>.

GALLUZZI, L.; CECCARELLI, M.; DIOTALLEVI, A.; MENOTTA, M.; MAGNANI, M. Real-time PCR applications for diagnosis of leishmaniasis. **Parasite & Vectors**, vol. 11, p. 273. Disponível em: <<http://dx.doi.10.1186/s13071-018-2859-8>>.

GALVIS-OVALLOS, F.; SILVA, M. D.; BISPO, G. B.; OLIVEIRA, A. G.; NETO, J. R.; MALAFRONTA, R. D.; GALATI, E. A. Leishmaniose visceral canina na região metropolitana de São Paulo: *Pintomyia fischeri* como potencial vetor de *Leishmania infantum*. **Parasite**. 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1051/parasita/2017002>>.

GRAMICCIA, M.; MANCIANTI, F.; LUDOVISI, A.; LEVA, S.; GUIDI, G.; POLI, A. *Leishmania infantum* identification from feline leishmaniasis in Italy (abstract). **Parassitologia**, v. 44, n.1, p. 84, 2002.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. O estado atual das leishmanioses zoonóticas e abordagens ao controle da doença. **International Journal for Parasitology**, vol. 35, p. 1169-1180, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.ijpara.2005.07.001>. 16162348>.

GREVOT, A.; JAUSSAUD HUGUES, P.; MARTY, P.; PRATLONG, F.; OZON, C.; HAAS, P.; Breton, C.; Bourdoiseau, G. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v. 12, n.3, p.271-275, 2005. Disponível em <<https://doi.org/10.1051/parasite/2005123271>>.

HIRATA, K. Y. Expressão gênica de interferon gama, fator de necrose tumoral alfa e interleucinas 2 e 5 no baço de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. Faculdade de Medicina Veterinária, Araçatuba- UNESP, 2015. Dissertação de Mestrado, 83 p.

HEADLEY, S. A.; PIMENTEL, L. A.; AMORIM, I. F. G.; AMUDE, A. M.; VIANA, N. E.; MURARO, L. S.; TAFURI, W. L.; SANTOS, M. D. Immunohistochemical characterization of cutaneous leishmaniasis in cats from centralwest Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, vol. 17, p. 100290, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100290>>.

HERVÁS, J.; DE LARA, F. C. M.; SÁNCHEZ- ISARRIA, M. A.; PELLICER, M. S.; CARRASCO, L.; CASTILLO, J. A.; CASTILLO, J. A.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C. Two cases of feline visceral and cutaneous leishmaniosis in Spain. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 1, n.2, p. 101-105, 1999. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S1098-612X\(99\)00066-9](https://doi.org/10.1016/S1098-612X(99)00066-9)>.

HERVÁS, J.; DE LARA, F. C. M.; LÓPEZ, J.; MORENO, A.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; GUERRERO, M. J. Granulomatous (pseudotumoral) iridocyclitis associated with leishmaniasis in a cat. **Veterinary Record**, v. 149, n. 20, p. 624- 625, 2001. Disponível em: <<https://doi.org/10.1136/vr.149.20.624>>.

HOSEIN, S.; BLAKE, D. P.; SOLANO- GALLEGO, L. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. **Parasitology**. Vol. 144, p. 95-115, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1017/S003118201600055X>>.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária**. Elsevier, Rio de Janeiro, 9º ed., 2014, p.

IATTA, R.; FURLANELLO, T.; COLELLA, V.; TARALLO, V.D.; LATROFA, M.S.; BRIANTI, E.; TREROTOLI, P.; DECARO, N.; LORUSSO, E.; SCHUNACK, B.; GUADALUPE MIRÒ, G.; DANTAS-TORRES, F. A nationwide survey of *Leishmania infantum* infection in cats and associated risk factors in Italy. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, vol. 15, 2019. Disponível em: <[https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007594](https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007594)>.

JARAMILLO, T. M. G. Caracterização celular e imunológica da interação células dendríticas- *Leishmania braziliensis*. Programa de Pós-graduação em Patologia Molecular- UNB, 2014. Dissertação de mestrado, 127p.

KANEKO, J.; HARVEY, J.; BRUSS, M. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals**. Edition – 6th, July 28, 2008.

KAYE, P., e SCOTT, P. Leishmaniasis: complexity at the host – pathogen interface. **Nature Publishing Group**, vol. 9, p. 604-615, 2011. Disponível em: <Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro2608>>.

LAURELLE- MAGALON, C.; TOGA, I. Un cas leishmaniose felina. **Pratique de l'Animal de Compagnie**, v. 31, n.3, p. 255-261, 1996. ISSN: 0758-1882.

LASKAY, T.; VAN ZANDBERGEN, G. & SOLBACH, W. Neutrophil granulocytes – Trojan horses for *Leishmania major* e outros micróbios intracelulares? **Trends Microbiology**, vol. 11, p. 210-214, 2003. Disponível em: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x\(03\)00075-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0966-842x(03)00075-1)>.

LEAL, R. O.; PEREIRA, H.; CARTAXEIRO, C.; DELGADO, E.; PELETEIRO, M. C.; PEREIRA DA FONSECA, I. Granulomatous rhinitis secondary to feline leishmaniasis: report of an unusual presentation and therapeutic complications. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports** vol. 4, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/2055116918811374>>.

LEIVA, M.; LLORET, A.; PEÑA, T.; ROURA, X. Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat. **Veterinary Ophthalmology**, v.8, n.1, p 71-75, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1111/j.1463-5224.2005.00342.x>>.

LEONEL, J. A. F.; VIOTI, G.; ALVES, M. L.; BENASSI, J. C.; SILVA, D. T.; SPADA, J. C. P.; RUIZ, V. L. A. R.; STARKE-BUZETTI, W. A.; SOARES, R. M.; OLIVEIRA, T. M. F. Leishmaniasis in cat shelters: A serological, molecular and entomological study. **Transboundary and Emerging Diseases**, vol. 67, pág. 2013-2019, 2020. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/tbed.13544>>.

LONGONI, S.; LÓPEZ-CEPESDES, A.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; BOLIO-GONZALEZ, M. E.; SAURI-ARCEO, C. H.; RODRIGUEZ-VIVAS, R. I.; MARÍN, C. Detection of different *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, vol. 35, p.469-476, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.cimid.2012.04.003>>.

MANCIANTI, F.; GRAMICCIA, M.; GRADONI L.; PIERI S. Studies on canine leishmaniasis control: evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. **Transactions of the Royal Society Tropical Medical Hygiene**, vol.82, p. 566-567, 1988.

MATOS, A. M. R. N.; CALDART, E. T.; FERREIRA, F. P.; MONTEIRO, K. C.; SOUZA, M.; BRUNIERI, D. T. S. C.; HILST, C. L. S.; MASCARENHAS, N. M. F.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; FREIRE, R. L.; NAVARRO, I. T. Antibodies anti-trypanosomatides in domestic cats in Paraná: who is at highest risk of infection? **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 27, p. 232-236, 2018. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180033>

MARCONDES, M.; HIRATA, K. Y.; VIDES, J. P.; SOBRINHO, L. S. V.; AZEVEDO, J. S.; VIEIRA, T. S. W. J.; VIEIRA, R. F. C. Infecção por *Mycoplasma* spp., vírus de imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina em gatos de uma área endêmica para leishmaniose visceral. **Parasitas & Vetores**. vol. 11, p. 131, 2018. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1186/s13071-018-2716-9>>.

MAIA, C.; GOMES, J.; CRISTÓVÃO, J.; NUNES, M.; MARTINS, A.; REBÊLO, E.; CAMPINO, L. M. G. Feline *Leishmania* infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. **Veterinary Parasitology**, 2010, 174: 336-340.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? **Trends Parasitol**, vol. 27, p. 341-344, 2011.

MAIA, C.; SOUSA, C.; RAMOS, C.; CRISTÓVÃO, J. M.; FAÍSCA, P.; CAMPINO, L. First case of feline leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* genotype E in a cat with a concurrent nasal squamous cell carcinoma. domestic cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**. 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/2055116915593969d77bf5f>>.

MARCOS, R.; SANTOS, M.; MALHÃO, F.; PEREIRA, R.; FERNANDES, A. C.; MONTENEGRO, L.; ROCCABIANCA, P. Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n.2, p. 201-205, 2009. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1939-1652.2009>>.

MAROLI, M.; PENNISI, M. G.; DI MUCCIO, T.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, vol. 145, p. 357-360, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.11.009>>.

MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; ACEDO, C.; MUHOZ-PÉREZ, M.; Pesson, B.; Marchal, O.; Morillas-Márquez, F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: epidemiological study in Spain. **Veterinary Parasitology**, vol. 145, p. 267-273, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/J.VETPAR.2006.11.005>>.

MARTINS, I. V. F. **Parasitologia veterinária [recurso eletrônico]**. 2. ed. - Vitória: EDUFES, 2019. 320 p. 192. Disponível em: http://repositorio.ufes.br/bitstream/10/11421/1/parasitologia-veterinaria_livro-digital.pdf. Acesso em: 21/10/2021.

MADRUGA, G.; RIBEIRO, A. P.; RUIZ, T.; SOUSA, V. R. F.; CAMPOS, C. G.; ALMEIDA, A. B. P. F.; PESCADOR, C. A.; DUTRA, V. Ocular manifestations of leishmaniasis in a cat: first case report from Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, vol. 70, p. 1514-1520, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-4162-9244>>.

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

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Leishmaniose visceral-casos confirmados notificados no Sistema de Informação de Agravos de Notificação-Brasil (2020)**. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/tabcgi.exe?sinanet/cnv/leishvbr.def>. Acesso em: 29/10/2021.

MENDONÇA, I. L.; BATISTA, J. F.; RIBEIRO, I. M. M.; ROCHA, F. S. B.; SILVA, S. O.; MELO, M. N. *Leishmania infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. **Parasitology Open**, v. 3, 1 ed.; p. 1-8, 2017. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1017/pao.2017.1>>.

MENDONÇA, I. L.; BATISTA, J. F.; LOPES, K. S. P. D. P.; MAGALHÃES NETO, F. D. C. R.; ALCÂNTARA, D. S.; MERIGUETI, Y. F. F. B.; COSTA, C. H. N. Infecção de *Lutzomyia longipalpis* em gatos infectados com *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, vol. 180, p.109058, 2020. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109058>>.

METZDORF I. P.; JUNIOR, M. S. C. L.; MATOS, M. F. C.; FILHO, A. F. S.; TSUJISAKI, R. A. S.; FRANCO, K. G. Shapiro, J. T.; Almeida-Borges, F. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, vol. 166, p. 121–125, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.013>>.

MIGLIAZZO, A.; VITALE, F.; CALDERONE, S.; PULEIO, P.; BINANTI, D.; ABRAMO, F. Feline leishmaniosis: a case with a high parasitic burden. **Veterinary dermatology**, vol.26, p. 69-70, 2015. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vde.12180>.

MORAIS, R. C. S.; GONÇALVES, S. C.; COSTA, P. L.; SILVA, K. G.; SILVA, F. J.; SILVA, R. P.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P.; DANTAS-TORRES, F.; PAIVA-CAVALCANTI, M. Detection of *Leishmania infantum* in animals and their ectoparasites by conventional PCR and real time PCR. **Experimental and Applied Acarology**, vol 59, p. 473–481, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s10493-012-9611-4>>.

MORELLI, S.; COLOMBO, M.; DIMZAS, D.; BARLAAM, A.; TRAVERSA, D.; DI CESARE, A.; RUSSI, I.; SPOLETINI, R.; PAOLETTI, B.; DIAKOU, A. *Leishmania infantum* Seroprevalence in Cats From Touristic Areas of Italy and Greece. **Frontiers in Veterinary Science**, vol. 7, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fvets.2020.616566>>.

MULLER, K.; VAN ZANDBERGEN, G.; HANSEN, B.; LAUFS, H.; JAHNKE, N.; SOLBACH, W.; et al. Chemokines, natural killer cells and granulocytes in the early course of *Leishmania major* infection in mice. **Medical microbiology and immunology**, vol. 190, p. 73-76, 2001.

NASCIMENTO, L. F. J.; CIRILO, T. M.; GOMES, D. S.; GOMES, A. C. A.; LIMA, V. F. S.; · SCHER, R.; JAIN, S.; FUJIWARA, R. T.; DOLABELLA, S. S. Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. **Parasitology Research**, vol.121, p. 21–34, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>>.

NAVARRO, J. A.; SÁNCHEZ, J.; PEÑAFIEL-VERDÚ, C.; BUENDÍA, A. J.; ALTIMIRA, J.; VILAFRANCA, M. Histopathological lesions in 15 cats with leishmaniosis. **Journal of Comparative Pathology**, vol. 143, p. 297-302, 2010. Disponível em:<<https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2010.03.003>>.

NETO, L. S.; SOBRINHO, L. S. V.; MARTINS, C. O.; MACHADO, R. Z.; MARCONDES, M.; LIMA, V. M. F. Use of crude, FML and rK39 antigens in ELISA to detect anti-*Leishmania* spp. antibodies in *Felis catus*. **Veterinary Parasitology**, vol. 177, p. 374–377, 2011. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.055>>.

NOÉ, P.; BABO-TERRA, V. J. Leishmaniose Felina- revisão de literatura. **Revista Clínica Veterinária Brasileira**, ano XXI, n.122, p. 122, p. 56-68, 2016.

NORONHA, T. R.; FOCK, R. A. Hematology, transfusion and cell therapy images in clinical hematology visceral leishmaniasis: amastigotes in the bone marrow. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, vol. 41, p. 99–100, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.htct.2018.06.003>>.

OLIVEIRA, F.; JOCHIM, R. C.; VALENZUELA, J. G.; KAMHAWI, S. Sand flies, *Leishmania*, and transcriptome-borne solutions. **Parasitology international**, vol. 58, p. 1–5, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.parint.2008.07.004>>.

OLIVEIRA, C. I. & BRODSKYN, C. I. The immunobiology of *Leishmania braziliensis* infection. **Frontiers in immunology**, v. 145, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fimmu.2012.00145>>.

OLIVEIRA, G. C.; PAIZ, L. M.; MENOZZI, B. D.; LIMA, M. S.; MORAES, C. C. G.; LANGONI, H. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Revista Brasileira Parasitologia Veterinária**, vol.24, p. 464–470, 2015a. Disponível em: <<https://doi.org/https://doi.org/10.1590/S1984-29612015071>>.

OLIVEIRA, T. M. F. S.; PEREIRA, V. F.; BENVENGA, G. U.; MARTIN, M. F. A.; BENASSI, J. C.; SILVA, D. T. Conjunctival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 24, n. 2, p. 220–222, 2015b. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015016>>.

OTRANTO, D.; NAPOLI, E.; LATROFA, M. S.; ANNOSCIA, G.; TARALLO, V. D.; GRECO, G.; LORUSSO, E.; GULOTTA, L.; FALSONE, L.; BASANO, F. S.; PENNISI, M. G.; DEUSTER, K.; CAPELLI, G.; DANTAS-TORRES, F.; BRIANTI, E. Feline and canine leishmaniosis and other vector-borne diseases in the Aeolian Islands: pathogen and vector circulation in a confined environment. **Veterinary Parasitology**, vol. 236, pag. 144–151, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.019>>.

OZON C., MARTY, P., PRATLONG F., BRETON C., BLEIN M., LELIEVRE A., HAAS, P. Disseminated feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in southern France. **Veterinary Parasitology**, v.75 (2-3), p.273–277, 1998.

PADUA, E. D. Pesquisa de imunoglobulinas anti-*Leishmania* spp. e avaliação clínica de gatos residentes em áreas endêmicas do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária (Patologia e Ciências Clínicas)- UFRJ, 2017. Dissertação de Mestrado, 67 p.

PALTRINIERI, S.; SOLANO-GALLEGU, L.; FONDATI, A.; LUBAS, G. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, n. 11, p. 1184-1191, 2010.

PAPADOGIANNAKIS, E. I.; KOUTINAS, A. F. Cutaneous immune mechanisms in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, vol. 163, p. 94-102, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2014.11.011>>.

PASSOS, V. M. A.; LASMAR, E. B.; GONTIJO, C. M. F.; FERNANDES, O.; DEGRAVE, W. Natural infection of a domestic cat (*Felis domesticus*) with *Leishmania (Viannia)* in the metropolitan region of Belo Horizonte, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 91, n. 1. p. 19- 20,1996. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0074-02761996000100003>>.

PEDRASSANI, D.; RODRIGUES, D. G.; DOS SANTOS, R. C.; ANDREJOW, A. P.; FIGUEIREDO, F. B. Detecção sorológica de anticorpos anti-*Leishmania infantum chagasi* em cães atendidos em hospital veterinário escola. **Saúde e Meio Ambiente: Revista Interdisciplinar**, vol. 8, p. 193–206. Disponível em: <<https://doi.org/10.24302/sma.v8i0.2148>>.

PENNISI, M. G.; VENZA, M.; REALE, S.; VITALE, F.; GIUDICE, S. L. Case report of leishmaniasis in four cats. **Veterinary Research Communications**, v. 28, n. 1, p. 363-366, 2004. ISSN: 0165- 7380.

PENNISI, M. G. Feline leishmaniosis from A to Z. In PROCEEDINGS OF THE 2ND SCIVAC INTERNATIONAL CONGRESS ON CANINE LEISHMANIOSIS. Pisa, Italy: 2010, p. 71–76

PENNISI M. G.; LUPO, T.; MALARA, D.; MASUCCI, M.; MIGLIAZZO, A.; LOMBARDO, G. Serological and molecular prevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from Southern Italy. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, vol. 14, p. 656-657, 2012.

PENNISI, M. G.; LUPO, T.; MIGLIAZZO, A.; PERSICHETTI, M. F.; MASUCCI, M.; VITALE, F. Feline leishmaniosis in Italy: retrospective evaluation of 24 clinical cases. In: ABSTRACT BOOK OF THE 5TH WORLD CONGRESS ON LEISHMANIASIS. Porto de Galinhas; 2013. Pag. 837.

PENNISI, M. G. Leishmaniosis of companion animals in Europe: an update. **Veterinary Parasitology**, ed, 1-2, p. 35-47, 2015. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.023>](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.12.023).

PENNISI, M.-G., CARDOSO, L., BANETH, G., BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Atualização do LeishVet e recomendações sobre leishmaniose felina. **Parasites Vectors**, vol. 8, p. 302, 2015a. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-015-0909-z>.

PENNISI, M. G.; PERSICHETTI, M. F. Feline leishmaniosis: is the cat a small dog? **Veterinary Parasitology**, vol. 251, p. 131–137, 2018. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1016/j.Vetpar.2018.01.012>](https://doi.org/10.1016/j.Vetpar.2018.01.012).

PENNISI, M. G.; CARDOSO, L.; BANETH, B.; BOURDEAU, P.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, 2015. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0909-z>](https://doi.org/10.1186/s13071-015-0909-z).

PEREIRA, A.; VALENTE, J.; PARREIRA, R.; CRISTOVÃO, J. M. J. M.; AZINHEIRA, S.; CAMPINO, L.; MAIA, C. An unusual case of feline leishmaniosis with involvement of the mammary glands. **Topics in Companion Animal Medicine**, vol. 37, p. 2017–2020, 2019c. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1016/j.tcam.2019.100356>](https://doi.org/10.1016/j.tcam.2019.100356).

PEREIRA, A.; MAIA, C. *Leishmania* infection in cats and feline leishmaniosis: an updated review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines. **Current Research in Parasitology and Vector-Borne Diseases**. 2021. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1016/j.crvbd.2021.100035>](https://doi.org/10.1016/j.crvbd.2021.100035).

PIMENTA, P.; ALVES-PIMENTA, S.; BARROS, J.; BARBOSA, P.; RODRIGUES, A.; PEREIRA, M. J.; MALTEZ, L.; GAMA, A.; CRISTÓVÃO, J. M.; CAMPINO, L.; MAIA, C.; CARDOSO, L. Felina leishmaniose em Portugal: 3 casos (ano 2014). **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, 1-2:65-69, 2015. Disponível em: [em: <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.02.003>](https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2016.02.003).

POCHOLLE, E.; REYES-GOMEZ, E.; GIACOMO, A.; DELAUNAY, P.; HASSEINE, L.; MARTY, P. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. **Parasite** 2012; 19: 77–80.

POFFO, D.; ALMEIDA, A. B. P. F.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; CORREA, S. H. R.; MENDONÇA, A. J.; SOUSA, V. R. F. Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and *Leishmania* sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, vol. 37, p. 491-494, 2017. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S0100-736X2017000500011>>.

POLI, A.; ABRAMO, F.; BARSOTTI, P.; LEVA, S. GRAMICCIA, M. LUDOVISI, A.; MANCIANTI, F. Feline leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in Italy. **Veterinary Parasitology**, v. 106, n. 3, p. 181-191, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/s0304-4017\(02\)000081-X](https://doi.org/10.1016/s0304-4017(02)000081-X)>.

PRATLONG, F.; RIOUX, J. A.; MARTY, P.; GAMBARELLI, F.; DEREURE, J.; LANOTTE, G.; DEDET J. P. Isoenzymatic analysis of 712 strains of *Leishmania infantum* the south of France and relationship of enzymatic polymorphism clinica and epidemiological features. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 9, p. 4077- 4082, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/JCM.42.9.4077-4082.2004>>.

PRIOLO, V.; MARTÍNEZ-ORELLANA, P.; PENNISI, M. G.; MASUCCI, M.; PRANDI D, IPPOLITO, D.; BRUNO, F.; CASTELLI, G.; SOLANO-GALLEGU, L. *Leishmania infantum*-específico IFN- γ produção em sangue estimulado de gatos que vivem em áreas onde a leishmaniose canina é endêmica. **Parasites & Vectors**, vol. 12, p. 133. Disponível em:<<https://doi.org/10.1186/s13071-019-3386-y>>.

RAMOS, R. A. N. Avaliação da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e da PCR em tempo real (qPCR) no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina utilizando diferentes amostras biológicas. Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal – UFPE, 2012. Dissertação de Mestrado, 66 p.

RICHTER, M.; SCHAARSCHMIDT- KIENER, D.; KRUEDEWIG, C. Ocular signs, diagnosis and long-term treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis. **Schweiz Arch Tierheilkd**, vol. 156, p. 289-294, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1024/0036-7281/a000593>>.

ROCHA, A. V. V. O.; MORENO, B. F. S.; CABRAL, A. D.; LOUZEIRO, N. M.; MIRANDA, L. M.; SANTOS, V. M. B. D.; COSTA, F. B.; NOGUEIRA, R. D.; MARCILI, A.; SPERANÇA, M. A.; COSTA, A. P. Diagnosis and epidemiology of *Leishmania infantum* in domestic cats in an endemic area of the Amazon region, Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol. 273, p. 80-85, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.007>>.

ROSÁRIO, CARLA J. R. M.; DOMINICI, M. F.; BRAGA, M. S. C. Q.; LIMA, C. A. A.; JOSÉ G. PEREIRA, J. G.; MELO, F. A. Quantification of IL-10 and IFN- γ in dogs with or without clinical signs of *Leishmania (Leishmania) chagasi* infection. **Pesquisa**

Veterinária Brasileira, v. 38, n. 01, p. 129-132, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-5107>>.

SANTOS, C. M. D.; TONIAL, A. L.; DUARTE, V. R.; FAVACHO, A.; FERREIRA, E. C.; AQUINO, D. R. R. R. A. Análise citológica para diagnóstico de leishmaniose em um gato oligossintomático em área endêmica. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**. Campo Grande, MS, Brasil, v.1, n.1, p.59-71, 2018. Disponível em: <<https://doi.org/10.22533/at.ed.31019140812>>.

SANTOS, N. S.; PINHO, F. A.; HLAVAC, N. R. C.; NUNES, T. L.; ALMEIDA, N. R.; MANUELA SILVA SOLCÁ, M. S.; VARJÃO, B. M.; PORTELA, R. W.; RUGANI, J. N.; RÊGO, F. D. STELLA MARIA BARROUIN-MELO, S. M.; SOARES, R. P. Feline Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. **Frontiers in Veterinary Science**, vol. 8, p. 734916, 2021. Disponível em:<<https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734916>>.

SANTOS-GOMES, G. M.; ROSA, R.; LEANDRO, C.; CORTES, S.; ROMÃO, P.; SILVEIRA, H. Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.88, p.21-30, 2002. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0165-2427\(02\)00134-4](https://doi.org/10.1016/S0165-2427(02)00134-4)>.

SAVANI, E. S.; DE OLIVEIRA CAMARGO, M. C.; DE CARVALHO, M. R.; ZAMPIERI, R. A.; DOS SANTOS, M. G.; D'ÁURIA, S. R.; 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 (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol. 120, p. 229-233, 2004. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.01.008>. 15041097>.

SERGEANT, E.; LOMBAARD, J.; QUILICHINI, M. La Leishmaniose à Alger. Infection simultanée d'un enfant, d'un chien et d'un chat dans la même habitation. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, vol. 5, p. 93-98, 1912.

SILVA, A. V. M.; SOUZA- CÂNDIDO, C. D.; PITA- PEREIRA, D.; BRAZIL, R. P.; CARREIRA, J. C. A. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, vol. 105, p. 92–94, 2008. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.09.001>>.

SILVA, S. M.; RABELO, P. F. B.; GONTIJO, N. F.; RIBEIRO, R. R.; MELO, M. N.; RIBEIRO, V. M.; MICHALICK, M. S. M. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol.174, p. 150–154, 2010. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.005>>.

SILVA, R. C. N.; RAMOS, R. A. N.; PIMENTEL, D. S.; OLIVEIRA, G. M. A.; CARVALHO, G. A.; SANTANA, M. A.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. Detection of anti-bodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the state of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, vol. 47, p. 108–109, 2013. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/0037-8682-0005-2012>>.

SILVA, D. T. Avaliação imune de gatos naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum*. Programa de Pós-graduação: Epidemiologia Experimental Aplicada às Zoonoses- USP, 2019. Tese de Doutorado, 120 p.

SILVA, R. B. S.; PORTELA, R. A.; ARRUDA, L. F. B.; FERREIRA, J. S.; SOUTO, E. P. F.; ARAÚJO, A. L.; MADEIRA, M. F.; DANTAS, A. F. M.; MELO, M. A. Natural Infection by *Leishmania infantum* in domestic cats (*Felis catus*) in a municipality of moderate transmission in the Brazilian semi-arid region. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 29, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1984-29612020102>>.

SILVEIRA- NETO, L.; MARCONDES, M.; BILSLAND, E.; MATOS, L. V. S.; VIOL, M. A.; BRESCIANI, K. D. S. Clinical and epidemiological aspects of feline leishmaniasis in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v.36, n.3, p.1467–1480, 2015.

SIMÕES-MATTOS, L.; BEVILAQUA, C. M. L.; MATTOS, M. R. F.; POMPEU, M. M. L. Feline Leishmaniasis: uncommon or unknown? **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**, v.99, p.79-87, 2005f.

SOARES, C. S. A.; DUARTE, S. C.; SOUSA, S. R. What do we know about feline leishmaniasis?. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, vol. 18, p. 435-442, 2015. Disponível em: <<https://doi.org/10.1177/1098612X15589358>>.

SOBRINHO, L. S.; ROSSI, C. N.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. A.; DE LIMA, V. M.; PERRI, S. H.; GENEROSO, D.; LANGONI, H.; LEUTENEGGER, C.; BIONDO, A. W.; LAURENTI, M. D.; MARCONDES, M. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, vol. 187, p. 302-306, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.010>>.

SOLCÀ, M. D. S.; BASTOS, L. A.; GUEDES, C. E. S.; BORDONI, M.; BORJA, L. S.; LARANGEIRA, D. F.; TUY, P. G. S. E.; AMORIM, L.; NASCIMENTO, E.; OLIVEIRA, G. G. S.; DOS-SANTOS, W.; FRAGA, D.; VERAS, P. Evaluating the accuracy of molecular diagnostic testing for canine visceral leishmaniasis using latent class analysis. **PLoS ONE**, vol. 9, p., 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0103635>>.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, vol. 20, p. 4-86, Disponível em: <<https://doi.org/2011.10.1186/1756-3305-4-86>>.

SOLANO-GALLEGO, L.; RODRÍGUEZCORTÉS, A.; INIESTA, L.; QUINTANA, J.; PASTOR, J.; ESPADA, Y. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the northwestern Mediterranean. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.76, p.676-680, 2007. Disponível em: <<https://doi.org/10.4269/AJTMH.2007.76.676>>.

SOUSA, K. C. M.; HERREIRA, H. M.; DOMINGOS, I. H.; CAMPOS, J. B. V.; SANTOS, I. M. C.; NEVES, H. H.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, vol. 23, p. 449-455, 2014. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1984-29612014078>>.

SOUZA, A. I.; BARROS, E. M.; ISHIKAWA, E.; ILHA, I. M.; MARIN, G. R.; NUNES, V. L. Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, vol.128, p. 41-45, 2005. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.11.020>>.

SOUZA, A. I.; NUNES, V. L. B.; BORRALHO, V. M.; ISHIKAWA, E. A. Y. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul state, Brazil: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**, vol. 15, p. 359- 365, 2009. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1678-91992009000200017>>.

SCHÖNIAN, G.; NASEREDDIN, A.; DINSE, N.; SCHWEYNOCH, C.; SCHALLIG, H.D.F.H.; PRESBER, W.; JAFFEB, C. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, vol. 47, ed. 1, P. 349-358. Disponível em: <[https://doi.org/10.1016/S0732-8893\(03\)00093-2](https://doi.org/10.1016/S0732-8893(03)00093-2)>.

SCHUBACH, T. M.; FIGUEIREDO, F. B.; PEREIRA, S. A.; MADEIRA, M. F.; SANTOS, I. B.; ANDRADE, M. V.; CUZZI, T.; MARZOCHI, M. C.; SCHUBACH, A.

American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Transactions of the Roy Society of Tropical Medicine and Hygiene**, vol. 98, p. 165-167, 2004. Disponível: <[http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203\(03\)00040-3](http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203(03)00040-3)>.

SHERRY, K; MIRÓ, G.; TROTTA, M.; MIRANDA, C.; MONTOYA, A.; ESPINOSA, C.; et al. A Serological and Molecular Study of *Leishmania infantum* Infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector-borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, 239-245, 2011.

SPADA, E.; PROVERBIO, D.; MIGLIAZZO, A.; DELLA PEPA, A.; PEREGO, R.; BAGNAGATTI DE GIORGI, G. Serological and molecular evaluation of *Leishmania infantum* infection in stray cats in a nonendemic area in Northern Italy. **Parasitology**, 2013. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.5402/2013/916376>>.

TIRADO, T. C.; BAVIA, L.; AMBROSIO, A. R.; CAMPOS, M. P.; SANTIAGO, M. A.; MESSIAS-REASON, I. J.; FIGUEIREDO, F. B. A comparative approach on the activation of the three complement system pathways in different hosts of Visceral Leishmaniasis after stimulation with *Leishmania infantum*. **Developmental and Comparative Immunology**, vol. 120, p 104061, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.dci.2021.104061>>.

TIZARD, I. R. **Imunologia veterinária: uma introdução**. 8ª ed. Roca, São Paulo. 2008, 532p.

THRALL, M. A; WEISER, G; ALLISON, R. W.; CAMPBELL, T. W. **Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária**. 2. ed. – Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

TREINOR, K. E.; PORTER, B. F.; LOGAN, K. S.; HOFFMAN, R. J.; SNOWDEN, K. F. Eight cases of feline cutaneous leishmaniasis in Texas. **Veterinary Pathology**, v. 47, n.6, p. 1076- 1081, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1177/0300985810382094>>.

URBANI, L.; TIROLO, A.; SALVATORE, D.; TUMBARELLO, M.; SEGATORE, S.; BATTILANI, M.; BALBONI, A.; DONDI, F. Serological, molecular and clinicopathological findings associated with *Leishmania infantum* infection in cats in Northern Italy. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, vol. 22, p. 935-943, 2019. Disponível em: <<http://dx.doi.org/DOI:10.1177/1098612X19895067>>.

VERNEUIL, M. Leishmaniose ocular em um gato: relato de caso. **Journal Padre Ophthalmology**, vol. 36, p. 67-72, 2013.

VIDES, J. P.; SCHWARDT, T. F.; SOBRINHO, L. S. V.; MARINHO, M.; LAURENTI, M. D.; BIONDO, A. W.; LEUTENEGGER, C.; MARCONDES, M. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.178, p.2228, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.12.042>>.

VIDES, J. P. **Expressão gênica das interleucinas IL-4, IL-10, IL-12 e de interferon-gama no baço de gatos infectados por *Leishmania infantum chagasi***. Faculdade de Medicina Veterinária-UNESP, 2014. Tese de Doutorado, 105 p.

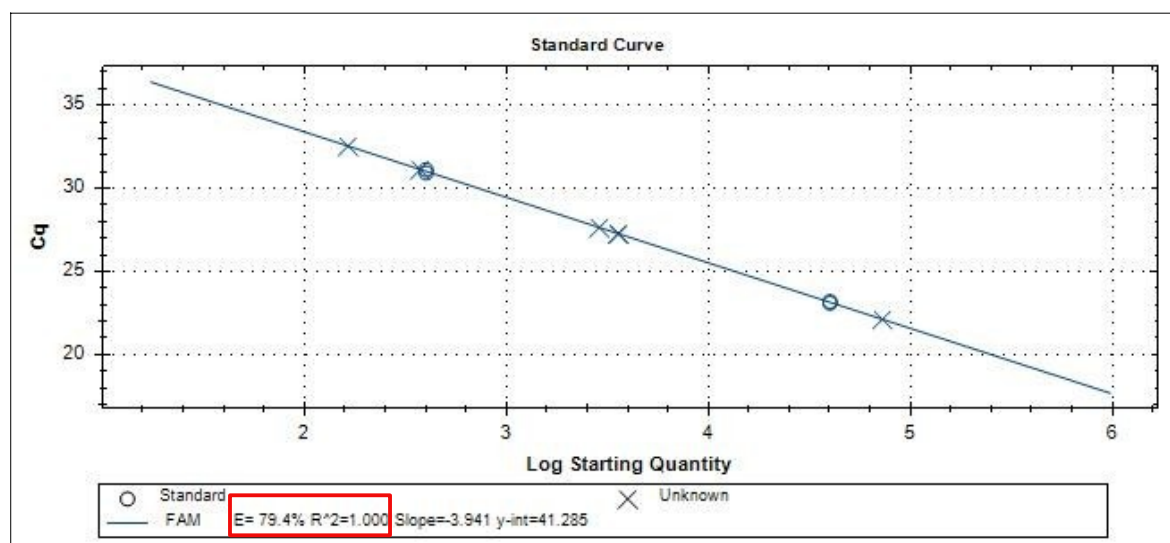
VORONOV, E.; DOTAN, S.; GAYVORONSKY, L.; WHITE, R. M.; COHEN, I.; KRELIN, Y.; BENCHETRIT, F.; ELKABETS, M.; HUSZÁR, M.; EL-ON, J.; APTE, R. IL-1-induced inflammation promotes development of leishmaniasis in susceptible BALB/c mice. **International immunology**, v. 22, p. 245–257, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1093/intimm/dxq006>>.

WOODS, G. A.; SIMPSON, M.; BOAG, A.; PARIS, J.; PICCINELLI, C.; BREHENY, C. Complications associated with bone marrow sampling in dogs and cats. **Journal of Small Animal Practice**, vol. 62, p. 209–215, 2021. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1111/jsap.13274>>.

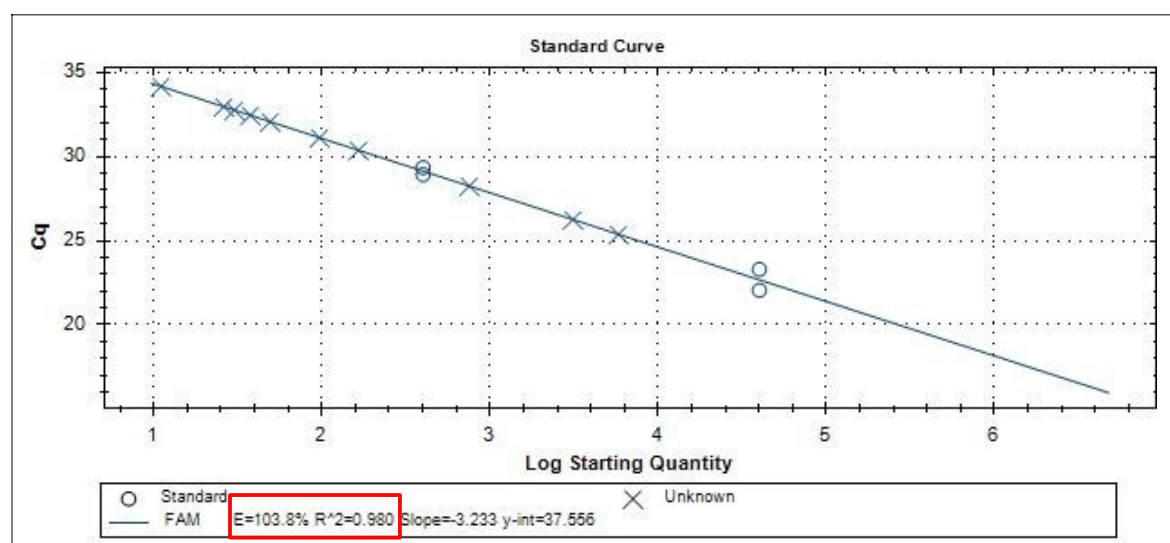
APÊNDICES

APÊNDICE A: qPCR QUANTITATIVA PARA DIAGNÓSTICO DE LEISHMANIOSE EM GATOS – CURVA PADRÃO.

APÊNDICE B – Gráfico de linha da curva padrão da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo Real (qPCR) do pool de amostras de medula óssea de felinos. Eficiência da reação de 79,4%, coeficiente de correlação linear (R^2) = 1,0 (São Luís, 2022).



APENDICE C – Gráfico de linha da curva padrão da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo Real (qPCR) do pool de amostras de medula óssea de felinos. Eficiência da reação de 103,8%, coeficiente de correlação linear (R^2) = 0,98 (São Luís, 2022).



ANEXOS

ANEXO A: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu, _____, CPF nº _____

residente em _____, tutora do animal _____, sexo _____, idade _____, raça _____, autorizo a participação do meu animal no projeto de mestrado intitulado “Perfil Imunológico de Gatos Naturalmente Infectados com *Leishmania* spp. no Município de São Luís- MA”, realização de coleta de material (sangue total, punção medular e/ou linfonodo e citologia de pele) pela Mestranda Walérya Lima Silva Santos Mendonça para realização de exames laboratoriais como Hemograma completo, bioquímicos (ureia, creatinina, AST, ALT, FA, Proteínas totais e frações), testes moleculares (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real) e sorológicos (teste Imunocromatócráfico FIV FeLV e ELISA indireto) para confirmação ou exclusão do diagnóstico de leishmaniose visceral felina. Também não haverá nenhum tipo de despesa ou gratificação pela referida participação nesta pesquisa, os resultados encontrados serão usados somente para fins científicos, podendo ser divulgados em eventos e publicados em periódicos.

São Luís, ____ de _____ de _____.

(Assinatura do responsável)

ANEXO B: FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL.

FICHA DE AVALIAÇÃO INDIVIDUAL GATOS	
Nome:	Idade:
Raça:	Sexo:
Responsável:	Telefone:
Endereço:	
DADOS DA ANAMNESE	
Vermifugação	
Vacinação:	
Castrado: () Sim () Não	
Alimentação:	
Ambiente:	
Contactantes:	
Tem acesso á rua ?	
Procedimento cirúrgico recente ?	
Presença de Sinais Clínicos ?	
Quais ? () dermatites ulcerativas () dermatites nodulares () dermatites escamosas () Anorexia () alopecia () linfadenomegalia () perda de peso () blefarite nodular () uveíte () gengivostomatite () letargia () desidratação () vômitos () febre () icterícia () poliúria () Secreção ocular () diarréia () corrimento nasal () aborto de repetição Outras:	
Data da Coleta :	
Observações:	

ANEXO C: PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA E EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL.



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

Centro de Ciências Agrárias
Curso de Medicina Veterinária
Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA)
Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT
Processo 01200.002200/2015-06 (449) - Emissão 19/06/2015

FORMULÁRIO DE PARECER

DATA DA ENTREGA DO PROCESSO	NÚMERO DO PROCESSO	NÚMERO DO PARECER	DATA DO PARECER
19/11/2020	24/2020	24/2020	04/03/2021

1. TÍTULO DO PROJETO

Perfil Imunológico de Gatos Naturalmente Infectados com *Leishmania* spp. no Município de São Luís- MA.

2. LOCAL DA EXECUÇÃO (IES/Laboratório)

Laboratório de Imunodiagnóstico/LAMP

3. OBJETIVO

General: Avaliar o perfil imunológico de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. no município de São Luís- MA.

Específicos: Diagnosticar gatos naturalmente infectados com *Leishmania* spp. por meio do exame parasitológico, teste ELISA indireto e Reação em Cadeia da Polimerase (qPCR); Quantificar os níveis das citocinas participantes da resposta imune celular: Interferon- gama (IFN- γ) e da resposta imune humoral: Interleucina 5 (IL-5) no sangue de gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp.; Comparar níveis de IFN- γ e IL-5 entre os gatos naturalmente infectados por *Leishmania* spp. com e sem sinais clínicos da doença.

4. ESPÉCIE ANIMAL/RAÇA

Espécie: Felinos.

5. CARACTERIZAÇÃO DA AMOSTRA AUTORIZADA.

Número de animais/grupo: 10 Número de grupos: 3
Quantidade total de animais: 30 animais

Especificar cada grupo:

1º Grupo: o primeiro grupo composto por dez animais com sinais clínicos de Leishmaniose felina (sendo considerado sintomático a partir da observação de um sinal clínico).

2º Grupo: 10 animais positivos (naturalmente infectados), sem sintomas de LV felina.

3º Grupo: 10 animais livres da infecção por *Leishmania* spp.

6. PERÍODO DE EXECUÇÃO DA PESQUISA

Início: 05/05/2021 Término: 05/06/2022



**UNIVERSIDADE
ESTADUAL DO
MARANHÃO**

Centro de Ciências Agrárias
Curso de Medicina Veterinária
Comissão de Ética e Experimentação Animal (CEEA)
Credenciamento Provisório - CONCEA/MCT
Processo 01200.002200/2015-06 (449) - Emissão 19/06/2015

7. PESQUISADOR RESPONSÁVEL/EXECUTOR

Executor da Pesquisa: Walérya Lima Silva Santos

Nome do Orientador: Prof. Dr. Ferdinan Almeida Melo

8. EQUIPE/COLABORADORES

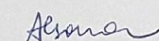
Profa. Dra. Carla Janaina Rebouças Marques do Rosário (UEMA)

Msc. Cristian Alex Aquino Lima (UEMA)

9. PARECER

Projeto aprovado na reunião do CEEA do dia 04/03/2021 por atender as normas de Bem-Estar Animal da resolução do CFMV nº 1000/2012 e a Lei 11.794/2008.

São Luís, 15 de março de 2021



Profa. Dra. Alana Lislea de Sousa
Presidente do CEEA-UEMA