



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Leishmaniose Canina

Marco António da Conceição Fernandes

Orientador(es) | Luís Miguel Lourenço Martins
Maria Dias
José Luis Pedrosa Martins

Évora 2024



Universidade de Évora - Escola de Ciências e Tecnologia

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Relatório de Estágio

Leishmaniose Canina

Marco António da Conceição Fernandes

Orientador(es) | Luís Miguel Lourenço Martins
Maria Dias
José Luis Pedrosa Martins

Évora 2024



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

Presidente | Maria Eduarda Potes (Universidade de Évora)

Vogais | Jacinto José Carneiro Gomes (Instituto Politécnico de Portalegre - Escola Superior Agrária de Elvas) (Arguente)
Luís Miguel Lourenço Martins (Universidade de Évora) (Orientador)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador interno, Professor Doutor Luís Martins, por ser uma referência e ter aceitado o meu convite, pelos conselhos, disponibilidade, apoio e compreensão ao longo destes anos, o meu sincero agradecimento.

Ao meu orientador externo, Dr José Martins, por tudo o que me ensinou e proporcionou no período de estágio, pelo incentivo, amizade, compreensão e dedicação, foi fundamental.

À minha coorientadora, professora Margarida Dias, pelo apoio, pela disponibilidade e tudo o que me ensinou.

À Doutora Carla Maia, pela estima e amizade, por todo o apoio e conselhos, és uma inspiração, um obrigado muito especial.

Aos meus pais, por todo o amor, apoio, compreensão, valores e princípios, por nunca me ter faltado nada, darem sempre o vosso melhor e acreditarem em mim, sou-vos eternamente grato. Ao meu irmão, por toda a força que me dá, pelo amor e amizade, espero ser um exemplo para ti e vou estar sempre aqui. Sem vocês nada disto era possível.

A toda a minha família, avós, tios e primos, por todo o amor e apoio, são fundamentais.

Aos meus manos mais velhos, Ricardo e Carolina, por serem um exemplo para mim e uma inspiração, pela amizade, amor e carinho, são imprescindíveis na minha vida.

A ti Raquel e à nossa menina Mar, por terem tornado a minha jornada em Évora mais especial e inesquecível, por toda a nossa história, pelo amor, cumplicidade e tudo o que fizeram por mim. À Inês, Sandra e Paulo por me terem feito sempre sentir em casa, por terem tornado parte da vossa família e por toda a amizade e estima.

Aos meus amigos e companheiros de casa, Rui, Zé, Diogo e Pedro, por todos os momentos, amizade e partilha de todos estes anos. Ao meu amigo e mano Rui, um agradecimento muito especial, pela força e conselhos que me dá, por ser um companheiro e amigo de todas as horas, por estar sempre disponível, és fundamental. À família Zbibz, por todos os momentos que partilhámos, pelas memórias e jornada incrível e inesquecível.

Ao Rafa, Chico e João Vítor pela amizade e por todas as histórias que já vivemos e partilhamos há muitos anos.

A toda a equipa do OneVet Hospital Veterinário de Berna, pelo acolhimento e pela experiência que me proporcionaram, por tudo o que me ensinaram e por todos os momentos que passámos juntos, jamais esquecerei, foi um privilégio estagiar convosco.

À Universidade de Évora e a todos os professores, moldaram o meu caminho, foram essenciais no meu crescimento, não só a nível académico como pessoal.

RESUMO

O presente relatório surge na sequência do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Évora, realizado no OneVet Hospital Veterinário de Borna, na área da clínica e cirurgia de animais de companhia. A primeira parte deste relatório aborda as atividades desenvolvidas durante os quatro meses de estágio, e a análise estatística da casuística acompanhada pelo autor. A segunda parte do relatório consiste na revisão bibliográfica sobre o tema “Leishmaniose Canina”, seguida da apresentação e discussão de um caso clínico acompanhado durante o estágio.

A Leishmaniose canina é uma zoonose, potencialmente fatal no cão, transmitida por flebótomos e provocada pelo protozoário *Leishmania Infantum*. A doença é endémica em vários países a nível mundial, incluindo Portugal. O diagnóstico é complexo devido à variabilidade e inespecificidade dos sinais clínicos, sendo considerada uma doença multissistémica de evolução crónica. O objetivo do tratamento é a redução dos sinais clínicos e controlo da infeção. As medidas preventivas baseiam-se no controlo do vetor, no uso de repelentes/inseticidas e na imunoprofilaxia.

Palavras-chave: Leishmaniose; cão; flebótomos; serologia; prevenção.

ABSTRACT

CANINE LEISHMANIOSIS

This report follows the curricular internship of the Integrated Master's in Veterinary Medicine at the University of Évora, held at the OneVet Hospital Veterinário de Berna, focusing on small animal clinical practice and surgery. The first section covers activities during the four-month internship and statistical analysis of the cases observed. The second part consists on a literature review on "Canine Leishmaniasis," followed by the presentation and discussion of a clinical case encountered during the internship.

Canine Leishmaniasis is a potentially fatal zoonotic disease transmitted by sandflies and caused by the protozoan *Leishmania infantum*. The disease is endemic in several countries worldwide, including Portugal. Diagnosis is complex due to the variability and nonspecific nature of clinical signs, characterizing it as a multisystemic disease with a chronic evolution. The treatment aims to reduce clinical signs and control infection. Preventive measures involve vector control, the use of repellents/insecticides, and immunoprophylaxis.

Keywords: Leishmaniasis; dog; sandflies; serology; prevention.

ÍNDICE

RESUMO.....	iii
ABSTRACT.....	iv
Índice de Figuras	vii
Índice de Tabelas.....	viii
Índice de Gráficos.....	ix
Lista de siglas e abreviaturas	x
Introdução.....	1
Relatório de Casuística.....	2
1. Descrição do local de estágio e atividades desenvolvidas	2
2. Descrição da casuística.....	3
2.1 Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica	3
2.2 Distribuição casuística da medicina preventiva	5
2.3 Distribuição casuística da clínica médica	5
2.3.1 Oncologia	7
2.3.2 Urologia e Nefrologia	8
2.3.3 Gastroenterologia e glândulas anexas.....	9
2.3.4 Dermatologia	10
2.3.5 Ortopedia e Traumatologia.....	11
2.3.6 Endocrinologia	12
2.3.7 Pneumologia.....	12
2.3.8 Infeciologia.....	13
2.3.9 Cardiologia.....	14
2.3.10 Odontoestomatologia	14
2.3.11 Oftalmologia.....	15
2.3.12 Urgências.....	16
2.3.13 Neurologia	16
2.3.14 Otorrinolaringologia	17
2.3.15 Reprodução/Ginecologia/Andrologia	17

2.3.16 Toxicologia.....	18
2.3.17 Imunologia e Alergologia	18
2.3.18 Procedimentos Médicos	19
2.3.19 Exames complementares de diagnóstico.....	20
2.4 Distribuição casuística da clínica cirúrgica	20
2.4.1 Cirurgia geral e tecidos moles	21
Revisão bibliográfica	23
1. Introdução.....	23
2. Etiologia.....	24
3. Formas parasitárias.....	25
4. Ciclo de vida	26
5. Vetor biológico	27
6. Hospedeiros vertebrados	29
7. Epidemiologia e transmissão.....	30
8. Fisiopatogenia.....	33
9. Suscetibilidade.....	36
10. Sinais clínicos	37
10.1 Alterações cutâneas	38
10.2 Linfadenopatia e esplenomegalia.....	40
10.3 Alterações renais.....	40
10.4 Alterações hematológicas.....	41
10.5 Alterações musculoesqueléticas	41
10.6 Alterações oculares	42
10.7 Alterações gastrointestinais	42
10.8 Outras alterações	43
11. Diagnóstico	43
11.1 Análises clinicopatológicas	44
11.2 Testes de diagnóstico parasitológico	46
11.3 Diagnóstico molecular	47

11.4 Diagnóstico Serológico	48
11.5 Estadiamento	50
12. Tratamento	51
12.1 Alopurinol	52
12.2 Antimoniais pentavalentes	53
12.3 Miltefosina	53
12.4 Paromomicina ou aminosidina	54
12.5 Anfotericina B	54
12.6 Imunoterapia	55
13. Monitorização e Prognóstico	56
14. Prevenção e controlo	57
15. Implicações na saúde pública.....	59
Caso clínico.....	60
1. Identificação da paciente.....	60
2. Anamnese.....	60
3. Exame Físico	60
4. Análises	61
5. Internamento.....	63
6. Seguimento.....	64
7. Discussão	68
Conclusão	72
Bibliografia.....	74

Índice de Figuras

Figura 1: Formas parasitárias.....	26
Figura 2: Esquema representativo do ciclo de vida de <i>L. infantum</i>	27
Figura 3: Fotografias de flebotomos.	28
Figura 4: Distribuição global da Leishmaniose visceral em humanos e Leishmaniose canina..	30

Figura 5: Diagrama que representa uma população canina exposta à infeção, numa área endémica de <i>L. infantum</i>	32
Figura 6: Seroprevalências de infeção por <i>Leishmania</i> em cães de Portugal continental, pela técnica de aglutinação direta, por distrito e NUTS2.....	33
Figura 7: Interação entre a resposta Th1 e Th2 na Leishmaniose visceral	34
Figura 8: Sinais clínicos de Leishmaniose canina.	38
Figura 9: Manifestações cutâneas de Leishmaniose canina.....	39
Figura 10: Alterações clinicopatológicas mais comuns em cães com Leishmaniose.....	45
Figura 11: Exemplos de eletroforetogramas num cão normal	46
Figura 12: Paciente no dia da primeira consulta (Arquivo pessoal).	60
Figura 13: Resultado do teste serológico realizado no dia 14 de janeiro de 2020.....	63
Figura 14: Proteinograma e serologia realizados no dia 15 de janeiro de 2020.....	64
Figura 15: Proteinograma realizado no dia 4 de março de 2020.	66

Índice de Tabelas

Tabela 1: Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica.	4
Tabela 2: Distribuição casuística da área da medicina preventiva.	5
Tabela 3: Distribuição da casuística da área clínica médica, por espécie animal e especialidade médica.....	5
Tabela 4: Distribuição da casuística da área de oncologia.	7
Tabela 5: Distribuição da casuística da área de urologia e nefrologia.....	9
Tabela 6: Distribuição da casuística da área de gastroenterologia e glândulas anexas.	10
Tabela 7: Distribuição da casuística da área de dermatologia.	10
Tabela 8: Distribuição da casuística da área de ortopedia e traumatologia.....	11
Tabela 9: Distribuição da casuística da área de endocrinologia.....	12
Tabela 10: Distribuição da casuística da área de pneumologia.	13
Tabela 11: Distribuição da casuística da área de infeciologia.....	13
Tabela 12: Distribuição da casuística da área de cardiologia.	14
Tabela 13: Distribuição da casuística da área de odontoestomatologia.	15
Tabela 14: Distribuição da casuística da área de oftalmologia.....	15

Tabela 15: Distribuição da casuística da área de urgências.	16
Tabela 16: Distribuição da casuística da área de neurologia.	17
Tabela 17: Distribuição da casuística da área de otorrinolaringologia.	17
Tabela 18: Distribuição da casuística da área de reprodução, ginecologia e andrologia.	18
Tabela 19: Distribuição da casuística da área de toxicologia.	18
Tabela 20: Distribuição da casuística da área de imunologia/ alergologia.	19
Tabela 21: Distribuição dos procedimentos médicos assistidos e realizados.	19
Tabela 22: Distribuição dos exames complementares de diagnóstico assistidos e realizados.	20
Tabela 23: Distribuição da casuística da área de cirurgia geral e tecidos moles.	21
Tabela 24: Estadiamento da Leishmaniose Canina de acordo com a Leishvet.	50
Tabela 25: Substâncias ativas usadas em repelentes para prevenir a picada de flebotomos.	58
Tabela 26: Hemograma realizado à paciente no dia 14 de janeiro de 2020.	61
Tabela 27: Bioquímicas séricas realizadas à paciente no dia 14 de janeiro de 2024.	62

Índice de Gráficos

Gráfico 1: Frequência relativa da casuística distribuída por espécie animal (n=667).	4
Gráfico 2: Frequência relativa da casuística distribuída por área clínica.	4
Gráfico 3: Frequência relativa da casuística por área clínica e espécie animal.	6

Lista de siglas e abreviaturas

Ac: Anticorpos

ACTH: Hormona adrenocorticotrópica

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

AHCC: Composto correlacionado com hexose ativa

ALP: Fosfatase alcalina

ALT: Alanina aminotransferase

BID: a cada 12 horas

BUN: Ureia (*Blood Urea Nitrogen*)

CAMV: Centro de Atendimento Médico Veterinário

CMH II: Complexo de histocompatibilidade maior classe II

DIVA: Vacina indutora de uma resposta imunitária diferenciada (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*)

DNA: Ácido desoxirribonucleico

ELISA: Ensaio imunoenzimático por ligação de enzimas (*Enzyme-linked immunosorbent assay*)

FeLV: Vírus da Leucemia Felina

Fi: Frequência absoluta da afeção ou procedimento

Fip: Frequência relativa à espécie animal

FIV: Vírus da Imunodeficiência Felina

FNT- α : Fator de necrose tumoral alfa

Fr: Frequência relativa

GGT: Gama glutamil transferase

HVB: OneVet Hospital Veterinário de Berna

IFAT: Teste de imunofluorescência indireta

IFN- γ : Interferão gama

Ig: Imunoglobulinas

IL: Interleucina

IP: Fósforo inorgânico

IRA: Insuficiência renal aguda

IRC: Insuficiência renal crónica

IRIS: Sociedade Internacional de Interesse Renal (*International Renal Interest Society*)

Linfócitos Th1: Linfócitos T *helper* tipo 1

Linfócitos Th2: Linfócitos T *helper* tipo 2

Linfócitos Treg: Linfócitos T reguladores

n: Total de casos acompanhados

OMS: Organização Mundial de Saúde

OVH: Ovariohisterectomia

PAAF: Punção aspirativa por agulha fina

PCR: Reação em cadeia da polimerase (*Polymerase chain reaction*)

PFA: Proteínas de fase aguda

RAG: Rácio albumina / globulina

RNA: Ácido ribonucleico

RPC: Rácio proteína / creatinina na urina

Rz: Razão da amostra

SC: Subcutâneo

SID: a cada 24 horas

Slc11c1: *Solute carrier family 11 member a1*

T4: Tiroxina

TC: Tomografia computadorizada

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

TGF-β: Fator transformador de crescimento beta

TSH: Hormona estimulante da tiroide

OIE: Organização Mundial de Saúde An

Introdução

O presente relatório de estágio foi realizado no âmbito do estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade de Évora, sob a orientação interna do Professor Doutor Luís Miguel Lourenço Martins e a orientação externa do Dr. José Luís Pedrosa Martins, e tem como finalidade descrever as atividades desenvolvidas ao longo do estágio.

O estágio foi realizado no Onevet Hospital Veterinário Berna (HVB), com a duração de quatro meses, tendo-se iniciado no dia 6 de setembro de 2021 e terminado no dia 10 de janeiro de 2022. O HVB situado na Avenida de Berna, no centro de Lisboa, foi fundado em setembro de 2012 pelo Doutor Joaquim Henriques com o objetivo de prestar e desenvolver serviços na área da oncologia veterinária. Em julho de 2015, foi adquirido pelo OneVet Group, sendo atualmente um hospital com experiência nas mais diversas áreas, mas mantendo a oncologia como área de referência.

O estágio curricular proporcionou o contato com as diversas componentes desenvolvidas no hospital, sendo este dividido por áreas, em turnos de oito horas. O estagiário teve de alternar, semanalmente, entre as áreas de cirurgia e anestesia, internamento, consultas e imagiologia. Os estagiários não realizavam turnos noturnos, exceto por necessidade do hospital ou interesse próprio. Os turnos de fim de semana e feriados foram rotativos, entre os estagiários, de modo a acompanhar os clínicos nos serviços de urgência. Durante os turnos, o estagiário acompanhava os médicos e enfermeiros, o que permitiu a observação e realização de vários procedimentos veterinários e a participação nas diversas áreas do hospital, levando ao desenvolvimento de competências e consolidação de conhecimentos adquiridos ao longo do curso.

A recolha de dados durante o período de estágio permitiu a realização deste relatório que está dividido em três partes. A primeira contempla uma breve análise estatística da casuística acompanhada, durante os seis meses de estágio, nas diversas áreas e especialidades da Medicina Veterinária. A segunda parte é composta por uma revisão bibliográfica pormenorizada sobre o tema “Leishmaniose canina”. Na terceira parte, será feita a apresentação e discussão de um caso clínico acompanhado pelo estagiário, referente ao tema da monografia.

Relatório de Casuística

1. Descrição do local de estágio e atividades desenvolvidas

O HVB é constituído por três consultórios, dois para cães e um para gatos, uma área de internamento dividido em zonas específicas para cães e gatos, assim como uma sala devidamente isolada para animais com doenças infetocontagiosas. Adicionalmente, possui um bloco cirúrgico devidamente equipado, uma sala de preparação pré-cirúrgica e outro espaço dedicado para a limpeza e esterilização do material cirúrgico. O HVB é composto ainda por salas dedicadas à realização de exames complementares diagnósticos como radiografias, ecografias e tomografias computadorizadas (TC), além de um laboratório. Devido à especialidade e casuística prevalentes neste hospital existe uma sala de armazenamento, manuseamento e administração de fármacos quimioterápicos aos doentes oncológicos. Por fim, dispõe de dois espaços reservados ao corpo clínico, com áreas de lazer, refeições e estudo.

O estágio foi dividido pelas áreas de cirurgia, consultas, internamento e imagiologia. Na semana das cirurgias, o estagiário colaborava na receção dos animais, na realização de exames físicos e análises pré-anestésicas, preparação da medicação pré-anestésica e anestésica, preparação pré-cirúrgica do animal e da sala de cirurgia, assim como a preparação do paciente na mesa cirúrgica, monitorização anestésica e o acompanhamento pós-cirúrgico do mesmo. Para além disto, o estagiário participou como ajudante de cirurgião em diversas cirurgias de tecidos moles e realizou cirurgias eletivas, como ovariohisterectomias (OVH) e orquiectomias de cães e gatos, sob a supervisão do cirurgião responsável. A participação nas cirurgias permitiu adquirir e desenvolver conhecimentos em relação à anestesia e monitorização anestésica, nos cuidados de assepsia a ter numa sala de cirurgia, e o uso adequado de técnicas e material cirúrgico.

Na semana das consultas, o estagiário cooperou na recolha de dados da história pregressa, na realização de exames físicos e complementares de diagnóstico, e ainda na discussão de planos terapêuticos adequados. O acompanhamento das consultas permitiu consolidar informações nas áreas da vacinação, desparasitação e identificação eletrónica, bem como no desenvolvimento de capacidades de comunicação, compreensão e abordagem com tutores e doentes em contexto de consulta.

Na semana do internamento, o estagiário colaborou na monitorização dos animais internados, na realização de exames clínicos completos e complementares de diagnóstico por imagem ou de laboratório, bem como na discussão de planos terapêuticos. A preparação e administração de medicações, a alimentação e o passeio dos animais internados eram também realizados pelo estagiário. O seguimento do internamento permitiu desenvolver capacidades de

raciocínio na abordagem aos casos clínicos relativamente aos métodos de diagnóstico e tratamento mais adequados, assim como a organização, cooperação e relação com os colegas em ambiente hospitalar.

Na semana da imagiologia, o estagiário auxiliou a realização de ecografias, radiografias e TC, o que permitiu praticar a execução dos exames imagiológicos, assim como a sua análise e interpretação.

2. Descrição da casuística

Esta parte do relatório consiste na análise estatística dos diferentes casos acompanhados ao longo do estágio curricular. Neste relatório, deve entender-se por “caso” qualquer entidade clínica ou cirúrgica acompanhada pelo estagiário. Cada animal foi classificado de acordo com a espécie e cada caso distribuído pela área clínica correspondente, ou seja, medicina preventiva, clínica médica e clínica cirúrgica. Alguns destes animais apresentavam mais do que uma afeção e foram acompanhados em diversas áreas. De enaltecer também que, a análise estatística dos diferentes casos acompanhados ao longo do período de estágio curricular, dependem da rotação semanal do estagiário, pelo que os casos apresentados não são representativos da casuística real do hospital.

A casuística foi distribuída, com recurso a gráficos e tabelas que expõem a frequência absoluta relativa à espécie animal (F_{ip}), a frequência absoluta da afeção ou procedimento (F_i), a correspondente frequência relativa (Fr) em percentagem (%) e o número total de casos acompanhados (n), que facilitam a análise e interpretação dos casos. Estes foram agrupados em três áreas clínicas: “Medicina preventiva” que inclui a vacinação, desparasitação e identificação eletrónica; “Clínica médica” que inclui 17 especialidades médicas, bem como procedimentos médicos e exames complementares de diagnóstico observados ou realizados; e “Clínica cirúrgica”, onde se incluem as cirurgias acompanhadas pelo estagiário.

2.1 Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica

A distribuição da casuística de acordo com a espécie, contempla as espécies canina (*Canis lupus familiaris*) e felina (*Felis catus*). De acordo com o Gráfico 1, a espécie mais observada foi a canina com uma frequência relativa Fr (%) de 58,27% ($n=388$), num total de 667 casos.

Distribuição da casuística por espécie

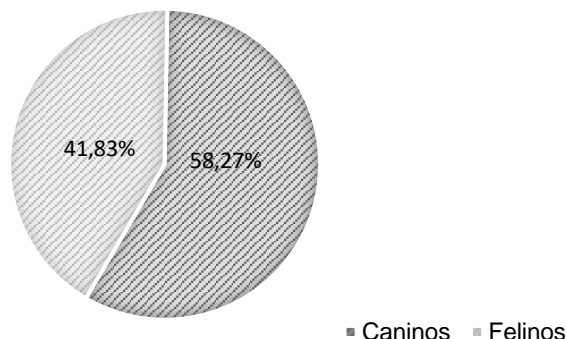


Gráfico 1: Frequência relativa da casuística distribuída por espécie animal (n=667).

A distribuição da casuística por área clínica, está representada na Tabela 1 e no Gráfico 2. De acordo com os mesmos, a área mais representada foi a clínica médica com uma Fr (%) de 78,11%, seguida da clínica cirúrgica com uma Fr (%) de 11,69%, e da medicina preventiva com uma Fr (%) de 10,19%, com um total de 667 casos acompanhados.

Tabela 1: Distribuição da casuística por espécie animal e área clínica.

Áreas Clínicas	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Clínica médica	299	222	521	78,11%
Clínica cirúrgica	45	33	78	11,69%
Medicina preventiva	44	24	68	10,19%
Total	388	279	667	100

Distribuição casuística por área clínica

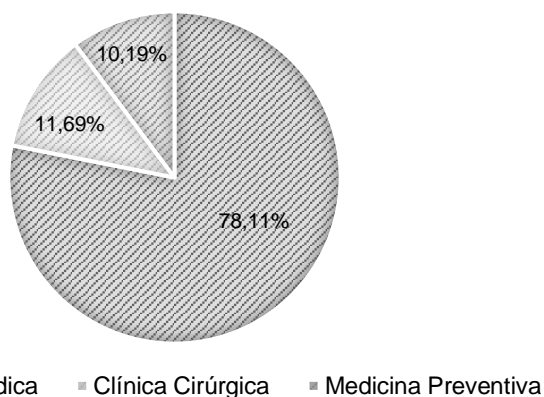


Gráfico 2: Frequência relativa da casuística distribuída por área clínica.

2.2 Distribuição casuística da medicina preventiva

A Tabela 2 demonstra que na área da medicina preventiva foram acompanhados um total de 68 casos. A vacinação foi a que teve maior expressão, com uma Fr (%) de 47,1%. Já a desparasitação teve uma Fr (%) de 29,4% seguindo-se a colocação de *microchip*, para identificação eletrónica com Fr (%) de 23,5%.

O acompanhamento dos casos contemplados permitiu ao estagiário o aprofundamento de conhecimentos relativos aos planos profiláticos de vacinação e desparasitação. Adicionalmente, proporcionou a aquisição de prática na aplicação de vacinas, colocação de *microchip* e na abordagem aos tutores no esclarecimento e importância da profilaxia.

Tabela 2: Distribuição casuística da área da medicina preventiva.

Medicina preventiva	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Desparasitação	13	7	20	29,4%
Identificação Eletrónica	12	4	16	23,5%
Vacinação	19	13	32	47,1%
Total	44	24	68	100

2.3 Distribuição casuística da clínica médica

A clínica médica foi dividida em 17 especialidades, sumarizadas e ordenadas alfabeticamente na Tabela 3, conforme a casuística acompanhada no hospital, as quais serão abordadas individualmente. Pela análise da Tabela 3, podemos verificar que a especialidade com maior número de casos acompanhados foi a Oncologia com uma Fr (%) de 23,61%, seguindo-se a Urologia e Nefrologia com uma Fr (%) de 13,24% e da Gastroenterologia com Fr (%) de 11,71%. Pelo contrário, as especialidades com menor representação foram a de Imunologia/Alergologia e a Toxicologia, com uma Fr (%) de 0,58% e 0,77%, respetivamente. Estes números são de acordo com a casuística acompanhada pelo estagiário durante a rotatividade de horários, bem como pela sua preferência por determinadas áreas e casos.

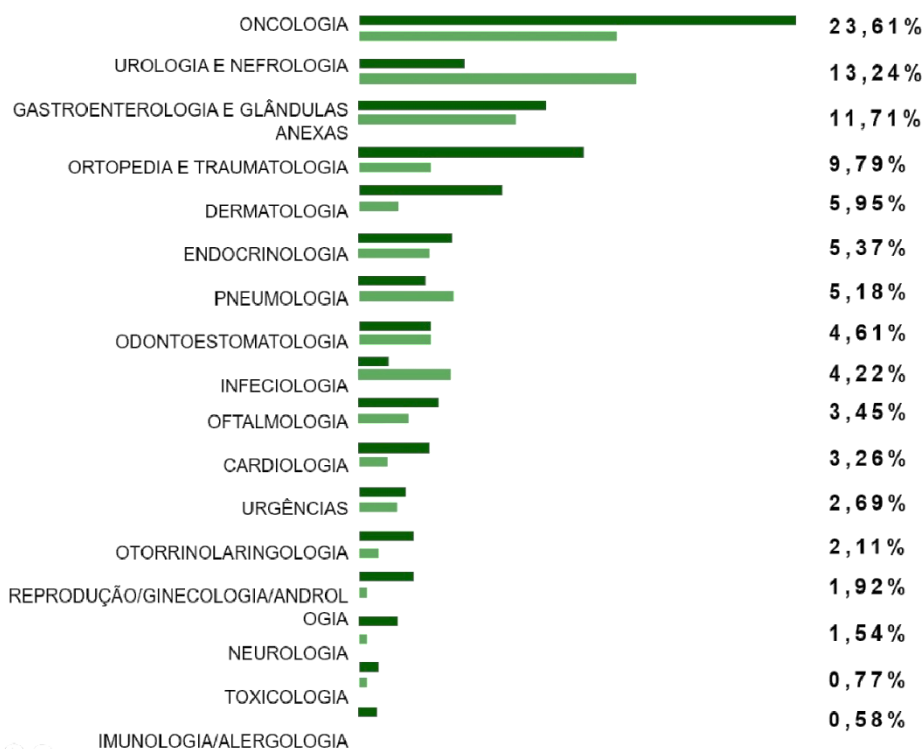
Tabela 3: Distribuição da casuística da área clínica médica, por espécie animal e especialidade médica.

Clínica médica	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cardiologia	12	5	17	3,26%
Dermatologia	24	7	31	5,95%
Endocrinologia	16	12	28	5,37%
Gastroenterologia e glândulas anexas	33	28	61	11,71%

Imunologia/Alergologia	3	0	3	0,58%
Infeciologia	5	17	22	4,22%
Neurologia	7	1	8	1,54%
Odontoestomatologia	12	12	24	4,61%
Oftalmologia	14	4	18	3,45%
Oncologia	76	47	123	23,61%
Ortopedia e Traumatologia	39	12	51	9,79%
Otorrinolaringologia	9	2	11	2,11%
Pneumologia	11	16	27	5,18%
Reprodução/Ginecologia/Andrologia	9	1	10	1,92%
Toxicologia	3	1	4	0,77%
Urgências	8	6	14	2,69%
Urologia e Nefrologia	18	51	69	13,24%
Total	299	222	521	100

O Gráfico 3 ilustra a distribuição dos casos, por especialidade, de uma forma decrescente e compara as frequências relativas das duas espécies observadas. Podemos observar a predominância da espécie canina na maior parte das especialidades, exceto nas especialidades de Urologia e Nefrologia e Infeciologia, onde a espécie felina se destaca.

Distribuição da casuística na área da clínica médica por espécie e especialidade médica



CANINOS
FELINOS

Gráfico 3: Frequência relativa da casuística por área clínica e espécie animal.

2.3.1 Oncologia

A Oncologia é a área de referência do HVB, pelo que, para além de animais que vinham para primeira consulta de especialidade, muitos dos casos vinham referenciados de outros Centros de Atendimento Médico-Veterinário (CAMV).

As neoplasias que se destacam são o linfoma com uma Fr (%) de 28,5% dos casos, seguindo-se o mastocitoma com uma Fr (%) de 13,01% e o carcinoma mamário com uma Fr (%) de 8,94%, num total de 123 casos assistidos (Tabela 4).

Nesta tabela, todas as neoplasias descritas foram confirmadas por diagnóstico histopatológico, à exceção do parâmetro “Outras Neoplasias” que é relativo a lesões com aparência tumoral no que diz respeito à visualização macroscópica e/ou imagiológica, confirmadas com avaliação citológica, não tendo sido realizado diagnóstico histopatológico, por opção dos tutores.

Tabela 4: Distribuição da casuística da área de oncologia.

Oncologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)	
Adenocarcinoma das glândulas apócrinas dos sacos anais	4	0	4	3,25%	
Carcinoma	Cabeça e pescoço	0	2	1,63%	
	Gástrico	1	0	0,81%	
	Intestinal	1	2	3	2,44%
	Mamário	5	6	11	8,94%
	Pulmonar	0	2	2	1,63%
Fibrossarcoma	0	2	2	1,63%	
Hemangiossarcoma esplénico	4	0	4	3,25%	
Hemangiopericitoma	1	0	1	0,81%	
Histiocitoma	1	0	1	0,81%	
Leucemia	1	1	2	1,63%	
Linfoma	12	23	35	28,46%	
Lipoma	7	0	7	5,69%	
Mastocitoma	16	0	16	13,01%	
Melanoma	5	0	5	4,07%	
Osteossarcoma	2	0	2	1,63%	
Outras Neoplasias	Esplénica	3	0	3	2,44%
	Intestinal	1	2	3	2,44%
	Mamária	5	3	8	6,50%
	Pulmonar	1	0	1	0,81%
	Cardíaca	1	0	1	0,81%
	Renal	0	1	1	0,81%
	Cabeça e pescoço	2	3	5	4,07%
	Prostática	1	0	1	0,81%
	Uretral	1	0	1	0,81%
Sertolinoma	1	0	1	0,81%	
Total	76	47	123	100	

Na Tabela 4, podemos verificar a predominância de casos da espécie canina, em neoplasias como o hemangiossarcoma esplênico, o mastocitoma e o melanoma, ao contrário do linfoma, que se apresenta com maior predominância na espécie felina.

O acompanhamento dos casos nesta área permitiu ao estagiário executar uma anamnese dirigida às doenças oncológicas. Adicionalmente, facultou a oportunidade de observar, realizar e interpretar os exames complementares de diagnóstico, como citologias, análises bioquímicas, biópsias, radiografias, ecografias e TC, consolidando assim as etapas necessárias ao diagnóstico e estadiamento da doença oncológica. Ao nível do tratamento, proporcionou a aquisição de conhecimentos teóricos relativamente aos protocolos quimioterápicos, às opções terapêuticas válidas e a sua eficácia em cada caso, às regras de segurança na manipulação de fármacos quimioterápicos, assim como o acompanhamento de sessões de quimioterapia. Para além disto, estas atividades possibilitaram a aquisição de capacidades de comunicação e esclarecimento de informações de um modo claro e honesto, de forma a consciencializar e educar os tutores, uma vez que são parte importante no acompanhamento de todo o processo de tratamento que envolve o tratamento oncológico.

2.3.2 Urologia e Nefrologia

Na especialidade de urologia e nefrologia, observamos na Tabela 5 que os casos mais assistidos foram de insuficiência renal crónica (IRC) com uma Fr (%) de 46,38%, seguindo-se a Insuficiência renal aguda (IRA) com uma Fr (%) de 18,84% e os cálculos urinários com Fr (%) somadas de 14,5%. A espécie mais afetada, com alguma predominância, foi a felina, principalmente pelo elevado número de casos de insuficiência renal, tanto crónica como aguda. De salientar, que os casos de obstrução urinária por cálculos e o caso de uroabdómen traumático foram mencionados na área das urgências.

O acompanhamento dos casos nesta área proporcionou a compreensão dos sinais clínicos associados a estas doenças, assim como a observação, realização e interpretação de análises bioquímicas, hemograma e urianálise do tipo I e II (com avaliação do sedimento urinário). Foram realizadas colheitas de urina por cistocentese ecoguiada, ecografias e algalias de animais internados, permitindo ao estagiário a consolidação de conhecimentos no diagnóstico, tratamento e estadiamento de doenças do trato urinário, nomeadamente da IRC.

Tabela 5: Distribuição da casuística da área de urologia e nefrologia.

Urologia e Nefrologia		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cálculos	Renais	2	0	2	2,90 %
	Ureterais	0	2	2	2,90%
	Uretrais	0	2	2	2,90%
	Vesicais	1	3	4	5,80%
Doença trato urinário inferior felino		0	2	2	2,90%
Glomerulonefrite		1	0	1	1,45%
Incontinência urinária		3	0	3	4,35%
Infecção trato urinário		5	3	8	11,59%
Insuficiência renal aguda		1	12	13	18,84%
Insuficiência renal crônica		5	27	32	46,38%
Total		18	51	69	100

2.3.3 Gastroenterologia e glândulas anexas

Na área de gastroenterologia e glândulas anexas foram consideradas as afeções do trato digestivo e glândulas anexas, como glândulas salivares, fígado, pâncreas, sistema biliar e glândulas dos sacos anais. A ascite foi introduzida nesta especialidade porque, apesar de a etiologia não se dever especificamente a afeções do sistema gastrointestinal, é relativo à cavidade peritoneal. De salientar, um caso de volvo intestinal acompanhado que será mencionado na área da urgência médica.

A gastroenterologia foi a terceira especialidade mais observada, com 61 casos acompanhados, correspondendo a uma Fr (%) de 11,71% da casuística da clínica médica. Como demonstra a Tabela 6, a afeção mais assistida foi a ascite com uma Fr (%) de 14,75% dos casos, seguida da pancreatite com uma Fr (%) de 13,11% e da colite e gastroenterite alimentar com uma Fr (%) de 11,48%.

Dado que, diversas afeções sistêmicas podem dar sintomatologia idêntica aos distúrbios do trato digestivo, como vômitos e diarreia, a realização de uma anamnese e exame físico completos e de exames complementares de diagnóstico são imprescindíveis para descartar vários diagnósticos diferenciais e identificar a sua origem. O acompanhamento destes casos possibilitou ao estagiário realizar exames físicos completos e pormenorizados, nomeadamente ao nível da palpação abdominal, colheitas de sangue para análises bioquímicas e hemograma. Adicionalmente, facultou a execução e interpretação de exames imagiológicos como ecografias, radiografias e endoscopias.

Tabela 6: Distribuição da casuística da área de gastroenterologia e glândulas anexas.

Gastroenterologia e glândulas anexas	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Ascite	4	5	9	14,75
Colangiohepatite aguda	0	3	3	4,92
Colecistite	1	0	1	1,64
Colite	4	3	7	11,48
Doença inflamatória intestinal	1	0	1	1,64
Estase gastrointestinal	2	3	5	8,20
Fecaloma	0	3	3	4,92
Gastrite	2	2	4	6,56
Gastroenterite alimentar	5	2	7	11,48
Gastroenterite parasitária	2	0	2	3,28
Impactação dos sacos anais	4	0	4	6,56
Ingestão de corpo estranho	2	1	3	4,92
Lipidose hepática	0	3	3	4,92
Pancreatite	5	3	8	13,11
Sialocelo	1	0	1	1,64
Total	33	28	61	100

2.3.4 Dermatologia

Na casuística de dermatologia, a afeção mais frequente foram os nódulos cutâneos com uma Fr (%) de 16,13% e as lacerações cutâneas com uma Fr (%) de 12,90% (Tabela 7). A espécie mais afetada foi a espécie canina.

O acompanhamento dos casos nesta área permitiu ao estagiário o aprofundamento de conhecimentos teóricos em relação às doenças dermatológicas. Propiciou a realização de exames de diagnóstico específicos, como a realização de biópsias de pele, punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de nódulos cutâneos, lavagens auriculares, esfregaços para observação e análise microscópica, tricogramas e culturas bacterianas. Adicionalmente, o estagiário realizou suturas de pele em casos de lacerações cutâneas e exérese de nódulos cutâneos, sob a supervisão do médico veterinário responsável.

Tabela 7: Distribuição da casuística da área de dermatologia.

Dermatologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Abcessos subcutâneos	3	0	3	9,68%
Complexo eosinofílico	0	2	2	6,45%
Dermatite atópica	2	0	2	6,45%
Dermatite por contacto	2	0	2	6,45%
Dermatofitose	1	2	3	9,68%

Fístula perianal	1	1	2	6,45%
Higroma de decúbito	3	0	3	9,68%
Impetigo	1	0	1	3,23%
Intertrigo	3	0	3	9,68%
Lacerações cutâneas	4	0	4	12,90%
Nódulos cutâneos	3	2	5	16,13%
Vasculite cutânea	1	0	1	3,23%
Total	24	7	31	100

2.3.5 Ortopedia e Traumatologia

Na especialidade de ortopedia e traumatologia, como visualizamos na Tabela 8, as afeções mais observadas foram a osteoartrite com uma Fr (%) de 39,22%, seguida da rotura do ligamento cruzado cranial e espondilose, ambas com uma Fr (%) de 13,73%. Mais uma vez, a espécie canina foi a mais representada, sobretudo devido a casos de osteoartrite, displasia da anca e de rotura do ligamento cruzado cranial.

Nesta especialidade, o estagiário acompanhou o médico ortopedista do OneVet Group, na área de Lisboa. Os 51 casos observados foram em regime de consultas, internamento, urgências ou pós-cirúrgico, visto que as cirurgias ortopédicas eram realizadas noutra hospital. Ainda assim, permitiu o desenvolvimento de competências na realização do exame ortopédico, execução e interpretação de radiografias e TC, bem como o tratamento conservador de algumas doenças ortopédicas.

Tabela 8: Distribuição da casuística da área de ortopedia e traumatologia.

Ortopedia e Traumatologia		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Displasia	Anca	5	0	5	9,80%
	Cotovelo	1	0	1	1,96%
	Espondilose	5	2	7	13,73%
	Fémur	1	0	1	1,96%
Fratura	Mandíbula	0	1	1	1,96%
	Pélvis	0	2	2	3,92%
	Tíbia/Fíbula	0	1	1	1,96%
	Coxofemoral	1	0	1	1,96%
Luxação	Patela	2	0	2	3,92%
	Sacroilíaca	0	2	2	3,92%
Osteoartrite		16	4	20	39,22%

Panosteíte	1	0	1	1,96%
Rotura de ligamento cruzado cranial	7	0	7	13,73%
Total	39	12	51	100

2.3.6 Endocrinologia

Na área de endocrinologia, destacam-se a diabetes *mellitus* com Fr (%) de 46,43% e o hiperadrenocorticismo (doença de Cushing) com uma Fr (%) de 21,43%, num total de 28 casos acompanhados (Tabela 9).

Esta especialidade foi particularmente interessante, devido ao caráter desafiante que o diagnóstico e o acompanhamento de algumas doenças endócrinas proporciona. Foram realizadas várias provas específicas, como por exemplo o doseamento da tiroxina (T4) e hormona estimulante da tiroide (TSH), teste de estimulação da hormona adrenocorticotrópica (ACTH), doseamento do cortisol sérico basal, curvas de glicemia e o teste de supressão com baixas doses de dexametasona. Para além de testes de diagnóstico, alguns deles são, igualmente, testes de monitorização e resposta da doença à terapêutica instituída.

Tabela 9: Distribuição da casuística da área de endocrinologia.

Endocrinologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Diabetes mellitus	6	7	13	46,43%
Hiperadrenocorticismo	6	0	6	21,43%
Hipertiroidismo	0	5	5	17,86%
Hipotiroidismo	4	0	4	14,29%
Total	16	12	28	100

2.3.7 Pneumologia

Na casuística de pneumologia, a afeção mais acompanhada foi o edema pulmonar, predominantemente em felinos, com uma Fr (%) de 25,93%, seguida da efusão pleural e bronquite crónica, ambas com uma Fr (%) de 22,22%, num total de 27 casos (Tabela 10). Nesta área destaca-se a maioria dos casos na espécie felina. Os casos de animais dispneicos serão referidos, posteriormente, na área da urgência médica.

O acompanhamento destes casos permitiu ao estagiário desenvolver capacidades ao nível da auscultação e distinção de ruídos respiratórios, a realização e interpretação de radiografias com os diferentes padrões pulmonares, assim como TC, toracocenteses e lavagens bronco-alveolares.

Tabela 10: Distribuição da casuística da área de pneumologia.

Pneumologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Bronquite crónica	2	4	6	22,22%
Edema pulmonar	1	6	7	25,93%
Efusão pleural	2	4	6	22,22%
Piotórax	0	1	1	3,70%
Pneumonia bacteriana	2	1	3	11,11%
Pneumonia por aspiração	1	0	1	3,70%
Pneumotórax	1	0	1	3,70%
Traqueíte	2	0	2	7,41%
Total	11	16	27	100

2.3.8 Infeciologia

Na área de infeciologia, as doenças mais frequentes foram o Vírus da Imunodeficiência Felina (FIV) com uma Fr (%) de 31,82%, seguindo-se o Vírus da Leucemia Felina (FeLV) com uma Fr (%) de 22,73% e a Leishmaniose canina com uma Fr (%) de 13,64%, num total de 22 casos (Tabela 11).

O HVB é um hospital de referência na área da oncologia, por isso grande parte dos animais são imunodeprimidos. Geralmente, em caso de necessidade de internamento, os animais com doenças infecciosas são reencaminhados para outro CAMV, o que não permitiu o acompanhamento e interpretação de alguns casos até ao fim.

Ainda assim, o acompanhamento dos casos permitiu ao estagiário consolidar conhecimentos ao nível do diagnóstico das doenças infecciosas, assim como as regras e cuidados a ter com os animais infetados, de modo a evitar a contaminação de outros animais e instalações.

Tabela 11: Distribuição da casuística da área de infeciologia.

Infeciologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Leishmaniose	3	0	3	13,64%
Micoplasmose	0	1	1	4,55%
Panleucopenia	0	2	2	9,09%
Parvovirose	0	2	2	9,09%
Peritonite infecciosa felina	0	2	2	9,09%
Vírus da imunodeficiência felina	0	7	7	31,82%
Vírus da leucemia felina	0	5	5	22,73%
Total	3	19	22	100

2.3.9 Cardiologia

Na especialidade de cardiologia, como demonstra a Tabela 11, a doença degenerativa valvular foi a doença mais acompanhada, com uma Fr (%) de 52,94%, seguida da cardiomiopatia dilatada com uma Fr (%) de 17,64%, ambas com predominância da espécie canina. Na espécie felina, destaca-se a cardiomiopatia hipertrófica com uma Fr (%) de 17,65%.

Nesta especialidade os casos foram acompanhados pelo médico especialista externo, que realizava consultas de especialidade e ecocardiografias. O acompanhamento destes casos permitiu ao estagiário o aprofundamento de conhecimentos ao nível da auscultação cardíaca, observação e realização de eletrocardiogramas, ecocardiografias, radiografias e medições da pressão arterial. O estagiário observou ainda uma pericardiocentese ecoguiada e duas abdominocenteses por acumulação de líquido livre abdominal, de origem cardíaca.

Tabela 12: Distribuição da casuística da área de cardiologia.

Cardiologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Doença degenerativa valvular	8	1	9	52,94%
Cardiomiopatia dilatada	3	0	3	17,65%
Cardiomiopatia hipertrófica	0	3	3	17,65%
Efusão pericárdica	1	1	2	11,76%
Total	12	5	17	100

2.3.10 Odontoestomatologia

Na área de odontoestomatologia, o estagiário acompanhou um total de 24 casos, 12 na espécie felina e 12 na espécie canina (Tabela 13). A afeção mais assistida foi a doença periodontal com uma Fr (%) de 75%, seguida pela gengivoestomatite crónica com uma Fr (%) de 16,67%, e pela hiperplasia gengival com uma Fr (%) de 8,33%.

O acompanhamento destes casos permitiu o desenvolvimento de competências ao nível do exame físico, nomeadamente à cavidade oral. Foi possível a obtenção de conhecimentos relativos à terapêutica médica e alimentar, bem como à terapêutica cirúrgica adequada a cada caso, por exemplo com a realização de destartarizações e extrações dentárias.

Tabela 13: Distribuição da casuística da área de odontoestomatologia.

Odontoestomatologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Doença periodontal	10	8	18	75,00%
Gengivoestomatite crónica	0	4	4	16,67%
Hiperplasia gengival	2	0	2	8,33%
Total	12	12	24	100

2.3.11 Oftalmologia

Na especialidade de oftalmologia, verifica-se que a afeção mais observada foi a conjuntivite com uma Fr (%) de 38,89%, seguida das cataratas com uma Fr (%) de 16,67%, e das massas retrobulbares e úlceras de córnea, ambas com uma Fr (%) de 11,11%, num total de 18 casos (Tabela 14). De salientar, a predominância dos vários casos na espécie canina, enquanto na espécie felina apenas foram assistidos casos de conjuntivite.

Tal como aconteceu na área de cardiologia, os casos foram acompanhados por um médico especialista externo, em regime de consulta de especialidade. Ainda assim, esta especialidade permitiu ao estagiário a visualização e realização do exame oftalmológico e exames complementares oftalmológicos, como o teste de fluoresceína, o teste de Schirmer e tonometria, bem como a interpretação dos sinais clínicos associados a cada afeção. Adicionalmente, assistiu e realizou exames complementares de diagnóstico como a ecografia ocular e a TC.

Tabela 14: Distribuição da casuística da área de oftalmologia.

Oftalmologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Catarata	3	0	3	16,67%
Conjuntivite	3	4	7	38,89%
Descemetocel	1	0	1	5,56%
Distiquíase	1	0	1	5,56%
Massa retrobulbar	2	0	2	11,11%
Protrusão da 3ª pálpebra	1	0	1	5,56%
Queratoconjuntivite seca	1	0	1	5,56%
Úlcera de córnea	2	0	2	11,11%
Total	14	4	18	100

2.3.12 Urgências

Nesta especialidade, as urgências médicas mais assistidas foram a dispneia e a obstrução urinária, ambas com uma Fr (%) de 21,43%, seguindo-se o hemoabdómen com uma Fr (%) de 14,29%, num total de 14 casos (Tabela 15).

O acompanhamento destes casos proporcionou desenvolver raciocínio clínico e executar procedimentos médicos de forma mais célere, já que se trata de situações que comprometem a vida do animal. Adicionalmente, permitiu a realização de exames complementares de diagnóstico radiográfico e ecográfico, pelo método A-FAST (*Abdominal Focus Assessment with Sonography for Trauma*) e T-FAST (*Thoracic Focus Assessment with Sonography for Trauma*). Adicionalmente, permitiu a observação e auxílio em cirurgias de urgência, como a correção do volvo intestinal, da torção esplénica e esplenectomia, este último nos casos de hemoabdómen por rutura de hemangiossarcoma esplénico.

Tabela 15: Distribuição da casuística da área de urgências.

Urgências	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Choque hipovolémico	1	0	1	7,14%
Dispneia	0	3	3	21,43%
Golpe de calor	1	0	1	7,14%
Hemoabdómen	2	0	2	14,29%
Obstrução urinária	0	3	3	21,43%
<i>Status epilepticus</i>	1	0	1	7,14%
Torção esplénica	1	0	1	7,14%
Uroabdómen	1	0	1	7,14%
Volvo intestinal	1	0	1	7,14%
Total	8	6	14	100

2.3.13 Neurologia

A especialidade de neurologia foi das áreas menos acompanhada, com apenas oito casos que correspondem a uma Fr (%) de 1,54% da casuística total observada. De acordo com a Tabela 16, as doenças mais acompanhadas foram as hérnias disciais e as massas intracranianas, ambas com uma Fr (%) de 37,50%. De salientar, que o caso de *status epilepticus* foi descrito na área das urgências médicas.

O acompanhamento dos casos neurológicos proporcionou o desenvolvimento de competências na realização do exame neurológico, bem como aprofundar os conhecimentos relativos à neurolocalização. A colaboração em TC permitiu a visualização e interpretação da anatomia e alterações patológicas no sistema nervoso (crânio e coluna vertebral).

Tabela 16: Distribuição da casuística da área de neurologia.

Neurologia	Caninos (Fi)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Hérnias discais	3	0	3	37,50%
Massa intracraniana	2	1	3	37,50%
Meningoencefalite	1	0	1	12,50%
Síndrome vestibular periférico	1	0	1	12,50%
Total	7	1	8	100

2.3.14 Otorrinolaringologia

Na especialidade de otorrinolaringologia, ao consultar a Tabela 17, verifica-se que a otite externa de origem fúngica apresenta uma Fr (%) de 45,45% e de origem bacteriana uma Fr (%) de 36,36%, correspondendo à grande maioria dos casos nesta área.

O acompanhamento dos casos nesta área permitiu a prática do exame otológico e a realização de citologias auriculares, dos protocolos de coloração, bem como visualização e interpretação das mesmas, proporcionando ao estagiário o aprofundamento dos conhecimentos na área da citologia. Por outro lado, foi possível o seguimento do tratamento do otohematoma e o auxílio numa rinoscopia.

Tabela 17: Distribuição da casuística da área de otorrinolaringologia.

Otorrinolaringologia		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Otite externa	Bacteriana	4	0	4	36,36%
	Fúngica	4	1	5	45,45%
Otohematoma		1	0	1	9,09%
Rinite		0	1	1	9,09%
Total		9	2	11	100

2.3.15 Reprodução/Ginecologia/Andrologia

Na especialidade de reprodução, ginecologia e andrologia, a piómetra e a hiperplasia prostática benigna foram as afeções mais acompanhadas, ambas com uma Fr (%) de 30%, seguidas do criptorquidismo com uma Fr (%) de 20%, num total de dez casos (Tabela 18). A maioria dos casos acompanhados foram na espécie canina, com exceção de um caso de piómetra acompanhado numa gata.

O acompanhamento desta especialidade proporcionou o aprofundamento de conhecimentos da anatomia reprodutiva de machos e fêmeas, de diagnóstico e tratamento das diversas patologias. Adicionalmente, o estagiário observou e realizou exames físicos direcionados ao aparelho reprodutor, citologias vaginais, radiografias e ecografias.

Tabela 18: Distribuição da casuística da área de reprodução, ginecologia e andrologia.

Reprodução, Ginecologia e Andrologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Criptorquidismo	2	0	2	20,00%
Epididimite	1	0	1	10,00%
Hiperplasia prostática benigna	3	0	3	30,00%
Mamite	1	0	1	10,00%
Piômetra	2	1	3	30,00%
Total	9	1	10	100

2.3.16 Toxicologia

A toxicologia foi das áreas menos acompanhadas, com uma Fr (%) de 0,77% da casuística da clínica médica. De acordo com a Tabela 19, ocorreram quatro casos de intoxicação, cada um com um agente diferente, correspondendo a cada uma Fr (%) de 25% (Tabela 19).

O acompanhamento destes casos permitiu perceber a importância da anamnese para identificar o agente tóxico o mais precoce possível, de maneira a instituir o plano terapêutico mais adequado consoante a etiologia.

Tabela 19: Distribuição da casuística da área de toxicologia.

Toxicologia	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cannabis	1	0	1	25%
Chocolate	1	0	1	25%
Dicumarínicos	1	0	1	25%
Permetrinas	0	1	1	25%
Total	3	1	4	100

2.3.17 Imunologia e Alergologia

A especialidade de imunologia e alergologia foi a menos observada, com apenas três casos, correspondendo a uma Fr (%) de 0,58% da casuística da clínica médica. Os dois casos de angioedema secundários a picadas de inseto contemplam uma Fr (%) de 66,67%, seguidos da urticária com uma Fr (%) de 33,33% (Tabela 20).

O acompanhamento destes casos permitiu ao estagiário a visualização e interpretação dos sinais clínicos associados a cada doença, assim como a elaboração da terapêutica sintomática adequada.

Tabela 20: Distribuição da casuística da área de imunologia/ alergologia

Imunologia/Alergologia		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Angioedema	Secundário a picada de inseto	2	0	2	66,67%
Urticária		1	0	1	33,33%
Total		3	0	3	100

2.3.18 Procedimentos Médicos

Na Tabela 21 estão descritos os procedimentos médicos, considerados de maior relevância, assistidos e algumas vezes realizados pelo estagiário, num total de 74 procedimentos. Não foram referidos alguns procedimentos como as colheitas de sangue, por serem realizadas inúmeras vezes ao longo do estágio.

Os procedimentos mais assistidos e/ou realizados foram a cistocentese com uma Fr (%) de 33,8%, seguida da colocação de sonda nasogástrica e abdominocentese, ambos com uma Fr (%) de 10,8% (Tabela 21).

A observação e realização destes procedimentos médicos permitiu melhorar a capacidade prática de execução dos exames. Estes são essenciais para o diagnóstico, no caso de análise dos líquidos após colheita, de abdomino, cisto, pericardio e toracocentese. Assim como nos tratamentos, no caso das transfusões sanguíneas, quimio e eletroquimioterapia, algaliações em casos de obstrução urinária ou colocação de sonda nasogástrica essencial para alimentação de doentes críticos.

Tabela 21: Distribuição dos procedimentos médicos assistidos e realizados.

Procedimentos médicos	Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Abdominocentese	6	2	8	10,8%
Algaliação	1	5	6	8,1%
Cistocentese	11	14	25	33,8%
Colocação de sonda nasogástrica	3	5	8	10,8%
Eletroquimioterapia	2	3	5	6,8%
Pericardiocentese	1	1	2	2,7%
Toracocentese	1	4	5	6,8%
Transfusão de sangue	4	5	9	12,2%
Tratamento quimioterápico	6	0	6	8,1%
Total	35	39	74	100

2.3.19 Exames complementares de diagnóstico

Na Tabela 22 estão registados os exames complementares de diagnóstico, assistidos e algumas vezes realizados pelo estagiário, num total de 305 exames. Tal como nos procedimentos médicos, por serem realizados inúmeras vezes ao longo do dia, não foram referidos exames complementares como hematócritos, hemogramas, análises bioquímicas, ionogramas, urianálises, citologias e testes rápidos de diagnóstico de agentes infecciosos.

Os exames mais realizados foram a ecografia com uma Fr (%) de 34,43%, seguindo-se a radiografia com uma Fr (%) de 26,56%, e a PAAF com uma Fr (%) de 11,80%. Apesar de menos frequentes, foi possível acompanhar outras técnicas, nomeadamente ecocardiografias e TC. A observação e a execução de alguns destes exames complementares de diagnóstico permitiram melhorar a capacidade prática de execução dos exames e identificação de estruturas e alterações anatómicas, sobretudo na área da imagiologia. Adicionalmente, a realização de TC proporcionou o aprofundamento dos conhecimentos na área de anestesiologia e a prática de entubações endotraqueais.

Tabela 22: Distribuição dos exames complementares de diagnóstico assistidos e realizados.

Exames Complementares de Diagnóstico		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Cardiologia	Ecocardiografia	12	7	19	6,23%
	Eletrocardiograma	6	3	9	2,95%
	Ecografia	67	38	105	34,43%
Imagiologia	Radiografia	43	38	81	26,56%
	Tomografia Computadorizada	19	10	29	9,51%
	Ecografia ocular	3	0	3	0,98%
Oftalmologia	Medição da pressão intraocular com Tonómetro	6	0	6	1,97%
	Teste de fluoresceína e Teste de Schirmer	13	4	17	5,57%
	Punção Aspirativa por Agulha Fina	22	14	36	11,80%
Total		191	114	305	100

2.4 Distribuição casuística da clínica cirúrgica

A casuística da clínica cirúrgica, apenas foi dividida em cirurgia geral e tecidos moles, uma vez que, o cirurgião ortopédico realizava as cirurgias noutra hospital do grupo OneVet,

nomeadamente o Hospital Veterinário de Cascais, à exceção de uma amputação de membro que foi assistida e auxiliada pelo estagiário. Assim, não foi possível ter uma maior participação em outros procedimentos ortopédicos ou neurocirurgias, apesar de acompanhar as consultas de especialidade e o planeamento das cirurgias.

2.4.1 Cirurgia geral e tecidos moles

Na Tabela 23 estão descritos os procedimentos cirúrgicos que foram assistidos, auxiliados e alguns realizados pelo estagiário, sob a supervisão do médico veterinário cirurgião responsável. Os procedimentos cirúrgicos mais acompanhados foram as orquiectomias com uma Fr (%) de 23,08%, seguido das OVH com uma Fr (%) de 16,67% e das nodulectomias com uma Fr (%) de 10,26%.

No total foram acompanhados 78 procedimentos que envolveram a componente cirúrgica, seja ela diagnóstica, terapêutica, preventiva ou paliativa.

Tabela 23: Distribuição da casuística da área de cirurgia geral e tecidos moles.

Cirurgia geral e tecidos moles		Caninos (Fip)	Felinos (Fip)	Fi	Fr (%)
Biópsia	Biópsia	4	2	6	7,69%
Cirurgia da bexiga	Cistorrafia	1	0	1	1,28%
Cirurgia da pele e tecidos anexos	Nodulectomias	6	2	8	10,26%
Cirurgia dentária	Destartarização	3	1	4	5,13%
	Extração dentária	2	1	3	3,85%
Cirurgia do estômago	Gastropexia preventiva	1	0	1	1,28%
	Gastrotomia	1	0	1	1,28%
Cirurgia do Intestino Delgado	Enterectomia	3	0	3	3,85%
	Enterotomia	1	0	1	1,28%
	Resolução de Volvo intestinal	1	0	1	1,28%
Cirurgia do pavilhão auricular	Exérese do pavilhão auricular	0	2	2	2,56%
Cirurgia do sistema hemolinfático	Esplenectomia	3	0	3	3,85%
Cirurgia do sistema reprodutor	Mastectomia	2	2	4	5,13%
	Orquiectomia	6	12	18	23,08%
	Ovariohisterectomia	6	7	13	16,67%

Cirurgia do sistema respiratório inferior	Lobectomia pulmonar	0	2	2	2,56%
Cirurgia do sistema músculo-esquelético	Amputação de membro	2	0	2	2,56%
Endoscopia	Diagnóstica	2	1	3	3,85%
	Remoção corpo estranho	0	1	1	1,28%
Rinoscopia	Rinoscopia	1	0	1	1,28%
Total		45	33	78	100

O acompanhamento dos procedimentos cirúrgicos permitiu não só a aprendizagem de diferentes conceitos e abordagens relacionados com a cirurgia, como também a participação nos diferentes procedimentos pré-, intra e pós-cirúrgicos. O estagiário colaborava na preparação do animal para a cirurgia (realização de análises pré-cirúrgicas, colocação de cateter e preparação asséptica do campo cirúrgico), na monitorização anestésica do paciente e teve a oportunidade de praticar algumas orquiectomias, OVH, nodulectomias, destartarizações e suturas de pele, com a supervisão do cirurgião responsável. Adicionalmente, assistiu e auxiliou ainda em procedimentos mais complexos como enterectomias, esplenectomias, resolução de volvo intestinal, amputação de membro, mastectomias, gastropexia preventiva e endoscopias.

Revisão bibliográfica

1. Introdução

Os agentes patogênicos transmitidos por vetores surgem no panorama mundial cada vez com maior relevância devido à sua frequência, morbidade e sobretudo, pela sua dimensão zoonótica.¹

Nos seres humanos, entre as doenças parasitárias transmitidas por vetores, a Leishmaniose é a terceira mais importante a seguir à Malária e à Filaríase linfática.² A Leishmaniose humana é uma das doenças tropicais mais negligenciadas, com um grande impacto na saúde pública. De acordo com a Organização Mundial da Saúde, a doença é endêmica em mais de 90 países, com mais de mil milhões de pessoas que vivem em áreas endêmicas em risco de contrair a doença. As incidências anuais estimadas correspondem a 300 mil novos casos de Leishmaniose visceral e mais de um milhão de novos casos de Leishmaniose cutânea.³

A Leishmaniose é um complexo de doenças, a maioria de carácter zoonótico, provocada por várias espécies de protozoários do género *Leishmania*. Existem espécies de *Leishmania* que são transmitidas pelo vetor de animais para humanos (zoonóticas) e outras que são transmitidas entre humanos (antroponóticas), com uma complexa variedade de hospedeiros.^{4,5} Na bacia Mediterrânica as duas espécies zoonóticas presentes são *L. infantum* e *L. major* e as antroponóticas são *L. donovani* e *L. tropica*.^{6,7}

Existem três manifestações clínicas da doença: a Leishmaniose visceral, mucocutânea e cutânea. A Leishmaniose visceral (também conhecida como Calazar) é a forma mais grave da doença, afeta os órgãos internos (medula óssea, fígado, baço) e é fatal na maioria dos casos, se não for tratada. As espécies responsáveis por estas manifestações clínicas pertencem ao complexo *L. donovani* onde se incluem *L. infantum*, *L. donovani* e *L. chagasi*. A Leishmaniose cutânea é a forma clínica mais frequente, causando principalmente lesões ulcerativas de cura espontânea, que deixam cicatrizes permanente. Esta apresentação clínica é provocada pelas espécies *L. major*, *L. tropica*, *L. mexicana* e *L. amazonensis*. A Leishmaniose mucocutânea pode levar à destruição parcial ou completa das membranas mucosas do nariz e da boca, podendo causar graves incapacidades e é causada pelas espécies *L. braziliensis* e *L. guyanensis*.^{3,8,9,10,11}

No cão, a Leishmaniose apresenta uma forma clínica distinta, combinando tanto a forma cutânea como a forma visceral, denominada viscerocutânea.¹² A doença não tem cura parasitológica, mas o tratamento é importante no controlo dos sinais clínicos e no prolongamento da vida do animal, uma vez que este é muito mais suscetível à infeção e a desenvolver doença do que o Homem.^{2,13}

O cão doméstico (*Canis lupus familiaris*) é o principal hospedeiro reservatório de *L. infantum*.^{14,15} A Leishmaniose é considerada uma das zoonoses com maior mortalidade canina

a nível mundial.² Os cães quando infetados podem ser uma potencial fonte de contaminação para outros animais tanto domésticos como silvestres, e para a população humana. Estima-se que, em Portugal, Espanha, Itália e França, pelo menos 2,5 milhões de cães estão infetados.^{11,16}

A Leishmaniose é uma doença dinâmica e as circunstâncias de transmissão estão em constante mudança. As alterações climáticas e do estilo de vida dos seres humanos proporcionam alterações na epidemiologia da doença, em particular, a ecologia e distribuição dos flebotomos está diretamente relacionada com o clima e com as alterações no ecossistema.^{17,18,19,20}

2. Etiologia

A Leishmaniose canina é causada por *L. infantum*, um parasita protozoário intracelular obrigatório.^{4,5,11} Pertence ao Reino Protista, Filo Euglenozoa, Classe Kinetoplastida, Subclasse Metakinetoplastina, Ordem Trypanosomatida, Família Trypanosomatidae, Subfamília Leishmaniinae e Género *Leishmania*.^{20,21}

O género *Leishmania* é classificado em três subgéneros: *Leishmania*, *Viannia* e *Sauroleishmania*. Os organismos do subgénero *Viannia*, como *L. braziliensis* e *L. peruviana*, replicam-se no intestino posterior do vetor, enquanto outras espécies de *Leishmania* (*L. infantum*, *L. donovani*, *L. tropica*, *L. major*, *L. mexicana*) replicam-se no intestino médio.^{11,22} As espécies do subgénero *Sauroleishmania* são parasitas de répteis e não parecem ser patogénicas para os mamíferos, apesar de já ter sido documentada infeção em humanos, cães e gatos.²³

Os parasitas do género *Leishmania* são divididos em dois grandes grupos, quanto à sua distribuição geográfica, vetores e manifestações clínicas no homem. Nas espécies do Velho Mundo (Europa, África e Ásia) incluem-se *L. infantum*, *L. donovani*, *L. major*, e *L. tropica*, e o vetor biológico são dípteros do género *Phlebotomus*. Estas espécies são responsáveis pelas formas visceral e cutânea. *L. infantum* é o agente mais comum e distribuído mundialmente em países do Mediterrâneo, Sul da Ásia, África Ocidental e América Latina. *L. major* e *L. tropica* encontram-se principalmente em África e Médio Oriente. *L. donovani* afeta principalmente os humanos e está presente na Índia, Bangladesh e África Ocidental. Nas espécies do Novo Mundo (continente Americano) incluem-se *L. chagasi* (sinónimo de *L. infantum* no Velho Mundo), *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. naiffi*, *L. braziliensis* e *L. guyanensis* e são transmitidos por dípteros do género *Lutzomyia*. As apresentações clínicas mais comuns são a cutânea e mucocutânea.^{5,11,12,24,25} Com base em análises genéticas, *L. chagasi* é considerada a mesma espécie que *L. infantum*, que se acredita ter sido introduzida no Novo Mundo após a chegada dos colonizadores europeus.¹¹ *L. infantum* é, provavelmente, descendente de *L. donovani* que emergiu na África Ocidental.²⁴

Nem todas as espécies têm importância médica, cerca de 20 são consideradas patogênicas para o homem e apesar do cão ser o hospedeiro primário e principal reservatório de *L. infantum*, outras espécies foram detetadas em cães em diferentes regiões geográficas, incluindo *L. donovani*, *L. tropica*, *L. major*, *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. peruviana*, *L. colombiensis* e *L. panamensis*.¹¹

3. Formas parasitárias

Os parasitas do género *Leishmania* apresentam duas formas morfológicas: amastigota e promastigota. A arquitetura celular básica é conservada entre as duas formas celulares. Cada célula contém núcleo, cinetoplasto, estrutura que possui ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial, ligado ao corpo basal, a partir do qual se forma o flagelo. Na base do flagelo há uma invaginação da membrana celular que forma uma estrutura chamada de bolsa flagelar, importante nestes parasitas, pois é o único local de endo e exocitose, entre o parasita e a célula hospedeira.^{5,11,26}

As formas amastigotas, demonstradas na Figura 1A e 1B, são estruturas ovóides ou redondas, de 2,5 a 5 µm de comprimento e 1,5 a 2 µm de largura. São constituídas por um núcleo central, um cinetoplasto em forma de bastão e um flagelo rudimentar, que podem ser visíveis através de uma coloração Leishman, Giemsa ou Wright. Estas formas são encontradas no interior das células do sistema mononuclear fagocitário do hospedeiro vertebrado e multiplicam-se por divisão binária até à rutura da célula hospedeira onde se libertam e vão infetar novas células. As formas promastigotas, representadas na Figura 1A e 1C, caracterizam-se por serem estruturas alongadas e móveis, possuem um flagelo comprido, na extremidade anterior do corpo, de 15 a 28 µm de comprimento, com corpo de 15 a 25 µm de comprimento e 1.5 a 3.5 µm de largura. Estas são encontradas no intestino e válvula estomodeal do hospedeiro invertebrado.^{11,22,26,27}

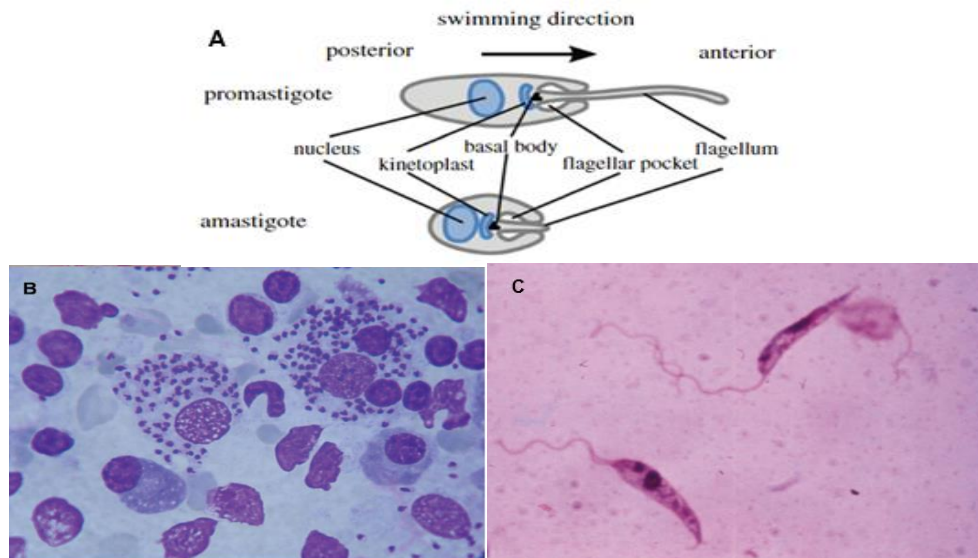


Figura 1: Formas parasitárias. **A-** Comparação da morfologia dos promastigotas e amastigotas alinhados ao longo do eixo ântero-posterior. Retirada de Sunter e Gull, 2017 **B-** Formas amastigotas intra e extracelulares num aspirado de linfonodo reativo de um cão com leishmaniose clínica. Retirada de Solano-Gallego et al., 2011. **C-** Formas promastigotas de *Leishmania* cultivadas em cultura. Observa-se núcleos arredondados e cinetoplastos em forma de bastão (coloração de May-Grunwald-Giemsa, $\times 1000$) (Retirada de Baneth et al., 2022).

4. Ciclo de vida

As espécies de *Leishmania* apresentam um ciclo de vida heteroxeno, ou seja, dependem de diferentes hospedeiros para completar o seu ciclo biológico, como representado na Figura 2.^{5,21,28}

O ciclo tem início quando uma fêmea de flebótomo infetada se alimenta do sangue de um hospedeiro vertebrado. Durante a alimentação, as formas promastigotas metacíclicas, a forma infetante do parasita, são inoculadas na pele do hospedeiro. Uma vez dentro do hospedeiro, as formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema fagocítico mononuclear, nomeadamente os macrófagos. Dentro dessas células, ocorre uma transformação das promastigotas, perdem o flagelo e diferenciam-se em amastigotas. As formas amastigotas multiplicam-se por divisão binária dentro dos vacúolos parasitóforos. Após o período de multiplicação, os amastigotas são libertados quando as células hospedeiras se rompem. Estas formas vão infetar novas células e disseminar-se principalmente via linfática, a partir do local da picada até o nódulo linfático drenante e posteriormente para órgãos hemolinfáticos.^{5,10,26,29}

Quando as fêmeas realizam uma nova refeição, ingerem as formas amastigotas presentes nas células infetadas ou as formas livres em circulação. No interior do sistema digestivo do vetor, ocorre a transformação dos amastigotas em promastigotas procíclicas. Após esta transformação, as formas promastigotas procíclicas, com capacidade de movimento, desenvolvem-se no intestino do vetor, onde passam a promastigotas metacíclicas e migram, posteriormente, para a região anterior do vetor. Quando ocorre uma nova alimentação, os promastigotas metacíclicos são inoculados juntamente com a saliva do inseto na pele de um novo hospedeiro, reiniciando assim o ciclo de vida do parasita.^{5,10,17,26,29}

O desenvolvimento do parasita no vetor depende da temperatura e dura cerca de sete a 14 dias, com temperaturas acima de 18°C.¹⁷

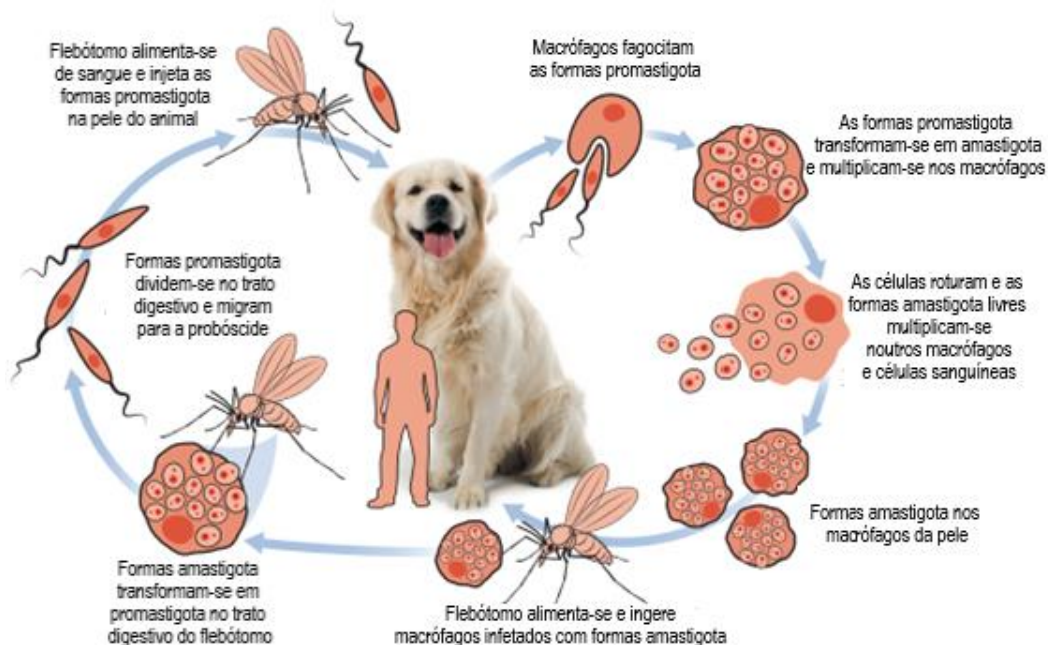


Figura 2: Esquema representativo do ciclo de vida de *L. infantum* (Adaptado de ESCCAP, 2023).

5. Vetor biológico

O vetor que transmite o parasita *Leishmania* pertence ao reino Animalia, filo Arthropoda, classe Insecta, ordem Diptera, subordem Nematocera, família Psychodidae e subfamília Phlebotominae.^{10,21} Entre as mais de 800 espécies de flebotomíneos, apenas 98 são potenciais ou comprovadamente vetores naturais de *Leishmania* spp., e por isso, com importância epidemiológica.⁷ Os vetores comprovados de *L. infantum* existentes em Portugal são o *Phlebotomus perniciosus* e o *Phlebotomus ariasi*.^{30,31}

Os flebótomos são os únicos artrópodes adaptados para transmissão biológica de *Leishmania* spp.^{2,32} Algumas espécies de flebótomos transmitem exclusivamente apenas uma espécie de *Leishmania*, enquanto outras são vetores para múltiplas espécies.³³ A capacidade dos flebótomos atuarem como vetores está relacionada com a resistência do parasita à ação das enzimas digestivas do flebótomo, à presença de recetores no intestino apropriados aos lipofosfoglicanos de superfície dos promastigotas, e à capacidade do parasita se desenvolver no vetor.³⁴

Os flebótomos são holometabólicos, ou seja, passam por um processo de metamorfose completa, que inclui quatro estádios de desenvolvimento: ovo, larva (quatro estádios), pupa e adulto. As formas imaturas desenvolvem-se em meio terrestre, já o adulto vive em meio aéreo.

Os adultos (Figura 3A e 3B) são pequenos e raramente excedem 3,5 mm de comprimento corporal. São cobertos por pelos densos e mantêm suas asas em forma de "V" característica sobre as costas, quando em repouso. A sua coloração varia de castanha clara a negra. Possuem um aparelho bucal comprido. Apresentam antenas e pernas longas e finas.^{7,32,35,36}

Ao contrário dos mosquitos, o voo dos flebótomos é curto, silencioso e mais lento (inferior a 1m/s), o que não permite atingirem grandes distâncias, raramente dispersando-se mais de 1 km dos locais de reprodução. Contudo a extensão do voo pode ser superior, consoante as espécies e a velocidade do vento. Assim, as atividades adultas, normalmente, são restritas à proximidade dos locais de reprodução.^{7,10,32}

Quer as fêmeas (Figura 3A), quer os machos (Figura 3B), alimentam-se de açúcares e secreções vegetais e de insetos. Adicionalmente, as fêmeas são hematófagas, e por isso potencialmente infetantes. Requerem pelo menos uma refeição sanguínea para a produção de ovos, embora haja referências de algumas espécies que conseguem produzir ovos viáveis sem precisar de realizar hematofagia.³⁷ Alimentam-se de vertebrados ao seu redor, sobretudo do anoitecer ao amanhecer, embora possam também alimentar-se durante o dia, se incomodados. Os flebótomos têm locais preferenciais para realizar as suas refeições, nomeadamente o focinho, pálpebras, pavilhão auricular, dorso, coxas e nos dígitos.^{24,32}



Figura 3: Fotografias de flebótomos. **A:** Flebótomo fêmea ingurgitada. **B:** Flebótomo macho (Imagens gentilmente cedidas pela Doutora Carla Maia).

Vivem em vários tipos de habitats, incluindo áreas rurais, periurbanas e urbanas, desde lugares abaixo do nível do mar, até lugares a mais de três mil metros de altitude. Os flebótomos escolhem locais de repouso, como ambientes frescos, húmidos e escuros, tais como casas, fendas nas paredes, estábulos, grutas, rochas, solo, áreas de densa vegetação, tocas de roedores e outros mamíferos e ninhos de aves.^{10,32}

A sua atividade está dependente das condições de humidade e temperatura. As condições de temperatura ideais, são sensivelmente entre os 15 e os 28°C e humidade relativa elevada, não suportando condições meteorológicas extremas, como chuva e vento fortes.^{2,17} Assim, a atividade dos mesmos varia sazonalmente, sendo nas regiões temperadas, mais ativos durante as estações quentes do ano, como a Primavera, Verão e Outono, com picos de atividade

em julho e agosto. Na América Latina, algumas espécies de flebótomos estão ativas durante todo o ano.^{32,38}

6. Hospedeiros vertebrados

Os hospedeiros reservatórios desempenham um papel crucial na manutenção do ciclo de transmissão de *Leishmania* spp.⁸ Os hospedeiros reservatórios das espécies zoonóticas, são animais selvagens ou domésticos, e das espécies antroponóticas é o ser humano. Na Europa, o cão é o principal reservatório de *L. infantum*.^{11,30,39} Como bons hospedeiros reservatórios, os cães podem permanecer infectados de forma crônica e ser fonte de infecção para os flebótomos vetores.²³

Para além dos cães, há estudos que relatam a infecção de outros animais domésticos e selvagens por *Leishmania* spp. O que pode ter consequências importantes para o desenvolvimento de programas no contexto "One Health", no caso de possível transmissão a humanos a partir de reservatórios que não estão identificados.³⁹

Nas áreas urbanas e periurbanas, os gatos parecem desempenhar um papel cada vez mais importante na epidemiologia da Leishmaniose, atuando não só como hospedeiros acidentais, mas também como reservatórios de *Leishmania* spp. É comum encontrar infecções subclínicas e crônicas em gatos, especialmente em áreas endêmicas.^{40,41,42} O grande número de animais, a proximidade destes com os humanos e a falta de ectoparasitocidas eficazes contra as picadas de flebótomos, principalmente quando a maioria dos cães está protegida, parecem contribuir para esse papel. Para além do cão e do gato, há cada vez mais relatos de infecção e doença em cavalos, podendo estes atuar como potenciais hospedeiros reservatórios. Contudo, o seu papel epidemiológico ainda não está bem definido.^{17,39,43}

Na manutenção do ciclo silvático de *Leishmania* spp., no continente europeu, já foi confirmado o potencial de alguns mamíferos atuarem como hospedeiros reservatórios, como é o caso de alguns roedores (por exemplo ratos e esquilos) e lagomorfos (lebres e coelhos).^{17,39}

O parasita também já foi isolado e identificado em diversas espécies selvagens, como a raposa, lobo, chacal, gato selvagem, lince ibérico, gineta, javali, corço, veado, texugo, sacarrabos, morcego, marta, fuinha, vison europeu, porco-espinho e ouriço-cacheiro.^{11,14,30,39,43,44,45} Contudo, a capacidade de infetarem flebótomos e terem um papel na epidemiologia da doença ainda tem de ser compreendido. Muitas das infecções em animais silvestres são provavelmente acidentais, resultado do comportamento hematófago oportunista dos flebótomos.^{39,43}

Os hospedeiros de *Leishmania* spp. são tão complexos que mostram variações regionais e sazonais, e apenas estudos locais envolvendo análises ecológicas e parasitológicas podem

determinar se esses animais desempenham um papel como reservatório num determinado ambiente.^{21,43}



Figura 4: Distribuição global da Leishmaniose visceral em humanos e Leishmaniose canina (Imagem adaptada de Baneth et al., 2022).

7. Epidemiologia e transmissão

A epidemiologia da Leishmaniose canina é de grande complexidade e envolve uma rede de interações entre o parasita propriamente dito, o vetor, os hospedeiros suscetíveis à doença e o ambiente.⁵ Tem distribuição mundial, com altas prevalências e endemicidade em diversas regiões tropicais e subtropicais a nível mundial, representadas na Figura 4, como por exemplo, na América do Sul, Central e do Norte, na Bacia Mediterrânica, no Médio Oriente e em África.^{11,15,21}

A Leishmaniose canina é endêmica em grande parte do território de diversos países europeus, nomeadamente França, Grécia, Portugal, Espanha, Itália, Chipre, Croácia, Malta e Albânia.^{30,47} A distribuição da infeção canina não é uniforme em toda a sua extensão, sendo maioritariamente focal e/ou regional. Depende essencialmente da densidade de hospedeiros caninos e da distribuição e abundância dos flebotomos.^{16,30}

Nos últimos anos, na Europa, a Leishmaniose canina tem vindo a ganhar relevância e são vários os fatores intrínsecos e extrínsecos que levam ao aumento de casos em zonas endémicas e o aparecimento de casos em zonas consideradas não endémicas. A nível ambiental e climático, fatores como o aumento global da temperatura com invernos menos rigorosos potenciam o aumento do número de flebotomos, a sua propagação para novas áreas geográficas e o número de meses de atividade flebotomínica.^{6,7,30} Uma maior resistência parasitária e dos vetores aos fármacos e inseticidas em uso e o preponderante facto de não existir um tratamento 100% eficaz para a doença são fatores cruciais.⁴⁴ Em termos antropogénicos, alterações das condições socioeconómicas dos tutores e igualmente, uma maior facilidade de deslocação e

adoção dos animais de companhia, de zonas endémicas para não endémicas, constituem um risco para iniciar um foco da doença em locais onde os flebótomos estejam presentes. Este fenómeno é comprovado pelo aparecimento de novos casos esporádicos e focais em regiões não endémicas, como, na Holanda, Alemanha, Suécia, Reino Unido, norte de Espanha, Alpes e Pirinéus.^{11,14,28} Nestas áreas, vias alternativas podem explicar os novos casos de infeção na ausência de vetores competentes. Usualmente, a transmissão da Leishmaniose canina é vetorial, todavia outras formas de transmissão podem estar associadas ao aparecimento de novos casos. Apesar de pouco comuns, foram reportados casos de transmissão sexual de machos para fêmeas e de mães para os filhos, e iatrogénicos por transfusão sanguínea, transplante de órgãos ou vacinação. A transmissão direta por lutas, mordeduras ou artrópodes hematófagos (por exemplo, carraças e pulgas) apesar de mencionadas, nunca foram provadas.^{15,17,48}

Em áreas endémicas, pode construir-se um diagrama que representa a exposição ao parasita, o desenvolvimento de anticorpos (Ac) anti-*Leishmania* e de doença sintomática na população canina, como o representado na Figura 5.¹⁶ O pico do diagrama (laranja) expressa os cães que desenvolvem doença clínica e apresentam alterações clinicopatológicas. Seguidamente, estão representados os cães seropositivos sem sinais clínicos (creme). O terceiro patamar representa os cães assintomáticos seronegativos, mas positivos para PCR (roxo). O último inclui cães que são seronegativos e sem carga parasitária detetada por PCR (azul). Uma minoria de cães pode ser seropositiva e PCR negativo (não representada neste diagrama). Assim, podemos concluir que a maioria dos animais infetados não desenvolvem sinais clínicos, sendo o número de animais assintomáticos muito superior. Apesar de serem considerados clinicamente saudáveis, são potencialmente infetantes para o vetor, o que dificulta não só o diagnóstico precoce como potencializa a dispersão da doença.^{11,16,31} Nalguns cães, sinais clínicos graves aparecem logo após a infeção, enquanto outros permanecem infetados durante um longo período (anos ou ao longo da vida), mas conseguem evitar o aparecimento de lesões e doença clínica. No entanto, o estado de saúde destes animais pode alterar-se levando à ativação da infeção latente e ao desenvolvimento de sinais clínicos. Em condições favoráveis para a transmissão da doença, como alta densidade de flebótomos e hospedeiros reservatórios caninos, a infeção dissemina-se rapidamente e extensivamente entre a população de cães.^{16,49,51}

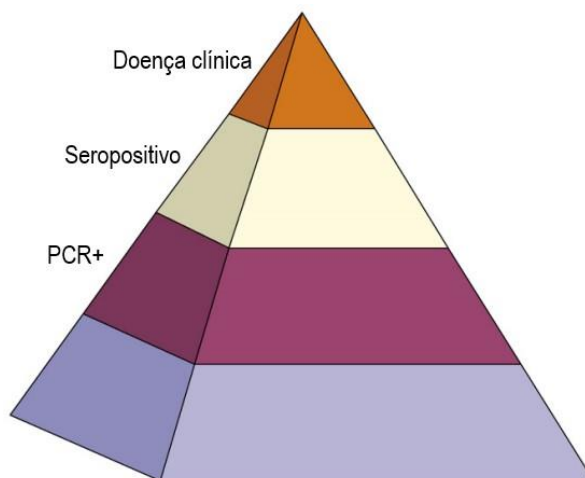


Figura 5: Diagrama que representa uma população canina exposta à infecção, numa área endémica de *L. infantum* (Adaptado de Baneth et al., 2008).

No contexto do nosso país, as temperaturas amenas e os índices de humidade relativa moderados reúnem as condições ideais para o desenvolvimento do vetor e transmissão do parasita. No entanto, na Figura 6, é possível observar que a prevalência varia consoante a região geográfica, já que as características climáticas não são constantes de distrito para distrito, mas a doença é considerada endémica em grande parte do território. O estudo realizado em 2021, em cães que se deslocaram com os tutores a CAMV em Portugal continental, revelou uma seroprevalência geral de 12,5% (n=1860), sendo superior nos distritos do interior. Portalegre (30,5%), Castelo Branco (29,9%) e Guarda (19,3%) foram os distritos que apresentaram seroprevalências mais elevadas.⁴⁷ A seroprevalência geral quase que duplicou em relação ao estudo realizado em 2009, onde a seroprevalência foi de 6,5%.⁵⁰ Fatores de risco associados ao estilo de vida no interior do país revelam índices mais altos de infeção. Especificamente, o distrito de Castelo Branco, localizado no interior e com uma extensa área de fronteira com Espanha, em determinadas freguesias chega a revelar seroprevalências de 56% (em 2021).⁴⁷ Estes distritos apresentam seroprevalências mais elevadas, pelo facto de serem zonas rurais, de altitudes elevadas, com condições de temperatura, humidade e matéria orgânica ideais para o vetor. Além disso, com muito turismo e atividade cinegética, revelando um risco acrescido para os cães provenientes de outras áreas do país que viajam esporadicamente, maioritariamente em meses de maior atividade flebotomínica.^{47,51}

Em Portugal continental, embora a zona interior centro seja a que apresenta seroprevalências mais preocupantes, o sul do país também se destaca com níveis de infeção acima da média, tendo o distrito de Faro uma seroprevalência de 17,2% (em 2021)⁴⁷, revelando grande variação em relação ao estudo anterior, cuja seroprevalência foi de 4,71%, em 2009.⁵⁰

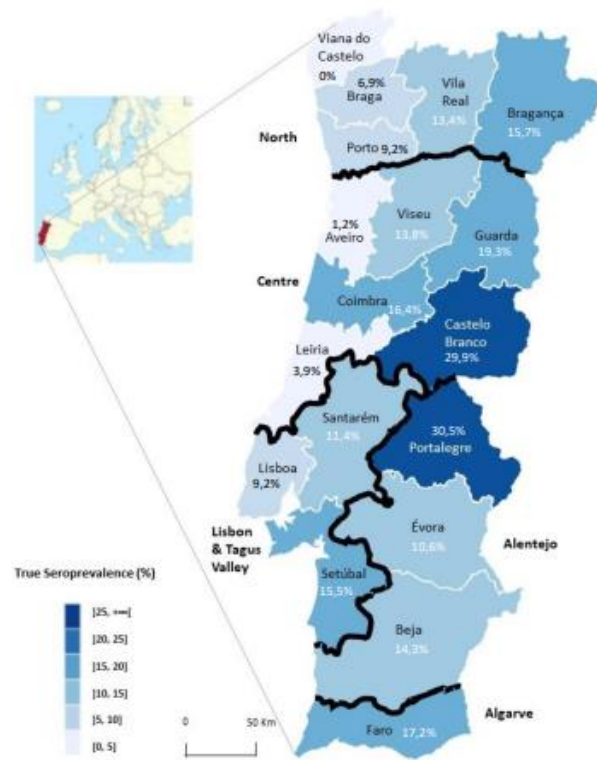


Figura 6: Seroprevalências de infecção por *Leishmania* em cães de Portugal continental, pela técnica de aglutinação direta, por distrito e NUTS2 (Adaptado de Almeida et al., 2022).

8. Fisiopatogenia

Os cães que conseguem resistir à infecção, restringindo a carga parasitária e permanecendo assintomáticos por longos períodos ou a vida toda, são considerados resistentes. Por outro lado, os animais que têm predisposição para desenvolver a forma sintomática da doença ou devido a fatores secundários, não conseguindo controlar a replicação do parasita através de uma resposta imunitária eficaz, são considerados susceptíveis.^{11,24}

O parasita reside dentro de células específicas do sistema imunológico, como monócitos, macrófagos, células dendríticas e neutrófilos, exercendo uma influência singular no organismo durante a doença. A picada dos flebótomos é telmofágica, caracterizando-se por causar múltiplas microlesões na pele devido à ação da sua probóscide, que lacera os capilares sanguíneos e causa extravasamento vascular acrescido, devido à presença de substâncias vasodilatadoras e anticoagulantes na saliva do vetor. Os flebótomos infetados transmitem as formas promastigotas juntamente com saliva, bactérias intestinais, exossomas secretados pelo próprio parasita envolvidos num gel (do inglês *Promastigote secretory gel*), provocando uma intensa resposta inflamatória no local da picada.^{23,52}

Os neutrófilos são as primeiras células de defesa a chegar ao local de inoculação, e sua presença pode levar à destruição dos promastigotas e recrutamento de macrófagos ou à sobrevivência prolongada dos parasitas. Os neutrófilos podem fagocitar as formas promastigotas

e eliminá-las por mecanismos de apoptose celular. Adicionalmente, desencadear a libertação do fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferon gama (IFN- γ), que estão envolvidos na ativação dos macrófagos e da sua atividade leishmanicida. Por outro lado, os promastigotas podem desencadear os neutrófilos a atrasar o seu processo de apoptose, proporcionando um mecanismo de "cavalo de Troia". Quando os macrófagos chegam o local da infeção fagocitam os neutrófilos que entram em apoptose. Deste modo, não ativam as suas funções leishmanicidas, permitindo aos parasitas sobreviverem dentro dos vacúolos parasitóforos.^{23,53}

Os parasitas devem primeiro evitar os mecanismos de apoptose da resposta imune e depois aderir aos recetores dos macrófagos, de modo a serem fagocitados e formarem um vacúolo parasitóforo dentro da célula. Dentro dos fagolisossomas, as formas promastigotas apresentam capacidade de sobrevivência devido aos lipofosfoglicanos, que inibem a maturação do fagossoma. As formas promastigotas transformam-se em amastigotas e multiplicam-se ativamente, acabando por provocar a destruição da membrana celular e subsequente libertação dos parasitas que vão infetar novos macrófagos. Os parasitas fagocitados podem permanecer no tecido subcutâneo, dando origem às formas clínicas de Leishmaniose cutânea, ou disseminarem-se principalmente através da circulação linfática, para o baço, medula óssea, fígado, linfonodos ou outros órgãos linfoides causando a Leishmaniose visceral.^{52,53,54} Apesar do parasita ter tropismo para órgãos hemolinfáticos, pode invadir quase todos os tecidos e órgãos do corpo, incluindo o sistema nervoso central.^{11,24}

Em animais resistentes, o controlo da infeção ocorre através de uma resposta imunitária celular, por intermédio de citocinas que promovem a ativação de linfócitos *T helper* tipo I (Th1).¹⁶ Com base nos perfis de citocinas, tanto as respostas imunitárias de linfócitos Th1 como de linfócitos Th2 estão presentes, como representado na Figura 7. A interleucina (IL) 12 desempenha um papel importante na ativação dos linfócitos Th1. Estes produzem IFN- γ , TNF- α e IL-2 que, por sua vez, suscitam a atividade leishmanicida dos macrófagos, através da produção de óxido nítrico e espécies reativas de oxigénio, induzindo a apoptose celular.^{11,23,53,55}

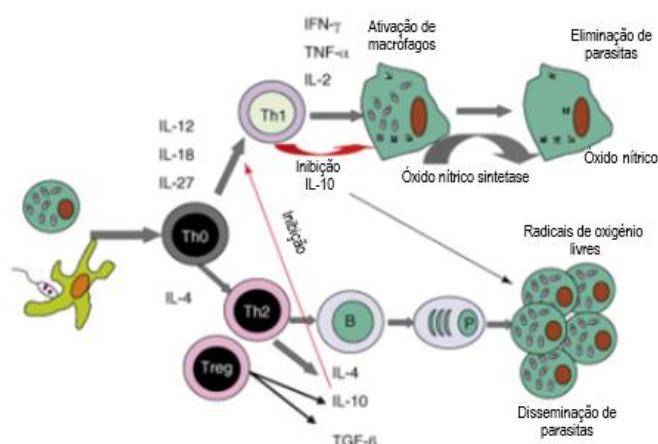


Figura 7: Interação entre a resposta Th1 e Th2 na Leishmaniose visceral (Adaptada de Baneth et al., 2008).

Numa resposta mediada por linfócitos Th2, há um aumento da atividade dos linfócitos B e plasmócitos, e conseqüentemente da produção de Ac, assim como da produção de IL-4, IL-13, IL-10 e fator transformador de crescimento beta (TGF- β). Estas citocinas têm ação inibitória sobre a atividade dos macrófagos, favorecendo assim a disseminação do parasita. A IL-10 tem ação inibitória sobre células Th1 e inibe a atividade leishmanicida dos macrófagos infectados. A IL-4 está envolvida na diferenciação de linfócitos Th2 e na proliferação e diferenciação de linfócitos B.^{16,53} Assim, uma maior ação dos linfócitos Th2 pode estar associada a uma maior disseminação do agente etiológico e surgimento de doença clínica, associada a uma resposta humoral exuberante. A resposta imune ao parasita é específica para cada órgão, pois foram observadas respostas imunes Th1, Th2 ou mistas em diferentes órgãos, correlacionadas com a ausência ou presença de sinais clínicos e com a carga parasitária local.^{55,56}

Adicionalmente, a destruição dos parasitas está também dependente da capacidade de apresentação dos antígenos pelos macrófagos, através de moléculas da classe II do complexo maior de histocompatibilidade (CMH II), às quais se ligam linfócitos T CD4+, ou através de moléculas da classe I do CMH, às quais se ligam linfócitos T CD8+, citotóxicos. A resistência está associada a níveis mais elevados de linfócitos T totais (CD4+ e CD8+). À medida que a doença progride, há uma mudança na resposta das células T para uma resposta regulatória, devido a alterações na expressão de citocinas e exposição prolongada ao antígeno. A produção de IL-10 promove a diminuição da proliferação das células Th1 CD4+ e, conseqüentemente na redução da eliminação do parasita. A redução da resposta Th1, juntamente com o aumento das respostas humorais, resulta na exaustão das células T e no crescimento/sobrevivência do parasita.^{11,23,53,56}

Por outro lado, os linfócitos T reguladores (Treg) são responsáveis por evitar que o sistema imunitário identifique as suas próprias estruturas moleculares como antigênicas, desencadeando respostas autoimunes. Desta forma, os linfócitos Treg migram para focos inflamatórios e suprimem a atividade linfocitária, com especial incidência nos linfócitos Th, com o objetivo de impedir fenômenos imunológicos indesejados e excessivos. Esta atividade já foi identificada em cães infectados com *L. infantum*, onde se verificou um incremento na atividade linfocitária Treg e aumento na síntese de IL-10 e TGF- β .^{11,53,57}

No início da doença, os anticorpos são específicos e eficazes na fagocitose de células infectadas e na neutralização de fatores de virulência de *Leishmania* spp. À medida que o parasita se dissemina, há ativação de células B com aumento do nível de anticorpos, que se ligam aos amastigotas, criando imunocomplexos que desencadeiam a produção de IL-10 pelos macrófagos. A produção de IL-10 atua como um mecanismo de feedback negativo sobre os macrófagos para reduzir a ativação e evitar a produção de espécies reativas de oxigênio. Conseqüentemente, a multiplicação dos parasitas ocorre sem restrições, levando à ruptura das células infectadas e à liberação de amastigotas, capazes de infectar outras células.^{11,53}

O papel prejudicial da ativação de células B e aumento da produção de imunoglobulinas (Ig), é a formação de complexos imunes que diminuem ainda mais a atividade fagocítica dos macrófagos e agravam a inflamação por originarem reações de hipersensibilidade do tipo II e III. Os complexos imunes formados são formados por IgG, IgA e/ou IgM. A IgG é a classe de imunoglobulinas mais comum, enquanto a IgA, IgE e IgM são produzidas em menor quantidade e frequência. Em animais resistentes, também são produzidos anticorpos de todas as classes, mas em frequências e concentrações mais baixas. A concentração de IgG está positivamente relacionada à densidade parasitária nos tecidos e à gravidade dos sinais clínicos.^{11,23,24,53}

A proliferação exuberante de células B juntamente com células plasmáticas, histiócitos e macrófagos, pode explicar a linfadenomegalia generalizada, a esplenomegalia e a hiperglobulinemia policlonal, que são consideradas características clínicas da doença.^{11,58} A hiperglobulinemia associada à Leishmaniose canina não é protetora, mas prejudicial, seja diretamente ou indiretamente, por exemplo através da criação de autoanticorpos associados à trombocitopenia imunomediada e Ac anti-histona, encontrados no sangue, associados à glomerulonefrite.^{11,24} Adicionalmente, complexos imunes circulantes em grandes quantidades depositam-se na parede dos vasos sanguíneos e noutros tecidos, podendo causar vasculite, poliartrite, uveíte, miosite e glomerulonefrite.^{11,58,59} A vasculite sistêmica pode levar à necrose dos órgãos internos e da pele, mas raramente afeta o sistema nervoso. Os complexos imunes também podem incluir crioglobulinas que, quando expostas ao frio, podem precipitar nos vasos sanguíneos das extremidades, causando necrose isquêmica.¹¹

9. Suscetibilidade

Nem todos os cães naturalmente ou experimentalmente infetados com *Leishmania* desenvolvem a doença. O desenvolvimento ou não da infecção depende de vários fatores relacionados com o hospedeiro vertebrado (idade, raça, aptidão e estilo de vida, base genética, resposta imunitária, imunossupressão, estado nutricional, coinfeções e/ou doenças concomitantes), com o vetor (número de picadas) e com o parasita (carga parasitária e virulência da espécie).^{2,24,46}

Embora que todas as raças de cães sejam potencialmente suscetíveis à infecção, algumas raças como o Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiler e Pastor Alemão, parecem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença do que outras como o Poodle ou o Yorkshire Terrier. Os de raças cruzadas ou que evoluíram em áreas endêmicas, como o Podengo Ibicenco são menos propensos a desenvolver doença que os de raças exóticas pura.^{11,17,24,47}

Em relação à idade, parece existir uma apresentação bimodal, com dois picos de infecção. O primeiro em cães com idade inferior a três anos, sobretudo em cães de raça predisposta à doença, e o segundo pico ocorre a partir dos oito anos de idade.^{28,60} A infecção mais tardia parece

estar relacionada com o maior tempo de exposição ao vetor e com o declínio do sistema imunitário.^{50,60}

A componente genética também pode ser um fator para a suscetibilidade/resistência ao desenvolvimento da doença. Cães suscetíveis estão relacionados com mutações no gene *Slc11c1* (*Solute carrier family 11 member a1*), que codifica uma proteína transportadora de ferro, envolvida no controlo da replicação dos parasitas e ativação de macrófagos. Em áreas endêmicas do Brasil, também se verificou um maior risco de infeção em animais que apresentam o alelo DLA-DRB1*01502 do CMH II.^{11,16,28}

Quando consideramos a aptidão e estilo de vida dos animais, está descrita uma estreita ligação entre maiores índices de infeção em animais que vivem no exterior e têm atividades no seu quotidiano relacionadas com o mundo rural, tais como cães de pastoreio e de caça. Em relação aos animais de companhia que não tenham estas aptidões, a suscetibilidade é maior naqueles que vivem no exterior, sobretudo em casos onde existe o microclima ideal para os flebótomos, nomeadamente em casas com jardins e material orgânico.^{6,47,60}

Quanto ao sexo dos animais, a suscetibilidade não parece estar relacionada com nenhum em particular, embora haja estudos que revelem que os machos são mais propensos a desenvolver a doença.^{2,61,62}

A nível funcional e anatomicamente, sabe-se que o vetor tem preferência por mucosas e zonas glabras e como tal, alguns autores referem que cães de pelo comprido podem estar menos suscetíveis à picada dos flebótomos.^{50,62}

Além destes fatores, o estado clínico do animal pode ainda ser alterado ou exacerbado pela presença de coinfeções. Nomeadamente ehrlichiose, babesiose, anaplasmose, bartonelose, hepatozoonose, dirofilariose, espirocercose, demodecose e sarna sarcótica. Adicionalmente, podem também coexistir doenças imunomediadas (Pênfigo foliáceo ou Lúpus eritematoso sistémico), endocrinopatias, (hipotireoidismo) e vários tipos de neoplasias (hemangiossarcoma, linfoma, mieloma, histiocitoma e tumor venéreo transmissível) que podem agravar os sinais clínicos e as alterações clinicopatológicas.^{11,24,63}

10. Sinais clínicos

A Leishmaniose canina é considerada uma doença multissistémica crónica, com sinais clínicos variáveis e inespecíficos, que podem desenvolver-se entre os três meses e sete anos após a infeção.^{11,64} As características clínicas variam amplamente como consequência dos inúmeros mecanismos patogénicos do processo da doença, dos diferentes órgãos afetados e da diversidade das respostas imunes desenvolvidas pelos hospedeiros.⁶⁴ Em cães, a doença geralmente apresenta envolvimento visceral e cutâneo.¹¹ A presença de macrófagos infetados

em diversos tecidos, órgãos ou fluidos corporais provoca reações inflamatórias granulomatosas ou piogranulomatosas e proliferativas, e mecanismos imunomediados. O resultado é uma intensa infiltração celular, que leva a alterações progressivas e ao desequilíbrio funcional dos órgãos afetados. ²⁸ Os sinais clínicos (Figura 8) em casos típicos incluem lesões cutâneas, linfadenomegalia localizada ou generalizada, esplenomegalia, condição corporal baixa, intolerância ao exercício, mucosas pálidas, anorexia ou polifagia, atrofia muscular, letargia, poliúria e polidipsia, lesões oculares, epistaxis, onicogribose, artropatias, febre, vômitos e diarreia, que podem ocorrer isoladamente ou em conjunto. ^{11,58,65,66}



Figura 8: Sinais clínicos de Leishmaniose canina: A) Epistaxis; B) Uveíte bilateral e opacidade corneana; C) Conjuntivite purulenta e blefarite; D) Alopecia esfoliativa e linfadenomegalia poplítea; E) Caquexia acentuada e alopecia esfoliativa generalizada (Retirada de Solano-Gallego et al.,2011).

10.1 Alterações cutâneas

As lesões cutâneas, localizadas ou generalizadas, são os sinais clínicos mais comuns na Leishmaniose canina, estando presentes em 56% a 90% dos cães com doença clínica. ¹¹ A presença de parasitas no tecido cutâneo é originada por uma disseminação sanguínea, com exceção da reação local induzida pela inoculação das formas promastigotas. Sinais dermatológicos podem ocorrer na ausência aparente de outros, mas qualquer animal com manifestações cutâneas, provavelmente apresentará também envolvimento visceral. ^{58,67}

A presença de mais de um tipo de lesão no mesmo animal pode ser atribuída à vulnerabilidade de diferentes áreas da pele a trauma mecânico e/ou alterações vasculares. As lesões cutâneas comuns são tipicamente provocadas por inflamação piogranulomatosa que afeta diferentes estruturas da pele e, menos frequentemente, por deposição de complexos imunes. ⁵⁸ Várias alterações dermatológicas (Figura 9) têm sido descritas, sendo raramente associadas a prurido. ¹¹ As alterações mais comuns incluem: dermatite esfoliativa com ou sem alopecia, que pode ser localizada, multifocal ou generalizada, na cabeça, zona periocular,

orelhas e membros, dermatite ulcerativa em proeminências ósseas, dermatite papular e onicogribose caracterizada por hipertrofia e aumento da curvatura das unhas. A onicogribose caracteriza-se histologicamente por uma dermatite liquenoide mononuclear, e parece estar relacionada com o desenvolvimento excessivo do estrato córneo da epiderme, associado à inflamação crônica e distúrbios vasculares e metabólicos.^{2,58,66,67}

Outras manifestações cutâneas, menos comuns, são: dermatite pustular, dermatite proliferativa mucocutânea e dermatite nodular focal ou multifocal, despigmentação nasal, hiperqueratose nasal e digital, paroníquia, paniculite, dermatite acral por lambadura, eritema multiforme, lesões hemorrágicas (devido a vasculite), piodermatite superficial ou profunda e aumento da população de *Malassezia pachydermatis*.^{2,24,58,66}



Figura 9: Manifestações cutâneas de Leishmaniose canina. A) Alopecia periocular esfoliativa e blefarite; B) Lesão mucocutânea nasal ulcerativa; C) Dermatite papular na região inguinal; D) Lesões nodulares crateriformes no bordo da mucosa nasal; E) Lesão eritematosa ulcerativa na superfície palmar do membro e entre as almofadas plantares; F) Onicogribose (Retirada de Solano-Gallego et al., 2011).

A forma nodular focal ou multifocal, mais frequente em gatos, caracteriza-se por dermatite granulomatosa grave e alta carga de amastigotas e baixo número de células T, sugerindo uma imunidade celular ineficiente do hospedeiro. A forma nodular não deve ser confundida com a forma papular, que é resultado das picadas de flebótomos, e está relacionada com uma imunidade celular específica para o parasita e baixa resposta humoral, associada à resistência do hospedeiro.^{11,24,68}

Na presença de problemas cutâneos coexistentes, como por exemplo sarna sarcótica, hipotireoidismo e dermatite atópica ou devido a complicações como, piodermatites bacterianas (por exemplo a piodermatite estafilocócica é uma complicação comum), dermatofitose, dermatite

por *Malassezia* e demodicose, as lesões cutâneas devidas à presença de *Leishmania* podem passar despercebidas.⁵⁸

A presença de parasitas na pele desempenha um papel fundamental na capacidade de transmissão para o vetor, tornando a pele um órgão de grande importância no contexto epidemiológico da doença. A carga parasitária na pele, embora variável, parece aumentar com a gravidade da doença.¹

10.2 Linfadenopatia e esplenomegalia

A linfadenomegalia e esplenomegalia, frequentemente observadas, são resultado da resposta imunitária à infecção, através de uma hiperplasia reativa do tecido linfóide.⁵⁸ Nos linfonodos há hipertrofia das regiões corticais e medulares e a presença de macrófagos infetados, principalmente na região cortical.^{24,58} O aumento significativo dos linfonodos de duas a seis vezes o tamanho normal, pode mesmo mimetizar os sinais clínicos de linfoma.¹¹ No entanto, nas fases mais avançadas da doença, os linfonodos podem reduzir de tamanho, acompanhando a perda geral da condição corporal.^{24,58}

A esplenomegalia, normalmente, não é grave o suficiente para ser detetada pela palpação abdominal durante o exame físico. O baço é um órgão que permite a sobrevivência do parasita, a longo prazo, devido a uma resposta imunitária local pouco eficaz, o que explica a alta carga parasitária frequentemente observada.^{24,58} Como consequência, ocorre proliferação e/ou infiltração de células mononucleares e plasmáticas, e hipertrofia e hiperplasia da polpa branca e vermelha, juntamente com alterações na microvasculatura.^{14,24,58}

A medula óssea é também um dos órgãos mais afetados durante a infecção.¹⁴ Ocorre inflamação granulomatosa e o aumento do número de células linfoplasmocitárias, além de alterações nas células envolvidas na produção de células sanguíneas, como eritrócitos e megacariócitos. Essas alterações contribuem para a anemia e trombocitopenia frequentemente observadas em cães com Leishmaniose.^{24,58}

10.3 Alterações renais

Os rins são frequentemente atingidos, e a doença renal que pode progredir de proteinúria assintomática para síndrome nefrótica ou IRC, pode ser a única alteração evidente.⁶⁴ A IRC é uma manifestação grave da progressão da doença e é a principal causa de morte em cães com Leishmaniose. Os sinais clínicos mais frequentemente associados, incluem polidipsia e poliúria, vômitos, perda de peso, palidez das mucosas (causado por anemia) e anorexia.^{2,14,58,69}

As nefropatias associadas à doença, embora sejam um processo multifatorial, são, principalmente, resultado da deposição de complexos imunes nas estruturas dos glomérulos, culminando em glomerulonefrite. As lesões tubulointersticiais ocorrem secundariamente à patologia glomerular, bem como à inflamação mediada por complexos imunes e fibrose do

interstício renal. Glomerulonefrite e nefrite tubulointersticial são os achados patológicos mais comuns.^{2,14,24,58,64}

10.4 Alterações hematológicas

Cães infetados podem apresentar sintomatologia visível como diáteses hemorrágicas, manifestadas principalmente como epistaxis e, menos frequentemente, como hematúria e hematoquézia. A epistaxis, pode ser aguda ou crônica/recorrente, uni ou bilateral. Pode representar uma ameaça à vida do animal devido à perda de sangue, por vezes, incontrolável. Esta surge como consequência de múltiplas anormalidades na hemostase primária e secundária, e sobretudo devido a lesões inflamatórias e/ou ulcerativas das mucosas. Os distúrbios hemostáticos descritos ocorrem devido ao aumento da viscosidade sanguínea por hipergamaglobulinemia, trombocitopatias, vasculite mediada por imunocomplexos e diminuição da atividade dos fatores de coagulação.^{11,58,64}

10.5 Alterações musculoesqueléticas

Perda de peso e atrofia muscular são os sinais mais comuns de afeção visceral. Alguns cães perdem peso apesar de terem um apetite voraz. A perda de peso tem sido atribuída à anorexia, à competição entre o parasita e o hospedeiro por nutrientes essenciais como o triptofano, à redução da absorção intestinal e à patologia renal. Alterações musculoesqueléticas estão associadas à inflamação linfoplasmocitária e/ou granulomatosa, seguida de alterações degenerativas, necróticas, regenerativas e fibróticas nas miofibras, vasculite neutrofílica e deposição de complexos imunes nos tecidos musculares. A atrofia muscular pode ser bastante evidente nos músculos mastigatórios, sendo bastante comum em cães afetados pela doença. Porém, a função mastigatória mantém-se, em contraste com a doença idiopática ou imunomediada clinicamente semelhante.^{11,24,58}

Polimiosite esquelética associada a fraqueza e atrofia dos músculos apendiculares, leva a dor, claudicação e intolerância ao exercício. As lesões articulares na Leishmaniose canina podem ser resultado da inflamação linfoplasmocitária, da presença direta de amastigostas e/ou de uma reação de hipersensibilidade do tipo III, com deposição de complexos imunes. Embora a artrite seja a principal causa de claudicação, outras causas podem estar subjacentes, como nevralgia, ulceração das almofadas podais e espaços interdigitais, polimiosite e osteomielite. Esta última doença pode levar a problemas locomotores mais graves devido à sua natureza destrutiva.^{24,58,66}

O envolvimento ósseo é mais frequente do que se suspeita clinicamente e ocorre devido à presença de osteomielite granulomatosa causada pela disseminação do parasita através da corrente sanguínea. As lesões tendem a ser bilaterais e simétricas. Os ossos afetados na

radiografia apresentam lesões proliferativas no perióstio e na medula óssea, diminuição ou aumento da opacidade intramedular e/ou osteólise cortical e medular.^{2,11,24,58}

10.6 Alterações oculares

A prevalência relativa de lesões oculares e perioculares pode variar entre os 16% e os 80%, e nalguns casos, são os únicos sinais clínicos da doença.^{11,66} As manifestações mais comuns são conjuntivite, blefarite (esfoliativa, ulcerativa ou nodular), queratoconjuntivite, uveíte anterior e/ou posterior, glaucoma, panuveíte e panoftalmite.^{11,14,24,66} Para além destas, cataratas, esclerite granulomatosa e celulite orbital foram também relatadas nalguns casos da doença.⁵⁸ As lesões unilaterais frequentemente indicam um diagnóstico precoce, uma vez que, na maioria dos casos, as lesões são bilaterais.^{11,66}

Quase todas as estruturas oculares estão envolvidas nas manifestações clínicas associadas à Leishmaniose. Diferentes mecanismos patogénicos subjacentes resultam em diversas manifestações clínicas, por exemplo a inflamação granulomatosa secundária à presença do parasita, resulta em casos de blefarite, conjuntivite primária e dacriocistite, e a deposição de complexos imunes em casos de uveíte. A queratite pode ocorrer como uma extensão da conjuntivite. A queratoconjuntivite seca pode ser causada pela inflamação da glândula lacrimal e obstrução dos ductos lacrimais relacionada com a conjuntivite, resultando na retenção ou diminuição da produção lacrimal. Pode ocorrer também hipertensão sistémica, com consequências oculares, tais como descolamento da retina, hemorragias, tortuosidade arterial da retina e hifema, mas são bastante incomuns.^{11,24,58}

10.7 Alterações gastrointestinais

A sintomatologia gastrointestinal associada a situações de hepatite, duodenite ou colite, é pouco comum, mas pode ocorrer sendo a forma subclínica mais frequente do que a clínica.^{11,24,58} A diarreia crónica, de intestino delgado ou grosso, é o sinal clínico mais frequente. Assim, a Leishmaniose pode ser um diagnóstico diferencial em cães com diarreia crónica que vivem em áreas endémicas.⁶⁶

Podem ocorrer afeções na cavidade oral, principalmente nódulos e úlceras na língua e estomatite ulcerativas multifocais a difusas, mais frequentemente observadas no palato duro. Estas lesões podem dever-se à migração de macrófagos infetados para locais de trauma na mucosa oral ou à mastigação acidental de flebótomos infetados.^{24,58,70}

O envolvimento hepático pode acontecer, a hepatomegalia e/ou nódulos podem estar presentes, sendo pouco comum observar-se uma insuficiência hepática característica. A infeção parasitária pode levar a alterações inflamatórias provocadas pela formação e maturação de

granulomas resultantes da infiltração de macrófagos infetados ou amastigotas no tecido hepático.^{11,14,58}

10.8 Outras alterações

Casos de pneumonias são incomuns e podem ocorrer como consequência da deposição de complexos autoimunes. Também esta é a causa de lesões cardíacas, juntamente com inflamação granulomatosa e hipertensão sistémica. Distúrbios cardiovasculares como pericardite, vasculite sistémica, tromboembolismo e síndrome de hiperviscosidade sérica podem ocorrer.^{2,24}

Se existir envolvimento do sistema nervoso central, este pode explicar alterações comportamentais, convulsões, dor, rigidez cervical e paraplegia. Hemorragias nos espaços medulares, e meningites originadas pela inflamação granulomatosa e/ou neutrofílica, vasculite e deposição de imunocomplexos, podem estar associadas à presença do parasita.^{24,58}

Podem também ser encontradas lesões nos órgãos genitais masculinos, associadas à presença local de parasitas, nomeadamente orquite, epididimite, prostatite crónica, inflamação granulomatosa do pénis e balanopostite.²⁴ Estas lesões resultam na diminuição da qualidade do sémen em cães com Leishmaniose, embora esta possa ser parcialmente restabelecida após tratamento a longo prazo.¹¹

11. Diagnóstico

A variabilidade e a inespecificidade dos sinais clínicos e alterações laboratoriais podem tornar o diagnóstico da Leishmaniose canina difícil.^{11,28} O diagnóstico é indicado para confirmação da doença num cão com sinais clínicos compatíveis. No entanto, em áreas endémicas, a deteção da infeção é importante e deve ser feita em cães clinicamente saudáveis ou em cães que viajam de áreas não endémicas para áreas endémicas, dadores de sangue, candidatos à vacinação e reprodutores.^{11,71}

Para uma abordagem diagnóstica completa é necessário a realização de uma história clínica e exame físico detalhados, análises clinicopatológicas, a execução de testes diagnósticos específicos, a exclusão de coinfeções ou doenças concomitantes e por fim, o estadiamento clínico da doença.^{28,72,73}

As análises clinicopatológicas incluem a avaliação de parâmetros como o hemograma completo, o painel bioquímico e eletroforese do soro, análise à urina e a avaliação imagiológica abdominal, por radiologia e/ou ecografia, apesar de estas poderem ser pouco específicas.^{2,11,73,74}

Os exames de diagnóstico específicos, mais comuns, contemplam os testes diretos, como os métodos parasitológicos, nomeadamente a citologia/histologia, imunohistoquímica, cultura de *Leishmania* e xenodiagnóstico. Adicionalmente, os testes diretos incluem os métodos moleculares, como a PCR. Os métodos indiretos, mais utilizados na prática clínica, para deteção de *Ac* específicos anti-*Leishmania*, incluem análises serológicas quantitativas, como o teste de imunofluorescência indireta (IFAT) e o ensaio imunoenzimático por ligação de enzimas (ELISA) ou qualitativa como o teste imunocromatográfico.^{11,65,73,74,75}

11.1 Análises clinicopatológicas

Na Figura 10, estão representadas as alterações clinicopatológicas mais comuns em cães sintomáticos e as suas respetivas percentagens.

Relativamente às alterações hematológicas, o achado mais comum é uma anemia leve a moderada não regenerativa.^{11,74} Esta anemia caracteriza-se, na maioria dos casos por ser leve a moderada, normocítica, normocrómica e não regenerativa.^{76,77} A anemia pode surgir da perda de sangue contínua (úlceras sanguinolentas e/ou epistaxis), da hemólise (presença de autoanticorpos, imunocomplexos e diminuição da fluidez da membrana eritrocitária), da diminuição da eritropoiese (anemia de infeção crónica, deficiência em ferro, insuficiência renal crónica e displasia eritroide) ou devido a doenças concomitantes.^{71,74,76}

As alterações do leucograma são pouco frequentes e muito variáveis. As alterações das concentrações de leucócitos são normalmente secundárias a uma resposta ao stress, que geralmente está presente em cães doentes. O leucograma de stress caracteriza-se, geralmente, por uma leucocitose moderada com neutrofilia e linfopenia.⁶⁶ O leucograma também pode apresentar neutrofilia em casos de lesões cutâneas ulcerativas e infeções bacterianas secundárias.⁷¹ Cães subclínicos apresentam valores mais elevados de linfócitos, porém, em cães doentes, os valores de linfócitos diminuem com a progressão da doença.⁷⁶

Quanto às alterações hemostáticas, a trombocitopenia é a alteração da hemostase primária mais comum, mesmo sendo a prevalência baixa. Uma das principais causas de trombocitopenia em cães com Leishmaniose é a destruição imunomediada das plaquetas.⁶⁶ A trombocitopenia, embora comum, normalmente não é grave o suficiente para resultar em distúrbios hemorrágicos. Os tempos de coagulação (hemostase secundária) podem estar aumentados devido ao aumento das proteínas plasmáticas, à diminuição da produção de fatores de coagulação ou na presença de coagulação intravascular disseminada. Em casos de trombocitopenia acentuada, deve-se suspeitar de coinfeções com outros agentes patogénicos.^{71,74,76}

Em relação às alterações bioquímicas, a avaliação da função renal através da bioquímica sérica, análise da urina e rácio proteína/creatinina na urina (RPC) são fundamentais em cães

com Leishmaniose, devido à elevada frequência da doença renal. As alterações laboratoriais mais comuns são a proteinúria e, menos frequente, a azotemia renal.^{71,78} A elevação da creatinina e ureia séricas, típicas de insuficiência renal, só se tornam evidentes quando a maioria dos nefrônios estão disfuncionais, o que ocorre em estados mais avançados da doença.^{24,58} A análise da urina pode apresentar proteinúria, devido ao comprometimento da função renal glomerular.¹¹ A recolha de urina deve ser realizada por cistocentese para evitar a contaminação do trato urinário inferior. A determinação do RPC é fundamental para detetar a proteinúria, cães com proteinúria têm um RPC superior a 0,5.⁷⁹ A gravidade específica da urina pode estar diminuída em cães com lesões tubulointersticiais, por perda da capacidade de concentração.⁷¹ A presença de cilindros granulares ou celulares e glucose pode ser consistente com dano tubular.⁷¹

Aumentos da atividade das enzimas hepáticas, como a alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (ALP) e gama glutamil transferase (GGT) e bilirrubina total são pouco comuns, mas podem surgir e sugerem danos hepáticos. O aumento da atividade das enzimas musculares, como a creatinina quinase e o lactato desidrogenase podem estar associadas a miosite.^{71,76}

Figura 10: Alterações clinicopatológicas mais comuns em cães com Leishmaniose (Retirada de Baneth et al., 2022).

Anormalidade	Percentagem	Anormalidade	Percentagem
Hiperproteinémia	63,3 – 72,8	ALT aumentada	16 - 61
Hiperglobulinemia	76 - 100	Proteinúria	71,5 - 85
Hipoalbuminémia	68 - 94	Anemia	60 – 73,4
Diminuição RAG	76	Leucocitose	24
Azotémia	16 - 45	Leucopenia	22
ALP aumentada	16 - 51	Trombocitopenia	29,3 - 50

Cães com doença clínica evidente desenvolvem uma resposta inflamatória intensa. A eletroforese de proteínas séricas ou medição de proteínas de fase aguda (PFA) avaliam e monitorizam essa resposta. Os achados mais frequentes na Leishmaniose canina são a hiperproteinemia com hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, que resulta numa diminuição do rácio albumina/globulina (RAG). A diminuição do RAG é muito frequente e um dos testes mais sensíveis para deteção da doença.⁷¹ A hiperglobulinemia está associada ao aumento das alfa 2(α_2), gama (γ) e beta (β) globulinas pela intensa resposta inflamatória.^{71,76,77}

As PFA são componentes importantes da resposta do sistema imunológico inato quando ocorre inflamação. Durante o processo inflamatório, há um aumento nas PFA positivas, como a proteína C reativa, haptoglobina e ferritina, e uma diminuição das PFA negativas, como albumina, paraoxonase 1 ou apolipoproteína 1. A mensuração das PFA pode ser útil para monitorizar a

progressão ou regressão da resposta inflamatória.^{71,81} A hipoalbuminemia pode estar relacionada com o processo inflamatório ativo, sendo esta uma proteína de fase aguda (PFA) negativa ou devido a alterações hepáticas, renais ou intestinais. A hipoalbuminemia acentuada é considerada um fator de prognóstico negativo em cães afetados.^{71,76}

Quando se realiza o proteinograma, o objetivo é distinguir a hiperglobulinemia causada por uma resposta imune inata e/ou adquirida associada a processos inflamatórios (“gamopatia policlonal”) da hiperglobulinemia relacionada com processos clonais malignos, por exemplo a proliferação neoplásica de um clone de linfócitos B ou plasmócitos (“gamopatia monoclonal”). O padrão eletroforético mais frequente na Leishmaniose é a presença de uma gamopatia policlonal consistente com um processo de estimulação antigénica crónica, podendo ser também sugestivo de outras doenças inflamatórias/infecciosas (Figura 11).^{77,80} A eletroforese de proteínas séricas, pode revelar anormalidades muito precoces no decurso da doença. Na presença de hiperglobulinemia, mesmo que os cães não apresentem sinais clínicos, deve-se averiguar a infeção por *Leishmania* spp.^{71,76}

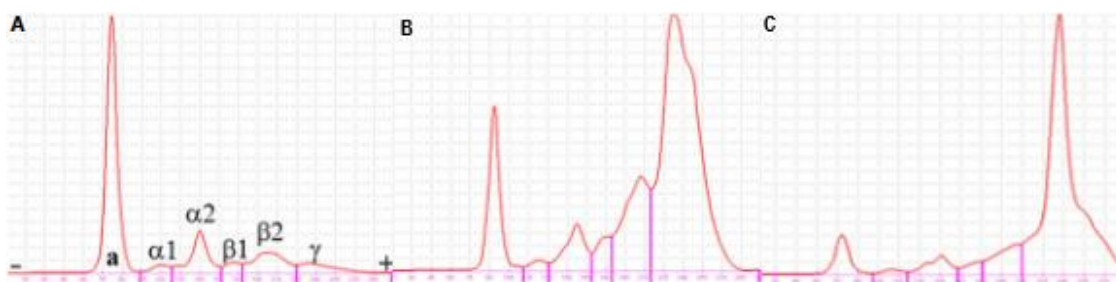


Figura 11: Exemplos de eletroforetogramas num cão normal (A) e com Leishmaniose clínica (B e C), usando electroforese em gel de agarose. A) a- albumina; α 1- alfa 1 globulinas; α 2- alfa 2 globulinas; β 1- beta1 globulinas; β 2- beta2 globulinas; γ - gama globulinas. B) Hipoalbuminemia grave e gamopatia policlonal. As globulinas β 2 também estão aumentadas. C) Hipoalbuminemia marcada e gamopatia oligoclonal. Este cão estava coinfetado com *Ehrlichia canis* (Adaptada de Paltrinieri et al., 2016).

11.2 Testes de diagnóstico parasitológico

A presença de parasitas deve ser investigada através da observação microscópica de diferentes amostras, entre as mais comuns estão linfonodos, pele, baço, fígado e medula óssea, obtidas através da realização de PAAF ou biópsia.^{13,82} A observação microscópica é possível através de preparações coradas pelo método de Giemsa ou Diff-Quick.⁸³

A identificação citológica de amastigotas é um método com especificidade de praticamente 100%, usado de forma convencional por ser fácil de executar, pouco dispendioso e invasivo, podendo fornecer um diagnóstico rápido e conclusivo.^{11,74} Porém, tem baixa sensibilidade, sobretudo quando a carga parasitária é baixa, para a deteção de amastigotas nos tecidos ou fluidos corporais, e por isso requer a realização de outros meios de diagnóstico, como imunohistoquímica e/ou PCR.^{71,84} A sensibilidade é superior em cães com sinais clínicos, sendo descrita uma sensibilidade de 52-85% em esfregaços de medula óssea e de 52-58% em linfonodos.¹⁴

A citologia de linfonodos e de lesões cutâneas, são recomendadas como testes de diagnóstico de primeira linha.⁷⁴ Citologias de medula óssea, baço, fluidos biológicos como efusões ou líquido sinovial e cefalorraquidiano podem ser realizadas, mas por serem mais invasivas apenas estão recomendadas após análise minuciosa de linfonodos e pele. A presença de amastigotas em massas nodulares com localização atípica, como língua, testículo e massas orais ou nasais, foi também reportada.^{71,84}

Em relação à histologia, é mais trabalhosa, cara e demorada, e a identificação de amastigotas pode ser mais difícil do que em amostras citológicas. Por outro lado, a histologia tem a vantagem de fornecer informações adicionais das lesões microscópicas representativas da doença nos tecidos afetados em preparações coradas com hematoxilina e eosina.^{14,71} Contudo, estas lesões são pouco específicas e não permitem um diagnóstico definitivo quando as amastigotas não estão presentes.⁷⁴ O método histológico e o imunohistoquímico não têm maior sensibilidade que o citológico.¹⁴ É importante salientar que a identificação microscópica de amastigotas está sujeita à experiência e capacidade de análise do examinador. Assim, podem aparecer resultados falsos negativos, dependendo da carga parasitária, ou falsos positivos pela visualização de artefactos que podem ser comparados a amastigotas.^{73,74} Quando avaliações citológicas e histológicas apresentam resultados negativos, e os principais diagnósticos diferenciais são descartados, na evidência clínica de Leishmaniose é aconselhável solicitar um teste de PCR.^{14,74}

A cultura *in vitro* de *Leishmania* é o ensaio mais específico porque permite o isolamento e identificação de promastigotas viáveis, a partir de tecidos inoculados em meio *Novy-MacNeal-Nicolle* ou *Schneider's Drosophila*. Porém, não é um procedimento simples e os meios de cultura não estão comercialmente disponíveis.^{11,14,84} Devido à descoberta recente de resistências de *L. infantum* aos fármacos, a cultura de parasitas pode ajudar a avaliar opções terapêuticas em casos de falha no tratamento.⁷⁵

O Xenodiagnóstico consiste em permitir que flebótomos criados em laboratório se alimentem de um cão suspeito de infecção, que é sedado e colocado numa jaula de contenção. Seguidamente, os flebótomos são examinados para verificar a presença do parasita. Assim, não só se confirma a infecção do cão, como também a infecciosidade para o vetor. O método é totalmente específico e sensível, e é usado, sobretudo, para fins de investigação.^{13,83,84}

11.3 Diagnóstico molecular

O diagnóstico molecular representa um avanço no diagnóstico parasitológico da Leishmaniose canina.¹⁴ A PCR permite a amplificação de sequências específicas do genoma, mediante a detecção de ADN de *Leishmania* nos tecidos, sendo uma ferramenta sensível e específica para o diagnóstico e na identificação das espécies de *Leishmania*. A sensibilidade e especificidade variam de acordo com o tipo de amostras, a técnica e a sequência de ADN

utilizadas.¹⁴ Uma das vantagens da PCR é que pode ser realizada a partir de uma grande variedade de tecidos, sendo mais sensível e específica em amostras de medula óssea, linfonodos, baço e pele do que em sangue, urina e, inclusivamente, citologias e histologias.^{74,83} O uso de amostras não invasivas como pelo e zaragatoas orais e conjuntivais está em investigação, mas tem demonstrado resultados muito promissores.¹⁴ As amostras podem ser frescas, congeladas, ou fixadas em álcool etílico a 95%.⁸⁴ O grau de parasitismo é normalmente baixo, mesmo em cães com doença clínica grave. Atualmente existem quatro técnicas diferentes de PCR disponíveis, a PCR convencional, a *nested* PCR, a PCR-ELISA e a PCR quantitativa em tempo real.^{14,83} A especificidade dos testes moleculares geralmente variam de 95% a 100%.⁸⁵ Em áreas endémicas, cães subclínicos podem ter resultados de PCR positivos.⁸⁶

A PCR em tempo real é realizada em sistemas fechados, permitindo que a amplificação seja visualizada em tempo real e a probabilidade de contaminação seja menor. Além disso, mesmo não tendo maior sensibilidade, é vantajosa em relação à PCR convencional e à *nested* PCR, por ser menos demorada, detetar cargas parasitárias mais baixas e quantificar a carga parasitária.¹⁴ O facto de ser quantitativa é importante para comparar resultados, mas o tipo de amostra tem de ser igual. É aconselhável realizar a PCR em tempo real no primeiro diagnóstico para estabelecer um valor de referência e poder compará-lo para compreender a evolução da doença, a eficácia do tratamento e, eventualmente, prever recorrências associadas a parasitas residuais após o tratamento.^{14,73,83}

A avaliação das técnicas de PCR descritas nalguns estudos mostraram resultados variáveis e por vezes até conflituosos em diferentes tecidos de animais infetados. Isto devido à carga parasitária, à heterogeneidade da distribuição do parasita nos tecidos e às reações imunitárias locais e, conseqüentemente, alguns órgãos podem ser positivos e outros negativos.^{72,73,85} Também apresentam algumas desvantagens, como possíveis resultados falsos positivos por contaminação de ADN e as técnicas utilizadas serem diferentes entre laboratórios.⁷¹ Um resultado de PCR negativo num cão com sinais clínicos compatíveis não é suficiente para descartar a infeção, sendo recomendada a avaliação de mais amostras.^{14,28}

11.4 Diagnóstico Serológico

A sensibilidade dos testes é, frequentemente, muito alta devido às respostas imunes humorais exageradas.⁷⁴ Se os parasitas forem eficientemente controlados pela resposta imune do hospedeiro, os títulos de Ac, tendem a permanecer baixos. Por outro lado, uma resposta humoral exagerada está associada a um grau elevado de parasitismo e à doença clínica.^{11,73,83} Em zonas endémicas, mesmo em cães clinicamente saudáveis, os testes serológicos devem ser efetuados todos os anos, pelo menos quatro meses após o final da temporada de transmissão, tendo em conta o tempo médio de seroconversão (quatro a seis meses).^{71,74}

Níveis elevados de Ac, com aumento de 3 a 4 vezes acima do limite estabelecido por um laboratório de referência, juntamente com sinais clínicos e/ou alterações clinicopatológicas compatíveis é conclusivo para o diagnóstico de Leishmaniose canina. Cães com níveis de Ac negativos ou moderadamente positivos devem confirmar a infecção através de outras técnicas de diagnóstico, como citologia, histologia, imunohistoquímica ou PCR.^{11,28,87} Neste contexto, é importante enviar amostras para um laboratório que realize técnicas serológicas quantitativas e que possa classificar os níveis de Ac.⁷²

Vários métodos serológicos têm sido utilizados para detetar Ac séricos anti-*Leishmania*. O IFAT, o ELISA, e os testes por imunocromatografia são os métodos mais utilizados.⁷² Tanto o ELISA quanto o IFAT têm a vantagem de fornecer resultados quantitativos, determinando o título final de Ac. No geral, a maioria destes métodos apresenta boa sensibilidade e especificidade.^{11,71,73}

O IFAT utiliza o corpo inteiro dos parasitas como antígeno e é considerada a técnica de referência do diagnóstico serológico, sendo amplamente utilizado para o diagnóstico e em estudos epidemiológicos.^{72,73} A sensibilidade do IFAT foi estimada em 90% para cães sintomáticos e 31% em cães assintomáticos. A especificidade em áreas não endêmicas foi de 98% e em áreas endêmicas de 97%.⁸⁸ De acordo com a Organização Mundial de Saúde Animal (OIE), em áreas livres da doença de Chagas ou tripanossomose humana americana, o IFAT possui uma sensibilidade de 96% e uma especificidade de 98%.¹² No entanto, a sua interpretação pode ser subjetiva, dependendo das habilidades e experiência do operador ao interpretar os resultados, e o limiar de significância ser diferente entre laboratórios.^{84,87}

O ELISA também é muito sensível e específico, a conjugação de vários antígenos aumenta a sensibilidade da técnica, porém a especificidade pode ser mais limitada.^{14,84} Os antígenos podem ser extratos completos ou solúveis de promastigotas e amastigotas, proteínas recombinantes e proteínas purificadas.⁸⁷ A sensibilidade e especificidade variam consoante o antígeno utilizado. Em comparação com o IFAT, o ELISA é mais fácil de padronizar, pois os resultados são lidos por espectrofotometria automatizada, evitando a avaliação subjetiva do operador do IFAT. De acordo com um estudo realizado em 2014, a sensibilidade do ELISA variou de 93% a 95% e a especificidade de 87% a 100%.⁸⁷ A OIE relata valores de sensibilidade semelhantes, que variam entre os 86% e os 99%.¹²

Os testes por imunocromatografia são rápidos e fáceis de usar e interpretar, permitindo a intervenção rápida do médico veterinário, contudo apenas fornecem resultados qualitativos. A especificidade destes testes é aceitável, mas a sensibilidade é normalmente baixa, de 30% a 70%, o que leva por vezes, a resultados falsos negativos. Em cães assintomáticos, a sensibilidade do teste é mais baixa. Considerando isto, tanto em caso de resultado negativo como positivo, o teste quantitativo deve ser sempre realizado.^{71,73,83,87}

Atualmente, não existe interferência de anticorpos vacinais nos testes serológicos, uma vez que a vacina comercializada na Europa é uma vacina DIVA (*Differentiating Infected from Vaccinated Animals*).⁸⁹ Uma das desvantagens da serologia é a possível ocorrência de possíveis reações cruzadas com outros agentes patogênicos como *Babesia*, *Ehrlichia*, *Toxoplasma*, *Neospora* e *Hepatozoon*.^{11,87}

11.5 Estadiamento

O estadiamento clínico é a etapa final do processo diagnóstico. O estadiamento da doença é útil para o manejo terapêutico, monitorização e prognóstico do paciente. A avaliação clínica e laboratorial completa de cada cão no momento do diagnóstico, juntamente com respostas serológicas e detecção de parasitas, são necessárias para caracterizar a gravidade da doença, atribuir cada caso a um estágio clínico, para assim estabelecer o protocolo de tratamento mais adequado.^{75,90}

O grupo Leishvet estabeleceu um sistema de estadiamento para cães que classifica a doença em quatro estádios clínicos (I, II, III e IV). Este sistema permite organizar e classificar os doentes segundo a gravidade da doença e ajuda a decidir a necessidade de tratamento e o tipo de tratamento, assim como estabelecer o prognóstico. Baseia-se na serologia, nos sinais clínicos apresentados e nas alterações laboratoriais (Tabela 24). Cães infetados, mas clinicamente saudáveis, não estão incluídos.^{28,75} O acompanhamento e monitorização dos parâmetros clínicos e laboratoriais de cães assintomáticos e sintomáticos, são essenciais para avaliar a progressão ou regressão da doença.^{11,75,90}

Tabela 24: Estadiamento da Leishmaniose Canina de acordo com a Leishvet (Retirada de Solano-Gallego et al., 2011). IRIS: *International Renal Interest Society*. IRC: Insuficiência Renal Crônica. RPC: rácio proteína/creatinina urinário.

Estádios clínicos	Sinais clínicos	Resultados laboratoriais	Serologia	Tratamento	Prognóstico
Estádio I- Doença leve	Cães com sinais clínicos leves, tais como, dermatite papular ou linfadenomegalia periférica	Geralmente não se observam alterações clinicopatológicas. Perfil renal normal: creatinina <1,4 mg/dl, sem proteinúria; RPC < 0,2	Título de anticorpos negativo a positivo baixo.	Há evidências limitadas sobre os resultados do tratamento em cães neste estágio. Tratamento breve com um ou dois fármacos. Imunoterapia pode ser considerada como coadjuvante aos fármacos ou administrada isoladamente. Alternativamente, pode ser considerada monitorização sem tratamento.	Bom
Estádio II- Doença moderada	Cães que além dos sinais clínicos referidos para o estágio I, podem apresentar lesões cutâneas simétricas ou difusas, tais como, dermatite esfoliativa, onicogribose, úlceras (plano nasal, almofadas plantares e junções mucocutâneas), anorexia, perda de peso, febre e epistaxis.	Anormalidades clinicopatológicas compatíveis com a infeção por <i>L. infantum</i> , como por exemplo anemia não regenerativa leve, hipergamaglobulinemia e hypoalbuminemia. Subestádio: a) Perfil renal normal: creatinina < 1,4 mg/dl; não proteinúrico; RPC < 0,5 b) Proteinúrico: creatinina < 1,4 mg/dl; RPC = 0,2-0,5	Título de anticorpos positivo baixo a alto.	Antimoniato de meglumina + Alopurinol. Miltefosina + Alopurinol. Seguir as diretrizes da IRIS para DRC.	Bom a reservado
Estádio III- Doença severa	Cães que além dos sinais clínicos referidos nos estádios I e II, podem apresentar lesões originadas por deposição de imunocomplexos: vasculites, artrites, uveíte e glomerulonefrite.	Alterações clinicopatológicas referidas no estágio II. DRC Estádio I da IRIS com proteinúria RPC > 0,5 ou Estádio II da IRIS da DRC (creatinina 1,4-2 mg/dl).	Título de anticorpos positivo médio a alto.	Antimoniato de meglumina + Alopurinol. Miltefosina + Alopurinol. Seguir as diretrizes da IRIS para DRC.	Reservado a mau
Estádio IV- Doença muito severa	Cães com sinais clínicos referidos no estágio III. Tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótica e estágio final de doença renal.	Alterações clinicopatológicas referidas nos estádios II e III. Estádio III da IRIS da DRC (creatinina 2,1-5 mg/dl) e Estádio IV da IRIS da DRC (creatinina > 5 mg/dl) ou Síndrome nefrótica ou proteinúria marcada RPC > 5.	Título de anticorpos positivo médio a alto.	Tratamento específico deve ser instituído individualmente. Seguir as diretrizes da IRIS para DRC.	Mau

12. Tratamento

O objetivo do tratamento na Leishmaniose canina é controlar e tratar as alterações clínicas, melhorar a imunidade celular do paciente, reduzir a carga parasitária, evitar recidivas e diminuir a infecciosidade para o vetor.^{14,74} Os cães na maioria das vezes, após tratamento, atingem a remissão temporária ou permanente da doença clínica. Porém, raramente eliminam todos os parasitas, e apesar de menor capacidade de transmissão, permanecem infecciosos para flebótomos.^{11,28} A eliminação total do parasita é muito difícil, por isso, a maioria dos protocolos de curta duração, normalmente, têm recidivas dentro de um ano após a interrupção do tratamento.⁷⁴ Ainda assim, os protocolos médicos atuais promovem a cura clínica, aumentando a expectativa e a qualidade de vida do paciente. A resposta imunitária é fundamental na resposta ao tratamento. A maioria dos cães apresenta melhoria clínica dentro do primeiro mês de tratamento.^{72,91}

Na Europa, os fármacos utilizados como primeira escolha no tratamento da Leishmaniose canina são o antimoniato de meglumina e miltefosina (leishmanicidas) e o alopurinol (leishmanioestático).^{11,92} Alguns fármacos, de segunda linha, tais como a aminosidina, pentamidina, marbofloxacina enrofloxacina, metronidazol, cetoconazol e espiamicina, podem ser usados como complemento à medicação específica. Como já foi demonstrado nalguns casos clínicos, podem ser úteis no tratamento de infecções secundárias, na melhoria de sinais clínicos, em cães que não respondem ou são intolerantes a outros medicamentos e para aqueles que necessitam de um tratamento oral.^{11,14,93,94,95}

Para além da terapia específica, é recomendado o tratamento de suporte juntamente com uma dieta adequada com teores baixos em proteína, suplementada com ácidos gordos, sulfato de zinco e antioxidantes. Adicionalmente, o uso de agentes imunoestimulantes e adjuvantes nutricionais como ácidos gordos polinsaturados (ómega-3) e o complexo de vitaminas B, podem ser úteis a regular a inflamação, a fortalecer o sistema imunitário e a melhorar os sinais clínicos.^{95,96}

É importante salientar que em cães infetados, mas clinicamente saudáveis, não é recomendado iniciar o tratamento específico com fármacos anti-*Leishmania*. Devem ser monitorizados através da serologia quantitativa ou PCR, com o objetivo de detetar a progressão da doença, porque tratamentos desnecessários podem perturbar o equilíbrio imunitário destes animais. Cães no estágio I requerem um tratamento menos prolongado com um ou dois fármacos combinados ou apenas monitorização. Nos estádios II e III é recomendado o tratamento com combinação de alopurinol mais antimoniato de meglumina ou miltefosina. Cães no estágio IV devem ser tratados apenas com alopurinol, para evitar mais danos renais.¹⁴ Cães nos estádios III e IV caracterizam-se pela presença de dano renal significativo, sendo importante começar o

tratamento com alopurinol em combinação com o tratamento indicado para doença renal, seguindo as diretrizes da *International Renal Interest Society (IRIS)*.^{69,79} Cães com doença moderadamente grave, são incapazes de controlar a infecção e sem tratamento adequado, a doença progredirá até a morte do animal.^{92,97}

Caso não haja melhoria clínica após a instituição do tratamento, deve-se considerar um medicamento alternativo ou uma dosagem diferente, devido à resistência aos fármacos ou à elevada suscetibilidade de alguns cães à infecção por *Leishmania*. Adicionalmente, o diagnóstico deve ser questionado e o animal deve ser avaliado quanto à presença de doenças concomitantes causadas por outros patógenos transmitidos por vetores, endocrinopatias, neoplasias ou doenças mediadas pelo sistema imunológico, todas as quais podem afetar a resposta ao tratamento.^{17,98}

12.1 Alopurinol

O alopurinol (Zyloric®, Faes Farma Portugal) é um análogo da hipoxantina que inibe a enzima xantina oxidase, bloqueando a conversão de hipoxantinas em xantinas e estas em ácido úrico. É metabolizado pelo parasita, atuando como um nucleótido falso, sendo incorporado no ácido ribonucleico (ARN), levando a uma tradução defeituosa de proteínas e inibição da multiplicação do parasita, sendo por isso um medicamento leishmanioestático.^{14,99}

O alopurinol é combinado frequentemente com outros fármacos, mas pode ser usado como monoterapia em cães no estágio I ou em cães assintomáticos, mas com altos níveis de Ac. O alopurinol tem ampla disponibilidade a nível mundial, baixo custo e baixa toxicidade, sendo por isso eficaz em cães com danos renais. Tem a vantagem de ser administrado por via oral, na dose de 10 mg/Kg, duas vezes ao dia (BID), durante pelo menos seis a doze meses.^{11,14,28} É rapidamente absorvido pelo trato gastrointestinal, atingindo as concentrações máximas uma a três horas após administração.⁹⁹ Pode levar à melhoria dos sinais clínicos em quatro semanas e à redução dos parasitas a números indetectáveis. A recuperação completa é pouco comum, e a deterioração da função renal pode continuar durante a terapia com alopurinol, apesar da resolução das lesões na pele e da melhoria do estado geral do paciente.¹¹ No entanto, o tratamento com alopurinol parece levar à melhoria das lesões renais em cães com insuficiência renal.^{92,99} Recidivas podem ocorrer quando há interrupção ou durante o tratamento, estando por isso recomendada a associação com antimoniato de meglumina ou miltefosina.^{11,98}

O uso de alopurinol causa xantínúria que, ocasionalmente, pode levar à formação de cálculos urinários, estando indicada a monitorização destes efeitos secundários.^{92,99,100} Em doentes com xantínúria, em caso de estar contraindicado parar o tratamento, deve-se considerar uma dieta com teores baixos em purinas e aumento do consumo de água.⁹⁸ A duração do tratamento com alopurinol dependerá da gravidade da doença, da resposta ao tratamento e da tolerância ao fármaco, sendo necessário para alguns o tratamento para toda a vida.^{11,98} A decisão

de quando interromper o tratamento com alopurinol deve basear-se num exame clínico completo (exame físico, hemograma, bioquímicas e urianálise), que mostre a recuperação física e clinicopatológicas do paciente, e um teste de serologia quantitativo, que indique uma marcada diminuição dos níveis de Ac.⁹⁸

12.2 Antimoniais pentavalentes

Os antimoniais pentavalentes são considerados os fármacos de primeira linha para o tratamento da Leishmaniose canina e humana.⁹⁸ O antimoniato de meglumina (Glucantime®, Sanofi) é o fármaco mais comum usado em cães, apesar da alta toxicidade. Este fármaco tem de ser reduzido para a forma trivalente, mais ativa e tóxica, dentro de fagolisossomas dos macrófagos ou dentro do próprio parasita. O mecanismo de ação está relacionado com a inibição seletiva de enzimas protozoárias necessárias para a glicólise e oxidação de ácidos gordos, levando a danos no ADN do parasita.^{14,99} A dose é de 75 a 100 mg/Kg, uma vez ao dia (SID), por via subcutânea (SC), durante quatro a oito semanas. Para aumentar o tempo de semivida, a dosagem pode ser de 50mg/Kg BID.¹¹ Após 6 a 9 horas da administração, 80% a 95% do fármaco é eliminado pelos rins.⁹²

A combinação com alopurinol reduz a duração da terapia, tornando-a mais tolerável e menos dispendiosa. Cães tratados com esta combinação apresentaram um período de remissão mais longo do que quando tratados com qualquer um dos medicamentos isoladamente.¹⁰¹ A sinergia entre os medicamentos leva à remissão clínica, embora não leve à cura parasitológica completa.^{2,14,92}

A dor e o edema no local da injeção são os efeitos adversos mais comuns, embora abscessos e celulite cutânea também tenham sido reportados. Nefrotoxicidade, letargia, vômitos, diarreia, anorexia, tosse seca, variações na temperatura corporal e aumento das enzimas hepáticas séricas podem surgir. Nestes cães, o facto da via de excreção ser a urinária, pode comprometer a eliminação do fármaco, aumentando a concentração sanguínea e, conseqüentemente, a toxicidade.^{11,14,99}

A resistência ao antimoniato de meglumina em cães já foi relatada, devido à ampla e inadequada utilização deste fármaco. Deste modo, o seu uso pode ter algumas limitações devido ao desenvolvimento de resistências pelo parasita. A terapia combinada pode ser uma medida útil para contornar esse aspeto.^{98,102}

12.3 Miltefosina

A miltefosina é um alquilfosfolípido, desenvolvido como agente antineoplásico, com efeito leishmanicida. Para além de perturbar a síntese da membrana celular, ativa uma resposta

imune celular do tipo Th1, com produção de IFN- γ , e estimula a produção de intermediários microbicidas como o óxido nítrico e o oxigênio, aumentando a atividade de células T e macrófagos, que levam à apoptose celular.^{98,99} A miltefosina (Milteforan®, Virbac) é administrada por via oral, na dose de 2 mg/Kg, SID, durante quatro semanas.^{11,102} Tem sido usada, com sucesso na redução dos sinais clínicos e carga parasitária, em monoterapia e em combinação com o alopurinol, sendo uma alternativa eficaz aos antimoniais pentavalentes.¹⁴ Em doentes tratados com miltefosina e alopurinol observou-se redução da proteinúria. Devido à sua baixa nefrotoxicidade, a miltefosina tem sido recomendada em cães no estágio IV, com insuficiência renal crônica.^{14,74}

Mais de 90% da miltefosina é absorvida pelo trato gastrointestinal, metabolizada pelo fígado e excretada na bÍlis. Os efeitos adversos do tratamento são leves e transitórios, podem surgir ocasionalmente vômitos e diarreias, mas podem ser evitados, se administrados juntamente com a comida. Adicionalmente, é potencialmente teratogénica, devendo ser evitada durante a gestação.⁹⁹

12.4 Paromomicina ou aminosidina

Paromomicina ou aminosidina, são antibióticos aminoglicosídicos com atividade antibacteriana e anti-*Leishmania*. O mecanismo de ação não é claro, mas parece direcionar-se às mitocôndrias e às subunidades ribossomais, bloqueando a síntese de proteínas. A paromomicina é um tratamento de segunda linha que tem sido utilizado em cães como monoterapia e em combinação com o antimoniato de meglumina. O protocolo mais usado de aminosidina em cães é de 5 mg/Kg SID, via SC, durante três semanas, mais 60 mg/Kg BID de antimoniato de meglumina, via SC, durante quatro semanas. A combinação proporciona melhores resultados clínicos e parasitológicos do que cada fármaco isoladamente. Uma limitação para o uso mais frequente da aminosidina está relacionada com os efeitos tóxicos adversos, sobretudo renais e vestibulares.^{14,92}

12.5 Anfotericina B

A anfotericina B é um antifúngico e é o tratamento de eleição para a Leishmaniose visceral humana.⁹⁹ Tal como nos fungos, as espécies de *Leishmania* possuem ergosterol nas membranas, o que provavelmente explica a eficácia da anfotericina B que apresenta uma grande afinidade para o ergosterol das membranas parasitárias, formando poros que levam a um desequilíbrio iónico no parasita.^{92,99} A diminuição da sensibilidade ao fármaco já foi demonstrada em condições laboratoriais e no tratamento em humanos.¹⁰³ Assim, na tentativa de reduzir a seleção de parasitas resistentes, a Organização Mundial de Saúde (OMS) restringiu o uso de anfotericina B ao tratamento da Leishmaniose humana. Adicionalmente, em cães está associada

a efeitos adversos graves, a preparação da solução é complexa e a eficácia não está bem documentada.^{14,99}

12.6 Imunoterapia

A imunoterapia envolve o uso de substâncias biológicas ou moléculas com o objetivo de potencializar e/ou restabelecer a imunidade do cão, promover a redução da carga parasitária, melhorar os sinais clínicos e até prevenir a doença em cães não infetados.^{104,105} Adicionalmente, com o uso de imunomoduladores é possível reduzir as doses dos fármacos anti-*Leishmania*, o que é benéfico para reduzir os efeitos adversos e o desenvolvimento de resistências dos parasitas.^{95,106} Os imunomoduladores têm sido descritos como desencadeadores do sistema imunológico contra a infecção por *Leishmania*, resultando no controlo do parasita, e juntamente com o tratamento convencional podem ser uma chave terapêutica de sucesso no tratamento da doença.^{104,107}

A domperidona (Leisguard®, Ecuphar) e os nucleótidos nutricionais mais o composto correlacionado com hexose ativa (AHCC) (Impromune® Biolberica), podem ser utilizados como abordagem imunomoduladora na Leishmaniose canina.^{95,105} A domperidona é um antagonista do recetor D2 de dopamina e o seu efeito resulta na libertação de serotonina, que por sua vez estimula a produção de prolactina. A prolactina, para além de ser uma neurohormona, é uma citoquina pró-inflamatória derivada dos linfócitos, que estimula o sistema imunitário a aumentar a produção de IFN- γ , IL2, IL12 e TNF- α , levando ao aumento de macrófagos ativados.^{14,107,108} Adicionalmente, tem a capacidade de reduzir significativamente os títulos de Ac séricos. Este fármaco foi capaz de induzir melhorias clínicas em 86% dos cães afetados com múltiplos sinais clínicos, e redução de 38% dos títulos de Ac séricos.¹⁰⁴ O esquema de tratamento recomendado para cães é de 0,5 mg/Kg SID, por via oral, durante 30 dias, a cada três meses. O seu uso está descrito para o tratamento de doença leve (estádio I) ou para prevenção da doença em cães saudáveis seronegativos ou seropositivos.¹⁰⁹ Os efeitos secundários são ligeiros e ocasionais, e incluem vômitos, diarreia e galactorreia.^{104,107,108}

Os nucleótidos são exemplos de nutrientes biológicos com propriedades imunomoduladoras. Os AHCC são suplementos dietéticos ricos em alfa-glucanos, extraídos de cogumelos, com atividade antioxidante e com capacidade de estimular a resposta imune efetiva mediada por linfócitos Th1.¹¹⁰ Podem ser incorporados como componente de um protocolo multimodal de tratamento, tendo em consideração o estado clínico de cada paciente.⁹⁵ Apesar de não estar bem avaliado e documentado, foi sugerido o seu uso no tratamento de cães doentes combinado com antimoniato de meglumina. Esta combinação pode levar a uma eficácia clínica semelhante ao alopurinol mais antimoniato, sem aumentar a incidência de xantínúria, o que será útil em animais que apresentam complicações urinárias atribuíveis ao alopurinol. Além disso, também foi sugerido que cães infetados ou doentes no estágio I, juntamente com monitorização

adequada podem usar nucleótidos dietéticos em vez de alopurinol, ou para reduzir a infecciosidade de cães tratados.⁹⁵

Os agentes imunomoduladores podem ser muito úteis na prevenção, controlo e progressão da doença. O tratamento da Leishmaniose canina deve combinar fármacos parasiticidas e/ou parasitostáticos com imunoterapia.^{95,104,106}

13. Monitorização e Prognóstico

Os parâmetros que devem ser monitorizados dependem das alterações clínicas de cada paciente. Ainda assim, de uma forma geral, é recomendada a realização de exame físico, hemograma, perfil bioquímico, urianálise com RPC, proteinograma, serologia quantitativa e PCR.^{28,98}

Em cães infetados saudáveis, é recomendado repetir os exames cada três a seis meses, de maneira a identificar se é uma situação progressiva que pode acabar em doença e necessitar de tratamento específico.^{28,98}

Animais nos estádios I e II, devem realizar análises de controlo após o primeiro mês de tratamento e, seguidamente, a cada três a quatro meses durante o primeiro ano. Alterações no estado geral e clinicopatológicas compatíveis com Leishmaniose pode indicar reativação da doença. Se o paciente estiver estável ou após cura clínica, para detetar e prevenir recaídas, deve ser avaliado cada seis a doze meses.^{28,98}

Alguns especialistas recomendam realizar um primeiro controlo de creatinina durante a primeira semana de tratamento, porque há animais que sofrem danos renais marcados durante os primeiros dias de tratamento.^{78,98} Nalguns casos, também se pode parar o tratamento específico e iniciar um tratamento curto com glucocorticoides em doses anti-inflamatórias com o objetivo de reduzir a inflamação renal secundária à deposição de complexos imunes.⁷⁸

A serologia quantitativa deve repetir-se a cada seis meses após início do tratamento. Alguns cães devem apresentar uma diminuição significativa nos níveis de Ac, dentro de seis meses a um ano de tratamento, enquanto outros podem não apresentar essa diminuição, apesar da melhoria clínica. Por outro lado, um aumento marcante nos níveis de Ac deve ser interpretado como um indicador de recidiva, especialmente em cães que interromperam o tratamento.^{14,28,72}

Cães doentes nos estádios III e IV, devem ser avaliados ao nível do exame físico, pressão arterial, hematócrito, proteínas totais, creatinina, ionograma e urianálise com RPC. A monitorização destes parâmetros deve ser realizada na semana seguinte ao início do tratamento e pelo menos uma vez por mês nos primeiros três meses. Após este período, o paciente deve ser reavaliado a cada dois/três meses. A serologia quantitativa deve ser avaliada a cada seis meses.^{28,98}

O prognóstico está dependente do estágio clínico inicial de cada paciente (Tabela 24), sobretudo do nível de danos renais e da resposta ao tratamento. O prognóstico é muito mais favorável em cães tratados do que não tratados. Cães sem comprometimento renal ou apenas com proteinúria leve têm uma taxa de recuperação superior em relação àqueles com insuficiência renal. A insuficiência renal é considerada o principal fator prognóstico negativo para cães com Leishmaniose. A progressão da doença renal é a causa de morte mais comum, especialmente quando acompanhada de anemia e acidose metabólica^{28,90} A anemia grave é frequentemente considerada um fator de prognóstico desfavorável em doenças não infecciosas e infecciosas. Como a anemia devido à Leishmaniose, normalmente, é leve a moderada, a presença de anemia grave pode levantar a suspeita de outras coinfeções. Animais com doenças concomitantes têm um prognóstico menos favorável.¹¹¹

14. Prevenção e controle

A prevenção e o controle da Leishmaniose dependem amplamente da região geográfica. Em zonas endêmicas, deve-se realizar um trabalho contínuo e ativo, enquanto em zonas não endêmicas normalmente só é realizada vigilância passiva.³

As medidas para controlar a doença nas populações caninas de alguns países endêmicos, são controversas e não têm sido consideradas efetivas. Por exemplo, no Brasil e na China, o tratamento de cães não é por norma realizado, sendo a eutanásia recomendada após o diagnóstico.^{14,112} O abate de cães seropositivos é inaceitável para os proprietários, além de ser ineficaz no controle da disseminação da doença, pela existência de outras fontes de infecção.¹¹

Na Europa mediterrânea, as medidas preventivas são principalmente baseadas em barreiras físicas e repelentes, para evitar a picada do vetor, e na imunoprofilaxia, que promove o desenvolvimento de uma resposta imune capaz de controlar a infecção.^{102,113} Em áreas endêmicas, a temporada de transmissão começa em abril e continua até novembro. Por exemplo, no sul da Espanha, Itália, Portugal e Grécia pode ser necessário proteger os cães durante todo o ano.¹⁷

Deve-se evitar atividades ao ar livre do anoitecer ao amanhecer, durante toda a época de transmissão, instalar redes mosquiteiras de malha fina em janelas e portas, usar sprays repelentes/inseticidas em casas e abrigos dos animais e remover locais de reprodução e áreas favoráveis aos flebótomos próximas a zonas habitadas.^{17,114} Para além destas medidas, melhorar o estado geral e nutricional dos cães, assim como as condições de habitação podem ajudar a reduzir o risco de infecção.¹¹²

O uso de moléculas repelentes como os piretroides sintéticos, em cães, tornou-se a ferramenta mais eficaz para a prevenção da infecção por *L. infantum*, protegendo contra mais de

90% das picadas dos flebotomos.^{102,115} Os piretroides sintéticos têm o efeito de repelir e, conseqüentemente, matar os flebotomos e estão disponíveis na forma de coleira, aplicação spot-on ou spray. Adicionalmente, têm baixa toxicidade e proporcionam uma dispersão relativamente rápida na superfície corporal.^{11,102} Os produtos comerciais, o início de efeito e a duração da ação protetora variam consoante o método utilizado e estão descritos na Tabela 25.¹¹⁶

Tabela 25: Substâncias ativas usadas em repelentes para prevenir a picada de flebotomos. O foco desta tabela são produtos licenciados na Europa, no entanto, certos produtos também estão disponíveis noutros continentes (Atualizada de Miró et al., 2017).

Substâncias ativas	Formato	Eficácia (%)	Início	Duração	Nome comercial (Laboratório)	Referências
Deltametrina	Coleira	94-96	7 dias	1 ano	Scalibor® (MSD)	Evans et al., 2022
Flumetrina, imidacloprid	Coleira	91-100	-	8 meses	Seresto® (Bayer)	Brianti et al., 2014
Permetrina, piriproxifeno	Spray	100	Instantâneo	2-3 dias	Duowin® (Virbac)	Molina et al., 2006
Permetrina, dinotefurano, piriproxifeno	Pipeta	84-100	24-48 horas	4 semanas	Vectra 3D® (Ceva)	Bongiorno et al., 2022
Permetrina, fipronil	Pipeta	87-99	24-48 horas	4 semanas	Frontline Tri-Act® (Merial)	Papadopoulos et al., 2017
Permetrina, imidacloprid	Pipeta	74-98	24-48 horas	3-4 semanas	Advantix® (Bayer)	Bouhsira et al., 2018
Permetrina, indoxacarb	Pipeta	84-99	24-48 horas	3-4 semanas	Activyl® Plus (MSD)	Frenais et al., 2014

Os médicos veterinários e os tutores devem verificar e seguir cuidadosamente as recomendações e instruções dos produtos em relação à frequência da reaplicação e ao modo de administração.^{11,106,123}

Em termos imunoproliféricos, apenas duas vacinas foram licenciadas na Europa, CaniLeish® (Virbac) e LetiFend® (LETIPharma).^{14,89} A primeira foi retirada do mercado, em 2021, por causar efeitos adversos graves e interferir nos testes de diagnóstico, enquanto a segunda é uma vacina segura com esquema vacinal de dose única e reforço anual.^{109,124} A administração da Letifend® está indicada a partir dos seis meses de idade, em cães saudáveis ou seronegativos. O pico de Ac é atingido 14 dias após administração.¹²⁴ Letifend® é uma vacina DIVA que estimula a produção de Ac contra a proteína Q, uma proteína recombinante composta

por fragmentos de diferentes proteínas derivadas de *L. infantum*.^{75,89} Apesar de não impedir a infecção, tem uma eficácia de 72% na prevenção do desenvolvimento de sinais clínicos.¹¹⁸ Todos os cães propostos para vacinação devem ser testados. A decisão de vacinar deve ser baseada nos seguintes critérios: benefício/risco individual para o cão, idade, raça, estilo de vida ou uso, habitat, estado reprodutivo e conformidade do proprietário.¹⁰²

Os meios de transmissão não vetorial são uma preocupação, especialmente em áreas endêmicas. Os cães dadores de sangue e qualquer cão destinado à reprodução deve realizar um teste serológico quantitativo preciso antes do acasalamento. Cães com resultado positivo nos testes não devem ser usados para reprodução. Cadelas infetadas, mesmo sem sinais clínicos podem transmitir o parasita.^{17,102}

15. Implicações na saúde pública

O conceito “One Health” baseia-se numa interação entre a saúde humana, animal e ambiental, tendo em conta vários parâmetros coassociados entre as três vertentes. A Leishmaniose com o seu potencial zoonótico e com uma análise epidemiológica marcada pela globalização e alterações climáticas, mostra-se como um grande exemplo de interatividade no conceito “One Health” e com consequências a nível de saúde pública.¹²⁵

O aumento do número de espécies que podem atuar como possíveis reservatórios animais, as alterações no comportamento de flebótomos e a deslocação de animais, são fundamentais na epidemiologia da doença e no seu aparecimento em áreas outrora livres de doença. Desnutrição, condições socioeconómicas precárias, o aumento da população canina e a relação cada vez mais próxima com os seres humanos, são fatores de risco e motivos de grande preocupação para a saúde pública.^{11,34,126}

O uso de fármacos comuns no tratamento da doença em humanos e animais, estão no topo da pirâmide de risco associado à transmissão zoonótica da Leishmaniose.^{11,30} Os efeitos adversos, a necessidade de administração parenteral a longo prazo e o alto custo dos medicamentos podem reduzir a adesão dos proprietários ao tratamento. Para além disso, a cura parasitológica não é alcançada, aumentando substancialmente o risco de desenvolvimento de resistências dos parasitas aos fármacos, razão pela qual a OMS refere que não se deve usar os mesmos fármacos no tratamento da Leishmaniose canina e humana.^{3,15}

Em áreas endêmicas, como referido anteriormente, a vigilância deve ser contínua e ativa, médicos veterinários e agências locais de saúde pública e meio ambiente devem manter uma estreita relação. Adicionalmente, os tutores também devem ter um papel ativo e ter consciência da importância da doença, a sua natureza e dimensão zoonótica e as medidas necessárias de

prevenção e controle. Qualquer infecção não deve ser negligenciada, pois em alguns casos pode haver manifestação da doença ou contribuir para surtos zoonóticos de origem incerta.^{9,18,34}

Caso clínico

1. Identificação da paciente

Espécie: Canina

Raça: Dogue Alemão

Idade: Um ano

Peso: 38 Kg

Sexo: Fêmea

Estado reprodutivo: Esterilizada

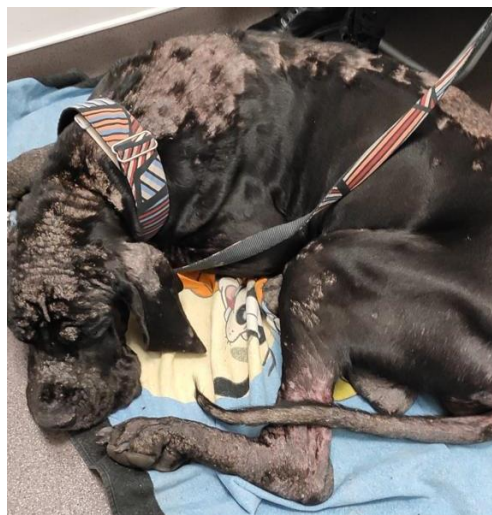


Figura 12: Paciente no dia da primeira consulta (Arquivo pessoal).

2. Anamnese

A paciente, uma fêmea da raça Dogue Alemão, de um ano de idade, apresentou-se a consulta no dia 14 de janeiro de 2020, com as queixas de prostração e tremores com aparecimento súbito.

A cadela apresentava a vacinação atualizada, incluindo a vacinação para a Leishmaniose com a vacina Letifend®, realizada aos seis meses de idade, após teste rápido negativo (Uranotest® LEISHMANIA). Além disso, a cadela utilizava, como medida preventiva contra a Leishmaniose, uma coleira repelente Seresto®, colocada em julho do ano anterior. A tutora não reportou outras alterações gerais ou sinais clínicos anteriores ao estímulo iatrogênico.

3. Exame Físico

No exame físico verificou-se alterações dermatológicas como dermatite esfoliativa com alopecia generalizada na cabeça, zona lombar, membros e cauda, acompanhada de hiperqueratose, liquenificação e seborreia seca. Adicionalmente, apresentava colaretes epidérmicos e pápulas no abdômen, onicogribose e plano nasal com crostas, bem como

linfadenomegalia generalizada, mais evidente nos gânglios linfáticos submandibulares e poplíteos e edema em várias articulações. À auscultação cardiopulmonar não se verificaram alterações. A cadela apresentava hipertermia (40,7°C) pelo que se sugeriu inicialmente a realização de uma ecografia abdominal e um painel completo de análises, incluindo hemograma e bioquímicas gerais.

4. Análises

No hemograma realizado, apresentado na Tabela 26, apenas se verificou trombocitopenia ligeira, confirmada com esfregaço sanguíneo. No painel de bioquímicas séricas, apresentado na Tabela 27, é possível verificar elevação das proteínas totais, ligeiro aumento da ALP e do IP.

Tabela 26: Hemograma realizado à paciente no dia 14 de janeiro de 2020.

Hemograma		Valor de Referência
Leucócitos Totais (x 10 ³ /μL)	6.10	6.00-17.00
Neutrófilos (x 10 ³ /μL)	4.40	3.62-12.3
Linfócitos (x 10 ³ /μL)	1.15	0.8-5.1
Monócitos (x 10 ³ /μL)	0.40	0.0-1.8
Eosinófilos (x 10 ³ /μL)	0.15	0.04-1.62
Basófilos (x 10 ³ /μL)	0.00	0.00-0.12
Neutrófilos (%)	72.1	52.0-81.0
Linfócitos (%)	18.8	12.0-33.0
Monócitos (%)	6.6	2.0-13.0
Eosinófilos (%)	2.4	0.5-10.0
Basófilos (%)	0.1	0.0-1.3
Eritrócitos (x 10 ⁶ /μL)	6.96	5.1-8.5
Hemoglobina (g/dL)	146	110-190
Hematócrito (%)	42.4	33.0-56.0
MCV (fL)	60.9	60.0-76.0
MCH (pg)	20.9	20.0-27.0
MCHC (g/dL)	344	300-380
RDW-CV (%)	21.5	12.5-17.2
RDW-SD (fL)	58.3	33.2-46.3
Plaquetas (x 10 ³ /μL)	96	117-490
MPV (fL)	10.1	8.0-14.1
PDW (10GSD)	16.5	12.0-17.5
PCT (%)	0.097	0.090-0.580

Tabela 27: Bioquímicas séricas realizadas à paciente no dia 14 de janeiro de 2024.

Bioquímicas Séricas		Valor de referência
Proteínas totais (g/dl)	8.2	5.0 – 7.2
Albumina (g/dl)	3.3	2.6 – 4.0
ALP (UI/L)	157	13 - 83
Glucose (mg/dL)	117	75 - 128
Bilirrubina total (mg/dL)	0.2	0.1 - 0.5
Fósforo inorgânico (mg/dL)	5.6	1.9 - 5.0
Colesterol total (mg/dL)	165	111 - 312
GGT (UI/L)	<10	5 - 14
ALT (UI/L)	17	17 - 78
Cálcio total (mg/dl)	11.4	9.3 - 12.1
Creatinina (mg/dL)	0.57	0.4 - 1.4
BUN (mg/dl)	9.0	9.2 - 29.2
Sódio (Na) (mEq/l)	148	141 - 152
Potássio (K) (mEq/l)	3.9	3.8 - 5.0
Cloreto (Cl) (mEq/l)	115	102 - 117

Na ecografia abdominal realizada foi possível observar esplenomegalia ligeira e subtil aumento dos linfonodos jejunais. Adicionalmente, observou-se conteúdo hiperecogénico suspenso no lúmen vesical e a parede da bexiga ligeiramente espessada. Tendo em conta os achados ecográficos, foi realizada cistocentese ecoguiada e recolhida uma amostra de urina para realização de urianálise tipo II e urocultura, cujos resultados não evidenciaram alterações dignas de registo.

Com base nos achados do exame físico e os resultados dos exames complementares de diagnóstico, foi sugerida a realização de análises de serologia para hemoparasitas, que inclui *Leishmania* (Leiscan®), *Rickettsia conorii*, *Ehrlichia canis*, e *Babesia canis*, cujos resultados estão apresentados na Figura 13. A paciente testou positivo para *Leishmania* (Rz de 5,1), *Rickettsia conorii* (positivo para as titulações 1/64 e 1/128) e *Ehrlichia canis* (positivo para a titulação 1/40), o que evidencia uma infeção mista, sobretudo com *Rickettsia conorii*.

Serologia		
Anticorpos Anti - Leishmania (ELISA)		
LEISCAN ELISA TEST	Positivo	Valorização - Rz > 1.1
Razão da amostra (Rz)	5,1	
Anticorpos Anti - <i>Rickettsia Conorii</i> IgG		
Titulação 1/64	Positivo	Valorização - títulos >1/64
Titulação 1/128	Positivo	
Anticorpos Anti-<i>Babesia canis</i> IgG		
Titulação 1/32	Negativo	Valorização - títulos >1/32
	Negativo	
Anticorpos Anti - <i>Ehrlichia canis</i> IgG		
Titulação 1/40	Positivo	Valorização - títulos >1/40
	Positivo	

Figura 13: Resultado do teste serológico realizado no dia 14 de janeiro de 2020.

5. Internamento

Face ao quadro clínico, a paciente ficou internada para estabilização, tratamento de suporte, continuação do diagnóstico e início do tratamento da infecção por hemoparasitas. Foi iniciada fluidoterapia 10 ml/Kg em dez minutos, bem como administração de anti-inflamatório não esteroide, robenacoxib na dose 2 mg/Kg, com o intuito de reduzir a febre. Posteriormente, iniciou-se antibioterapia contra a infecção por hemoparasitas, através da administração oral de doxiciclina na dose 5 mg/Kg, BID, durante 28 dias. Algumas horas após o início do tratamento médico ocorreu melhoria dos sinais clínicos, com redução da temperatura corporal retal e estabilização da paciente.

No dia seguinte foram realizados outros exames de diagnóstico, que incluíam serologia quantitativa de *L. infantum* e proteinograma, cujos resultados estão apresentados na Figura 14. Estas análises revelaram positividade para *L. infantum* em todas as titulações e, o perfil do proteinograma era sugestivo de gamopatia policlonal, com elevação das globulinas alfa2 e gama, um RAG de 0,4 e ligeira hipoalbuminemia.

A paciente teve alta hospitalar no final do dia 15 de janeiro, tendo sido prescrita medicação para casa, a administração oral de meloxicam, na dose de 0,1 mg/Kg, SID, e doxiciclina, mantendo a posologia já iniciada em ambiente hospitalar. Adicionalmente, os tutores foram aconselhados a manterem registos diários de temperatura retal, duas a três vezes por dia, e agendarem consulta de reavaliação no dia 24 de janeiro.

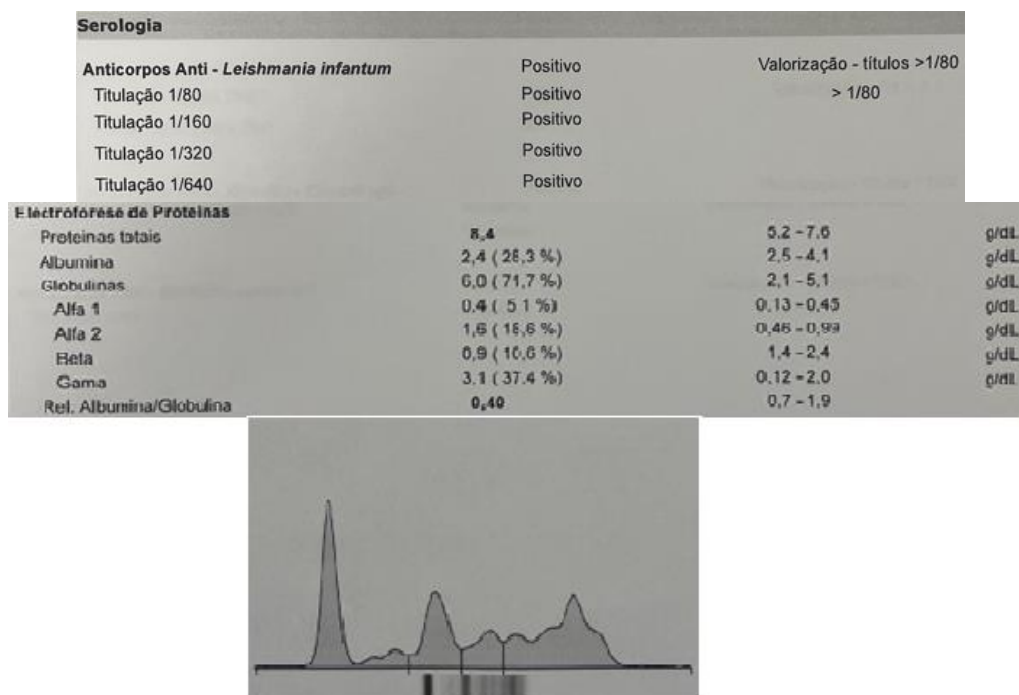


Figura 14: Proteinograma e serologia realizados no dia 15 de janeiro de 2020.

6. Seguimento

24/01/2020

Dez dias após a primeira consulta, a cadela manteve picos de hipertermia, com valores máximos de 40,4°C, sem alterações no apetite ou alterações gastrointestinais.

Ao exame físico mantiveram-se as alterações dermatológicas, edema articular e murmúrio vesicular ligeiramente aumentado, anteriormente registados. A palpação abdominal não apresentava alterações ou desconforto e, foi registada em consulta temperatura retal de 40,2°C.

Foram repetidas análises sanguíneas (hemograma e bioquímicas séricas) cujos resultados não evidenciaram alterações dignas de registo, com exceção das PT, que se mantinham elevadas (8,2 g/dL). Adicionalmente, foi realizada cistocentese para colheita de urina tipo II e RPC. No sedimento urinário foram detetados cristais amorfos e o RPC era de 0,9, o que sugere proteinúria.

Perante os sinais clínicos, o título de Ac, as alterações laboratoriais e o facto de apresentar uma infeção mista por vários agentes, foi determinado o estágio III para a paciente. Deste modo, nesse dia foi iniciado o tratamento contra a Leishmaniose, que inclui a administração oral de alopurinol, na dose 10mg/Kg, BID, bem como, a administração subcutânea

de antimoniato de meglumina (Glucantime®). No que diz respeito ao Glucantime®, foi utilizada uma dose inferior nos primeiros dois dias de tratamento (dose 50mg/Kg) tendo sido, posteriormente, iniciado o protocolo convencional com a injeção diária, na dose 100 mg/Kg, durante quatro semanas. Além disso, manteve a antibioterapia com doxiciclina até dia 11 de fevereiro e meloxicam 0,1 mg/Kg, durante cinco dias.

08/02/2020

No dia 8 de fevereiro, a doente apresentou-se em consulta de seguimento, tendo ocorrido melhoria dos sinais clínicos, com normalização das temperaturas retais registadas em casa. Contudo, a doente teve dois vômitos esporádicos, sem estar associado com a refeição, e os tutores reportaram prurido generalizado.

Ao exame físico, a temperatura retal era de 39,5 °C e não houve melhoria das lesões cutâneas, existindo, neste momento, lesões compatíveis com piodermatite. Por esta razão, foi repetido hemograma completo, cujos resultados revelaram ligeira leucocitose por neutrofilia ($12.9 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Foi definido um plano terapêutico com o objetivo de melhorar as alterações cutâneas e o tratamento sintomático dos vômitos esporádicos. Assim, foi prescrita antibioterapia por via oral, com amoxicilina+ácido clavulânico, na dose 22 mg/Kg, BID, durante um mínimo de 4 semanas, a iniciar após a conclusão do tratamento com doxiciclina, no dia 11 de fevereiro. Adicionalmente, de modo a controlar a dermatite seborreica, foram prescritos banhos bissemanais com Malaseb® (Dechra) e suplementação oral com ácidos gordos ómega-3. Para os vômitos foi iniciada administração oral, em jejum, de omeprazol, na dose 1 mg/Kg, BID e, durante a administração da antibioterapia.

26/02/2020

No final do mês de fevereiro a doente apresentou-se em consulta de seguimento, tendo sido reportado pelos tutores melhorias significativas no estado geral, mais ativa em casa e nos passeios, bem como, resolução do quadro pruriginoso. Durante este período, não foram relatadas alterações gastrointestinais e temperaturas retais entre 38°C e 38,5°C.

Ao exame físico constatou-se melhorias nas lesões cutâneas, ausência de pústulas, e redução da descamação e crostas.

Realizaram-se análises sanguíneas de controlo (hemograma completo e bioquímicas séricas), cujos resultados não revelaram alterações dignas de registo, excetuando-se ligeira elevação do fósforo inorgânico. Adicionalmente, foi colhida urina por cistocentese para urianálise tipo II e RPC. A análise de urina não apresentava alterações e verificou-se redução significativa do RPC para 0,26.

A doente manteve a antibioterapia anteriormente prescrita, além da proteção gástrica com omeprazol e hidróxido de alumínio. No que diz respeito ao tratamento contra a Leishmaniose, a doente continuou o tratamento com antimoniato de meglumina e alopurinol.

04/03/2020

Após a conclusão do tratamento com antimoniato de meglumina foi repetido o proteinograma, representado na Figura 15, com marcadas reduções nas globulinas alfa 2 e gama, bem como um RAG normal (RAG=0,58).

A doente manteve o tratamento com alopurinol até indicação em contrário e, foi sugerida consulta de reavaliação um mês após a conclusão do tratamento com antimoniato de meglumina.

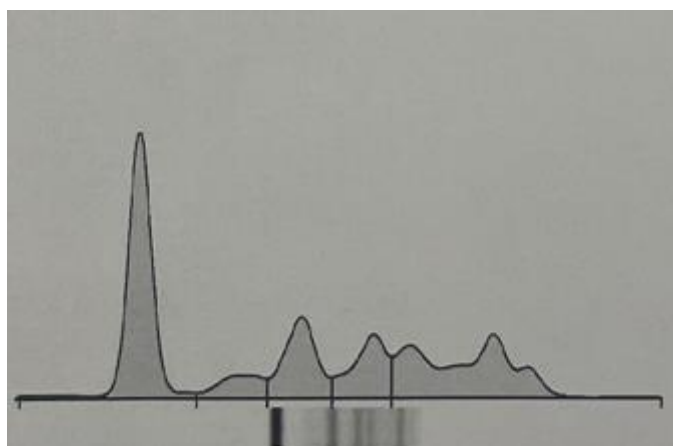


Figura 15: Proteinograma realizado no dia 4 de março de 2020.

27/03/2020

Um mês após a conclusão do tratamento com o leishmanicida antimoniato de meglumina, a paciente apresentou-se em consulta de reavaliação, com repetição do hemograma, bioquímicas séricas e urianálise com RPC.

Os resultados das análises realizadas encontravam-se dentro dos intervalos de referência, à exceção de uma ligeira elevação da ALP (88 **UI/L**). Por outro lado, o RPC encontrava-se normal, com ausência de proteinúria (0,08).

12/07/2020

A paciente foi acompanhada regularmente mostrando melhorias significativas nas lesões cutâneas e estaria programada uma consulta de reavaliação em agosto de 2020. No entanto, voltou a consulta, uma vez que os tutores reportaram aumento da produção de urina e disúria, bem como apetite caprichoso, sem outras alterações registadas.

Foi colhida urina por cistocentese ecoguiada para realização de urianálise tipo II e urocultura, tendo sido iniciado tratamento sintomático com robenacoxib na dose 1,5 mg/Kg, SID, durante quatro dias.

22/07/2020

Dez dias após a última consulta, foram transmitidos os resultados da urianálise e urocultura, verificando-se a presença de cristais de xantina e urocultura positiva para *Enterococcus spp.*, cujo teste de sensibilidade aos antibióticos revelou sensibilidade para o antibiótico fosfomicina. Foi realizada, igualmente, ecografia abdominal, com a presença de sedimento vesical, mas sem a visualização de cálculos urinários no trato urinário. Face a estes resultados, foi iniciada antibioterapia com fosfomicina oral 40 mg/Kg, SID, durante sete dias e dieta veterinária baixa em purinas (*Royal Canine Urinary U/C Low Purine®*).

08/08/2020

No dia oito de agosto a paciente apresentou-se em consulta de seguimento, com exame físico sem alterações, e os tutores reportaram resolução dos sintomas urinários. Foi repetida urocultura, cujos resultados revelaram resolução da infeção urinária. Adicionalmente, foi realizado o controlo de infeção por *Leishmania spp.*, através de serologia quantitativa, cujos resultados demonstraram positividade apenas para a titulação 1/80.

22/01/2021

A paciente apresentou-se em consulta de monitorização da infeção por *Leishmania spp.* e *Ehrlichia canis*, um ano após o diagnóstico. Os tutores não reportaram alterações do estado geral e o exame físico não apresentava alterações dignas de registo.

Foram repetidas análises laboratoriais como o hemograma, bioquímicas séricas, serologia por ELISA, urianálise tipo II e RPC. Ao hemograma foi detetada hemoconcentração com elevação ligeira do hematócrito (57.3%), e as bioquímicas encontravam-se normais, com exceção da ligeira elevação da ALP (89 **UI/L**). Na análise do sedimento urinário não foram detetados cristais de xantina nem bactérias, e o RPC mantinha-se normal, com ausência de proteinúria (RPC=0,23). No teste de serologia por ELISA foi obtido um valor “duvidoso”, tendo sido sugerido aos tutores a repetição do teste em 6 meses.

16/07/2021

Seis meses após a última monitorização, a cadela voltou para consulta de seguimento, sem alterações relevantes ao exame físico, hemograma e bioquímicas séricas com valores normais, tendo sido repetido, igualmente, o teste serológico por ELISA, cujo resultado foi negativo (Rz=0,71). Com base nestes resultados, foi suspensa a administração oral de alopurinol, e recomendada consulta de reavaliação em quatro meses, com repetição do teste serológico ELISA.

No dia 12 de novembro foi realizada a última consulta de seguimento da paciente diagnosticada com Leishmaniose. Nesta consulta os tutores reportaram ausência de alterações no estado geral, apetite normal e ausência de alterações urinárias.

No exame físico não se registaram alterações à normalidade.

Foram realizadas análises laboratoriais como o hemograma, bioquímicas séricas, RPC e teste serológico por ELISA. O hemograma e as bioquímicas encontravam-se sem alterações. O RPC mantinha-se normal, com ausência de proteinúria (RPC = 0,15) e, o teste serológico por ELISA para *Leishmania spp.* mantinha-se negativo (Rz=0,62).

7. Discussão

Ao longo dos anos, a Leishmaniose canina em Portugal, tem vindo a aumentar. Em 2009, a seroprevalência nacional era de 6,5%. Porém, em 2021 a seroprevalência aumentou para 12,5%. Este acréscimo pode ser resultado da elevação global da temperatura, com invernos menos rigorosos, que potenciam o aumento do número de flebótomos e do número de meses de atividade flebotomínica. Adicionalmente, a maior proximidade dos cães com os seres humanos e a maior facilidade de deslocação de cães de zonas endémicas para não endémicas, juntamente com as vias de transmissão não vetorial e os relatos de resistências parasitárias aos fármacos são fatores que influenciam o aumento dos resultados positivos.^{7,11,44} No distrito de Lisboa, onde foi realizado o estágio, a seroprevalência, atualmente, é de 9,2%, acompanhando o aumento geral em relação a 2009. Apesar de não ser dos distritos com valores mais elevados de seroprevalência, a doença é considerada endémica em todo o território nacional, e por isso o risco de infeção é elevado.^{47,50}

A paciente em estudo era uma cadela com um ano de idade, de raça Dogue Alemão, estilo de vida *indoor*, e que realizava dois a três passeios diários. O facto de viver *indoor* diminui o risco de infeção, mas os passeios em parques e zonas florestais com matéria orgânica ou águas estagnadas aumentam esse risco.^{47,50} Adicionalmente, a paciente é jovem e de uma raça pura predisposta à doença.²³ A paciente fazia prevenção com coleira repelente Seresto® e estava vacinada com a vacina Letifend®. A coleira tem efeito repelente e inseticida, reduzindo até 90% as picadas dos flebótomos.^{102,114} A vacina tem uma eficácia de 72% na estimulação da resposta imunitária celular e redução das manifestações clínicas.¹²⁷ Para além da aplicação de piretroides sintéticos e da vacinação, pode ser adicionada a imunoterapia com Leisguard®, cuja função é estimular uma resposta imunitária celular do tipo Th1. Apesar de não conferirem 100% de eficácia na prevenção da doença, são os métodos profiláticos mais indicados.^{14,107} Durante a época de transmissão, houve um período de exposição ao vetor que a paciente não se

encontrava devidamente protegida, uma vez que a vacina e a coleira repelente apenas foram aplicadas em julho do ano anterior, além disso, uma falha vacinal e a infecção mista por outros agentes podem explicar o desenvolvimento da doença clínica exuberante.^{17,89}

Na abordagem diagnóstica, perante a diversidade e inespecificidade dos sinais clínicos foram realizadas análises gerais à paciente em estudo, como hemograma, parâmetros bioquímicos séricos e urinários com urocultura e a realização de uma ecografia abdominal. As alterações observadas como hiperproteinemia, trombocitopenia, aumento da ALP, esplenomegalia e linfadenomegalia dos linfonodos jejunais, associadas às alterações do exame físico (lesões cutâneas, artropatias, linfadenomegalia e hipertermia/febre), são manifestações clínicas associadas à infecção pelos hemoparasitas, sobretudo por *L. infantum*.^{11,58} Ainda assim, o aumento da ALP e a esplenomegalia ligeira pode ser achados fruto da idade da paciente.¹²⁸ Os sinais clínicos, reportados pela tutora, letargia após o passeio e os tremores generalizados podem estar associados à intolerância ao exercício ou às alterações articulares e musculoesqueléticas.¹¹ As proteínas séricas totais incluem a albumina e as globulinas, uma vez que a albumina está dentro dos valores de referência, este resultado aumentado surge da elevação das globulinas.⁸⁰ Na urianálise, a proteinúria sem azotemia é observada em casos iniciais de infecção.⁶⁶ Neste caso, a urianálise não apresentou alterações, a densidade urinária estava acima do valor de referência, demonstrando a capacidade da função tubular na concentração da urina. Contudo, o RPC tinha um valor superior ao valor de referência (RPC=0,9), o que sugere perda de proteína pela urina. Este resultado é reflexo das lesões glomerulares resultantes da deposição de complexos imunes nos glomérulos renais.² Adicionalmente, a causa mais comum da elevação sérica do fósforo inorgânico é a diminuição da taxa de filtração glomerular devido à doença renal crónica.⁸⁰ A hiperproteinemia existente remete para uma resposta inflamatória associada a infecções parasitárias, bacterianas ou neoplásicas.¹²⁸ Devido aos sinais clínicos apresentados, febre e alterações analíticas como trombocitopenia e hiperproteinemia foram realizados testes serológicos para diagnóstico de hemoparasitas.^{11,129} Estes apresentaram resultados positivos para *Leishmania spp.*, *Rickettsia conorii* e *Ehrlichia canis*. A serologia quantitativa foi realizada pelo método IFAT e ELISA, que determinou um resultado positivo para todas as titulações e uma razão da amostra (Rz) de 5,1, respetivamente, correspondendo a um título positivo alto.¹³⁰ Um título elevado de Ac para *Leishmania spp.*, juntamente com os sinais clínicos e as alterações clinicopatológicas que a paciente apresentava, foram os critérios para confirmação do diagnóstico de Leishmaniose.¹¹ Adicionalmente, foi também realizado um proteinograma de modo a avaliar a hiperglobulinemia existente no caso em estudo. O padrão obtido por eletroforese corresponde a uma gamopatia policlonal, e assim coincidente com doenças transmitidas por vetores (Leishmaniose, Erliquiose e Rickettsiose).^{71,80} Este padrão surge do aumento das globulinas α_2 , que incluem as proteínas de fase aguda positivas, detetadas na fase inicial da doença e das globulinas β e γ , pela intensa proliferação de linfócitos B e consequente aumento dos títulos de Ac circulantes.^{71,80} Esta análise permitiu,

igualmente, a determinação do RAG, cujo resultado encontrava-se abaixo dos valores de referência, como é expectável nesta doença.⁷¹

Após o diagnóstico dos hemoparasitas, o foco foi a estabilização da paciente, pelo que foi iniciado tratamento sintomático para reduzir a febre, com robenacoxib na dose 2 mg/Kg, bem como o tratamento dirigido aos hemoparasitas, sendo iniciada antibioterapia com doxiciclina.^{129,131}

A etapa final do diagnóstico de Leishmaniose consiste no estadiamento da doença. De acordo com os estádios clínicos da doença estabelecidos pela Leishvet e pela avaliação clínica, onde a paciente apresentava um título de Ac muito alto, sinais clínicos evidentes de Leishmaniose, hiperglobulinemia, proteinúria (RPC = 0,9) e infeções concomitantes, foi determinado o estágio III, com prognóstico reservado.²⁸

Tendo em conta o estadiamento da doença, as diretrizes preconizam o tratamento da Leishmaniose com a combinação de alopurinol com antimoniato de meglumina ou miltefosina.²⁸ No hospital veterinário, optou-se pela combinação de alopurinol com antimoniato de meglumina. No entanto, segundo os parâmetros clínicos analisados, poderia ter sido escolhida a combinação de miltefosina com alopurinol, de maneira a evitar os efeitos adversos causados pelo antimoniato de meglumina, nomeadamente a nefrotoxicidade, uma vez que a paciente apresentava proteinúria.⁹⁹ As doses foram administradas de acordo com o protocolo recomendado, ou seja, alopurinol 10 mg/Kg, por via oral, BID, durante seis meses e antimoniato de meglumina 100mg/Kg, SID, por via SC, durante um mês.⁹⁸ Além do tratamento da Leishmaniose, a paciente realizou o tratamento contra a Eriquiose e Rickettsiose com doxiciclina 5 mg/Kg, por via oral, BID, durante 28 dias. Para o tratamento sintomático da febre foi administrado por via oral durante cinco dias, o anti-inflamatório não esteroide meloxicam 0,1 mg/Kg, SID.

Na segunda consulta de seguimento, devido ao agravamento da piodermatite, foi instituída antibioterapia de largo espectro, tendo sido iniciada após a conclusão da doxiciclina. Posto isto, foi prescrito por via oral, amoxicilina+ácido clavulânico 22 mg/Kg, BID, durante quatro semanas, bem como a realização de banhos bissemanais com Malaseb® (Dechra) e suplementação com ácidos gordos ómega-3 para alívio do prurido.¹³² Contudo, os banhos e os suplementos podiam ter sido prescritos no momento do diagnóstico, tendo em conta a dermatite seborreica que a cadela apresentava. Devido ao aparecimento de vômitos esporádicos, que podem ser secundários à farmacoterapia, foi iniciada administração oral, em jejum, de omeprazol 1 mg/Kg, BID, até conclusão da antibioterapia.⁹⁸ Um mês após o início do tratamento da leishmaniose, tal como indicado nas diretrizes de monitorização da doença, a paciente foi reavaliada e foram realizadas análises gerais de seguimento.²⁸ A paciente apresentava melhorias no estado geral, os valores de temperatura normalizaram e as lesões cutâneas e o prurido tinham melhorado substancialmente. Em relação às análises de seguimento, houve melhorias significativas, com a exceção do IP, que se mantinha elevado e o RPC tinha diminuído,

de 0,9 para 0,26, ilustrando a redução da proteinúria. Adicionalmente, o proteinograma foi repetido, os valores de globulinas α_2 e γ diminuíram e o RAG aumentou de 0,4 para 0,58. Estes resultados demonstravam que o protocolo terapêutico estava a controlar a progressão da doença e o processo inflamatório. Ainda assim, foi sugerida nova consulta de reavaliação um mês após término do antimoniato de meglumina para repetição das análises que não apresentaram alterações. Foi marcada nova consulta de avaliação quatro meses depois. Porém, um mês antes desse tempo a paciente voltou ao hospital com queixas de perdas de urina e apetite intermitente. Perante isto, foram realizadas análises gerais que não tinham alterações dignas de registo, exceto na urianálise que se detetou a presença de cristais de xantina e a urocultura foi positiva para *Enterococcus spp.*, sensível à fosfomicina. A presença de cristais de xantina na urina é um dos efeitos secundários do tratamento com alopurinol.^{28,98} Deste modo, foi iniciada antibioterapia com fosfomicina oral 40 mg/Kg, SID, durante sete dias e ração baixa em purinas (*Royal Canin Urinary U/C Low Purine*®).⁹⁸ Duas semanas depois, a paciente foi reavaliada e já não manifestava os sinais clínicos anteriormente descritos. Além disso, a urocultura teve um resultado negativo. Adicionalmente, foi realizado o controlo de infeção por *Leishmania spp.* através de serologia quantitativa, cujo resultado revelou positividade apenas para a titulação 1/80. Este resultado significava um controlo adequado da doença, bem como a produção de uma resposta imunitária eficiente por parte da paciente.

Cinco meses depois a paciente foi novamente reavaliada. As análises apresentavam valores normais, à exceção de ligeiro aumento do hematócrito e ALP. O aumento da ALP pode ser resultado da administração crónica de alopurinol.⁹⁸ O valor de razão dos Ac foi “duvidoso”, pelo que foi aconselhado repetição da análise seis meses depois. Após seis meses, foi então realizado novo teste serológico, no qual o valor da razão foi igual a 0.71, correspondendo a um resultado negativo. Tendo por base este resultado, o tratamento com alopurinol foi suspenso, sendo aconselhada a repetição da serologia quatro meses depois. Na última consulta de seguimento, a paciente apresentava um bom estado geral e de acordo com os tutores tinha retomado ao comportamento normal. No exame físico, hemograma e parâmetros bioquímicos não se registaram alterações à normalidade. O RPC foi determinado (resultado de 0,15) e os testes serológicos para *Leishmania* confirmaram o teste anteriormente realizado, cujo resultado foi negativo (Rz=0,62). Assim, de acordo com estes resultados, após recuperação física e clinicopatológica completa a paciente teve alta médica.

A imunoterapia com o Leisguard® poderia ter sido uma solução alternativa eficaz para restabelecer e potencializar a imunidade da paciente, reduzir a carga parasitária, melhorar os sinais clínicos e assim ajudar a controlar a progressão da doença.^{95,104} A imunoterapia juntamente com o tratamento convencional tem mostrado resultados promissores.¹⁰⁴ Adicionalmente, é possível reduzir as doses dos fármacos anti-*Leishmania*, que teria sido útil no presente caso, por exemplo na redução dos efeitos adversos do alopurinol.^{95,106}

Conclusão

O presente relatório é uma componente integrada no estágio curricular realizado no OneVet Hospital Veterinário de Berna. O estágio permitiu aprofundar e consolidar conhecimentos nas mais diversas áreas da clínica de animais de companhia. Esta experiência contribuiu significativamente para a formação académica do estagiário, enriquecendo ainda mais o percurso académico que trilhou no âmbito do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.

Na Europa, a Leishmaniose canina é uma zoonose transmitida por vetores do género *Phlebotomus*, provocada por *L. Infantum*, um parasita protozoário intracelular obrigatório. O cão é o principal hospedeiro reservatório, e partilha o mesmo habitat que o Homem, constituindo assim um risco para a saúde pública. Adicionalmente, a epidemiologia da doença tem sofrido alterações ao longo do tempo, devido às alterações climáticas e globalização, proporcionando o aparecimento de novos casos em áreas livres de doença, e favorecendo o aumento da atividade flebotomínica e da duração da época de transmissão, aumentando, assim, o risco para a saúde animal e humana.

A doença apresenta uma grande variedade e inespecificidade de manifestações clínicas, sendo necessária uma abordagem diagnóstica integrada com o historial clínico, os sinais clínicos, as alterações clinicopatológicas, e os exames para deteção direta do parasita nos tecidos ou de Ac anti-*Leishmania*, por serologia. Os Ac descobertos advêm de um contato com o parasita, uma vez que a vacina atualmente comercializada (Letifend®) é uma vacina DIVA. Níveis elevados de Ac, juntamente com sinais clínicos e/ou alterações clinicopatológicas compatíveis são conclusivos para o diagnóstico de Leishmaniose canina.

Os protocolos de tratamento da doença devem ser adotados consoante as alterações clinicopatológicas e necessidades de cada animal. O protocolo usado no caso clínico descrito permitiu atingir a cura clínica, já que a cura parasitológica é muito difícil de alcançar. O uso de agentes imunomoduladores deve ser adicionado ao protocolo terapêutico, permitindo reduzir as doses dos fármacos anti-*Leishmania*, que pode ser muito útil na redução dos efeitos adversos e no desenvolvimento de resistências dos parasitas.

O médico veterinário tem um papel fundamental na sensibilização dos tutores para a importância dos métodos preventivos. As medidas preventivas são baseadas principalmente na utilização de inseticidas/repelentes tópicos, na forma de pipeta ou coleira, para evitar a picada do vetor, e na imunoprofilaxia (vacinação e agentes imunomoduladores) que promove o desenvolvimento de uma resposta imune capaz de controlar a infeção. No entanto, apesar de reduzirem substancialmente a transmissão do parasita, não impedem a 100% a infeção e o desenvolvimento da doença.

Apesar da crescente evidência científica em torno da Leishmaniose canina, uma vez que é uma zoonose com grande impacto na saúde pública, é necessário complementar o conhecimento atual e implementar globalmente as medidas necessárias ao controlo da disseminação da doença.

Bibliografia

1- Cardoso L, Mendão C, Madeira de Carvalho L (2012) Prevalence of *Dirofilaria immitis*, *Ehrlichia canis*, *Borrelia burgdorferi sensu lato*, *Anaplasma* spp. and *Leishmania infantum* in apparently healthy and CVBD-suspect dogs in Portugal - a national serological study. *Parasit Vectors*; 5(1): 62. doi: 10.1186/1756-3305-5-62.

2- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miro G, Cardoso L, Pennisi M. G, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. (2009) Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*; 165 (1): 1–18. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.

3- WHO (World Health Organization) - Leishmaniasis [Consult. 25 mai. 2023]: <https://www.who.int>.

4- Bañuls A, Hide M, Prugnolle F (2007) *Leishmania* and the Leishmaniases: A Parasite Genetic Update and Advances in Taxonomy, Epidemiology and Pathogenicity in Humans. *J. adv. parasitol*; 64. p. 1–458. doi: 10.1016/S0065-308X(06)64001-3.

5- Alemayehu B, Alemayehu M (2017) Leishmaniasis: A Review on Parasite, Vector and Reservoir Host. *Health Sci. J.* 11:4 doi: 10.21767/1791-809X.1000519.

6- Rombolà P, Barlozzari G, Carvelli A, Scarpulla M, Iacoponi F, Macrì G (2021) Seroprevalence and risk factors associated with exposure to *Leishmania infantum* in dogs, in an endemic Mediterranean region. *PLoS ONE.* 16:1 January. doi: 10.1371/journal.pone.0244923.

7- Maroli M, Feliciangeli M. D, Bichaud L, Charrel R. N, Gradoni L (2013) Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol.* 27:2 123–147. doi: 10.1111/j.1365-2915.2012.01034. x.

8- Alemayehu B, Alemayehu M (2017) Leishmaniasis: A Review on Parasite, Vector and Reservoir Host. *Health Sci. J.* 11:4 doi: 10.21767/1791-809x.1000519.

9- Hong A, Zampieri R, Shaw J, Floeter-winter L, Laranjeira-silva, M. F. (2020) One health approach to leishmaniases: Understanding the disease dynamics through diagnostic tools. *Pathogens.* 9:10 1–24. doi: 10.3390/pathogens9100809.

10- Sharma U, Singh S (2008) Insect vectors of *Leishmania*: distribution, physiology and their control. *J. Vector Borne Dis.* 45:4 255–72.

11- Baneth G, Petersen C, Solano-Gallego L, Sykes J. E. (2022) Leishmaniosis. Em Sykes J. E., Rankin S. C., Papich, M G., Weese, J. S., Little S E., Greene C E. (Eds.) - *Greene's infectious diseases of the dog and cat.* 5th Edition ed. [Consult. 21 abr. 2023]. ISBN 9780323509343. p. 3880–3962.

- 12- OIE (World Organisation for Animal Health) - Leishmaniosis [Consult. 5 mar. 2023]. <https://www.woah.org>.
- 13- Gramiccia M. - Recent advances in leishmaniosis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Vet Parasitol*; 181:1 (2011) 23–30. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.04.019.
- 14- Morales-yuste M, Martín-sánchez J, Corpas-lopez V (2022) Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Vet Sci*; 9:8 doi: 10.3390/VETSCI9080387.
- 15- Mann S, Frasca K, Scherrer S, Henao-martínez A F., Newman S, Ramanan P, Suarez J A. (2021) A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Curr.Trop. Med*; 8:2 121–132. doi: 10.1007/S40475-021-00232-7/TABLES/3.
- 16- Baneth G, Koutinas A F., Solano-gallego L, Bourdeau P, Ferrer L (2008) Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol*; 24:7 324–330. doi: 10.1016/j.pt.2008.04.001.
- 17- ESCCAP (European Scientific Counsel Companion Animals Parasites) - Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats. 4ª Edição ed. Worcestershire: ESCCAP, 2023. ISBN 978-1-913757-46-5.
- 18- Palatnik-de-sousa C B.; Day M J. - One Health: The global challenge of epidemic and endemic leishmaniasis: <http://www.parasitesandvectors.com>.
- 19- Colwell D D, Dantas-torres F, Otranto D (2011) Vector-borne parasitic zoonoses: Emerging scenarios and new perspectives. *Vet Parasitol*; 182:1 14–21. doi: 10.1016/j.vetpar.2011.07.012.
- 20- Maurício I L. (2018) Leishmania taxonomy. Em Gradoni L, Bruschi F - The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases. p. 15–30. doi: 10.1007/978-3-319-72386-0_2/COVER.
- 21- Akhoundi M, Kuhls K, Cannet A, Votýpka J, Marty P, Delaunay P, Sereno D (2016) A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. *PLOS Negl Trop Dis*. 10:3 e0004349. doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0004349.
- 22- Alan G, Sarah J. Pitt (2021) Parasitology: An Integrated Approach, 2nd Edition. ISBN: 978-1-119-64119-3.
- 23- Baxarias Canals M, Solano-Gallego L (2023) Leishmaniosis Animal: Epidemiología, Inmunología e Patogenía. Em Solano-Gallego L (Ed.) - Vet Topics: La Leishmaniosis. 1. ed. Zaragoza: Grupo ASIS, p. 20–29.

- 24- Saridomichelakis M N. (2009) Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. *Vet Dermatol*; 20:5–6 471–489. doi: 10.1111/j.1365-3164.2009.00823. x.
- 25- Pace D (2014) Leishmaniasis. *J. Infect. Res.* S10–S18. doi: 10.1016/j.jinf.2014.07.016.
- 26- Sunter J, Gull K (2017) Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open Biol.* ISSN 2046-2441. 7:9 170165. doi: 10.1098/rsob.170165.
- 27- Rosypal A C (2005) Characterization of Canine Leishmaniasis in the United States: Pathogenesis, Immunological Responses, and Transmission of an American Isolate of *Leishmania infantum*. Dissertation submitted to the Faculty of the Virginia Polytechnic Institute & State University, United States of America, p.6-9.
- 28- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi M G, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G (2011) LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis *Parasit Vectors*, 86. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>.
- 29- Ribeiro R R, Michalick M S; Silva M E, Santos C, Frézard F, Silva S (2018) Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *BioMed Res. Int.* ISSN 23146141. doi: 10.1155/2018/3296893.
- 30- Maia C, Cardoso L (2015) Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling. *Vet Parasitol.* ISSN 18732550. 213:1–2 2–11. doi: 10.1016/j.vetpar.2015.05.003.
- 31- Campino L, Maia C (2010) Epidemiologia das Leishmanioses em Portugal. *Acta Med Port.* 23(5):859-864.
- 32- Killick-kendrick R (1999) The biology and control of Phlebotomine sand flies. *Clin Dermatol.* ISSN 0738081X. 17:3 279–289. doi: 10.1016/S0738-081X (99)00046-2.
- 33- Ready P D. (2013) Biology of phlebotomine sand flies as vectors of disease agents. *Annu Rev Entomol.* ISSN 00664170. 58: 227–250. doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153557.
- 34- World Health Organization (2010) Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis, Geneva, 22-26 March 2010. ISBN 9789241209496.
- 35- Lane, R.P. (1993). Sandflies (Phlebotominae). Em Lane, R.P., Crosskey, R.W. (eds) *Medical Insects and Arachnids*. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-94-011-1554-4_4.
- 36- Rosypal A C.; Zajac A M.; Lindsay D S. (2003) Canine visceral leishmaniasis and its emergence in the United States. *Vet. Clin. of North Am. - Small Anim. Pract.* ISSN 01955616. 33:4 921–937. doi: 10.1016/S0195-5616(03)00030-5.

- 37- Maroli M, Feliciangeli M. D., Bichaud L, Charrel R. N., Gradoni L. (2013) Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med vet entomol.* ISSN 1365-2915. 27:2 123–147. doi: 10.1111/J.1365-2915.2012.01034. X.
- 38- Alten Bulent *et al.* (2016) Seasonal Dynamics of Phlebotomine Sand Fly Species Proven Vectors of Mediterranean Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. *PLoS Negl Trop Dis.* ISSN 19352735. 10:2 doi: 10.1371/journal.pntd.0004458.
- 39- Cardoso L, Schallig H, Persichetti M F, Pennisi M G (2021) New Epidemiological Aspects of Animal Leishmaniasis in Europe: The Role of Vertebrate Hosts Other Than Dogs. *Pathogens.* ISSN 2076-0817. 10:3 307. doi: 10.3390/pathogens10030307.
- 40- Pereira A, Maia C (2021) - *Leishmania* infection in cats and feline leishmaniasis: An updated review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines. *Current Research in Parasitology and Vector-Borne Diseases.* ISSN 2667114X. 1: doi: 10.1016/j.crpvbd.2021.100035.
- 41- Maia C, Gomes J, Cristóvão J, Nunes M, Martins A, Rebêlo E, Campino L (2010) Feline *Leishmania* infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. *Vet Parasitol.* ISSN 03044017. 174:3–4 336–340. doi: 10.1016/j.vetpar.2010.08.030.
- 42- Maia C, Nunes M, Campino L (2008) Importance of cats in zoonotic leishmaniasis in Portugal. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases.* ISSN 15303667. 8:4 555–559. doi: 10.1089/vbz.2007.0247.
- 43- Taddei R, Bregoli A, Galletti G, Carra E, Fiorentini L, Fontana M C, Frasnelli M, Musto C, Pupillo G, Reggiani A, Santi A, Rossi A, Tamba M, Calzolari M, Rugna G (2022) Wildlife Hosts of *Leishmania infantum* in a Re-Emerging Focus of Human Leishmaniasis, in Emilia-Romagna, Northeast Italy. *Pathogens.* ISSN 2076-0817. 11:11 1308. doi: 10.3390/pathogens11111308.
- 44- Pennisi M G (2015) Leishmaniasis of companion animals in Europe: An update. *Vet Parasitol.* ISSN 03044017. 208:1–2 35–47. doi: 10.1016/j.vetpar.2014.12.023.
- 45- Santarém N, Cardoso L, Cordeiro-da-Silva Anabela (2023) Advances in *Leishmania* Research: From Basic Parasite Biology to Disease Control. *Microorganisms.* ISSN 20762607. 11:3 696. doi: 10.3390/microorganisms11030696.
- 46- Campino, L., Maia, C. (2018). The Role of Reservoirs: Canine Leishmaniasis. In: Ponte-Sucre, A., Padrón-Nieves, M. (eds) *Drug Resistance in Leishmania Parasites*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-74186-4_3.
- 47- Almeida M, Maia C, Cristóvão M, Morgado C, Barbosa I, Ibars R, Campino L, Gonçalves L, Cortes S (2022) Seroprevalence and Risk Factors Associated with *Leishmania*

Infection in Dogs from Portugal. *Microorganisms*. ISSN 2076-2607. 10:11 doi: 10.3390/MICROORGANISMS10112262.

48- Quinnell R J, Courtenay O (2009) Transmission, reservoir hosts and control of zoonotic visceral leishmaniasis. *Parasitology*. ISSN 0031-1820. 136:14 1915–1934. doi: 10.1017/S0031182009991156.

49- Dantas-Torres, F (2009) Canine leishmaniasis in South America. *Parasit Vectors*; <https://doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S1>

50- Cortes S, Vaz Y, Neves R, Maia C, Cardoso L, Campino L (2012) Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Vet Parasitol*. ISSN 03044017. 189:2–4 189–196. doi: 10.1016/j.vetpar.2012.04.028.

51- Maia C, Conceição C, Pereira A, Rocha R, Ortuño M, Muñoz C, et al. (2023) The estimated distribution of autochthonous leishmaniasis by *Leishmania infantum* in Europe in 2005–2020. *PLoS Negl Trop Dis* 17(7): e0011497. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011497>

52- Serafim T D., Coutinho-Abreu I V., Dey R, Kissinger R, Valenzuela J G, Oliveira F, Kamhawi S (2021) Leishmaniasis: the act of transmission. *Trends Parasitol*. ISSN 14714922. 37:11 976–987. doi: 10.1016/j.pt.2021.07.003.

53- Toepp A J.; Petersen C A. (2020) The balancing act: Immunology of leishmaniasis. *Res. J. Vet. Sci*. ISSN 15322661. 130: 19–25. doi: 10.1016/j.rvsc.2020.02.004.

54- Barbieri C. L. (2006) Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunol*. ISSN 0141-9838. 28:7 329–337. doi: 10.1111/j.1365-3024.2006.00840.x.

55- Maia C, Campino L (2018) Biomarkers Associated with *Leishmania infantum* Exposure, Infection, and Disease in Dogs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. ISSN 22352988. 8: SEP doi: 10.3389/FCIMB.2018.00302/PDF.

56- Maia C, Campino L (2012) Cytokine and phenotypic cell profiles of leishmania infantum infection in the dog. *J.Trop Med*. ISSN 16879686. doi: 10.1155/2012/541571.

57- Solano-Gallego L, Montserrat-Sangrà S, Ordeix L, Martínez-Orellana P (2016) *Leishmania infantum*-specific production of IFN- γ and IL-10 in stimulated blood from dogs with clinical leishmaniasis. *Parasit Vectors*. ISSN 1756-3305. 9:1 317. doi: 10.1186/s13071-016-1598-y.

58- Koutinas A. F., Koutinas C. K. (2014) Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniasis due to *Leishmania infantum*/chagasi. *Vet Pathol*. ISSN 03009858. 51:2 527–538. doi: 10.1177/0300985814521248.

59- Cacheiro-Llaguno C, Parody N, Escutia M. R., Carnés J (2021) Role of circulating immune complexes in the pathogenesis of canine leishmaniasis: New players in vaccine development. *Microorganisms*. ISSN 20762607. 9:4 doi: 10.3390/microorganisms9040712.

- 60- Alvar J, Cañavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J (2004) Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*. ISSN 0065308X. 57: 1–88. doi: 10.1016/S0065-308X (04)57001-X.
- 61- Miranda S, Roura X, Picado A, Ferrer L, Ramis A (2008) Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. *Res. J. Vet. Sci.* ISSN 00345288. 85:1 35–38. doi: 10.1016/j.rvsc.2007.09.003.
- 62- Tamponi C, Scarpa F, Carta S, Knoll S, Sanna D, Gai C, Pipia A P, Dessì G, Casu M, Varcasia A, Scala A (2021) Seroprevalence and risk factors associated with *Leishmania infantum* in dogs in Sardinia (Italy), an endemic island for leishmaniasis. *Parasitol Res.* ISSN 14321955. 120:1 289–300. doi: 10.1007/s00436-020-06973-0.
- 63- Toepp A J. *et al.* (2019) Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. *Parasit Vectors.* ISSN 1756-3305. 12:1 54. doi: 10.1186/s13071-019-3312-3.
- 64- Baneth G, Koutinas A F., Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L (2008) Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* ISSN 14714922. 24:7 324–330. doi: 10.1016/j.pt.2008.04.001.
- 65- Monteiro M, Prata S, Cardoso L, Pereira da Fonseca I, Leal R O (2021) Diagnosis and clinical management of canine leishmaniosis by general veterinary practitioners: a questionnaire-based survey in Portugal. *Parasit Vectors.* ISSN 17563305. 14:1 doi: 10.1186/S13071-021-04799-Y.
- 66- Pantaleo V, Rius O J, Solano-Gallego L - Leishmaniosis Canina: Cuadro Clínico y Alteraciones de Laboratorio (2023). Em Solano Gallego L (Ed.) - *Vet Topics: La Leishmaniosis*. 1. ed. Zaragoza: Grupo Asis. p. 30–39.
- 67- Perego R, Proverbio D, Bagnagatti de Giorgi G, Spada E (2014) Prevalence of dermatological presentations of canine leishmaniasis in a nonendemic area: A retrospective study of 100 dogs. *Vet. Med. Int.* ISSN 20420048. 2014: doi: 10.1155/2014/374613.
- 68- Lombardo G, Pennisi MG, Lupo T, Chicharro C, Solano-Gallego L. Papular dermatitis due to *Leishmania infantum* infection in seventeen dogs: diagnostic features, extent of the infection and treatment outcome. *Parasit Vectors*; 7:120. doi: 10.1186/1756-3305-7-120.
- 69- Roura X, Cortadellas O, Day M. J, Benali S. L, Zatelli A, D’anna Nunzio, Fondati A, Gradoni L, Lubas G, Maroli M, Paltrinieri S, Zini E (2021) Canine leishmaniosis and kidney disease: Q&A for an overall management in clinical practice. *Journal of Small Animal Practice.* ISSN 0022-4510. 62:1 3–3. doi: 10.1111/jsap.13249.
- 70- Peris MP, Ortega-Hernández P, Morales M, Castillo J A, Moreno B (2022) Atypical Lesions in Canine Leishmaniosis: Description of New Cases. *Animals.* ISSN 20762615. 12:20 doi: 10.3390/ani12202784.

71- Paltrinieri S, Gradoni L, Roura X, Zatelli A, Zini E (2016) Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Vet Clin Pathol*. ISSN 02756382. 45:4 552–578. doi: 10.1111/vcp.12413.

72- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G (2009) Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*. ISSN 03044017. 165:1–2 1–18. doi: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022.

73- Maia C, Campino L (2008) Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Vet Parasitol*. ISSN 03044017. 158:4 274–287. doi: 10.1016/j.vetpar.2008.07.028.

74- Noli C, Saridomichelakis M N. (2014) An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). *Vet. J*. ISSN 15322971. 202:3 425–435. doi: 10.1016/j.tvjl.2014.09.002.

75- Solano-Gallego L, Cardoso L, Pennisi MG, Petersen C, Bourdeau P, Oliva G, Miró G; Ferrer L, Baneth G (2017) Diagnostic Challenges in the Era of Canine *Leishmania infantum* Vaccines. *Trends Parasitol*. ISSN 14714922. 33:9 706–717. doi: 10.1016/j.pt.2017.06.004.

76- Meléndez-Lazo A, Ordeix L, Planellas M, Pastor J, Solano-Gallego L. (2018) Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. *Res. J. Vet Sci*. ISSN 15322661. 117: 18–27. doi: 10.1016/j.rvsc.2017.10.011.

77- Cabré M, Planellas M, Ordeix L, Solano-Gallego L (2021) Is signalment associated with clinicopathological findings in dogs with leishmaniosis? *Veterinary Record*. ISSN 20427670. 189:10 no. doi: 10.1002/vetr.451.

78- Roura X, Cortadellas O, Day M. J, Benali S. L, D'anna N, Fondati A, Gradoni L, Lubas G, Maroli M, Paltrinieri S, Zini E, Zatelli A (2021) Canine leishmaniosis and kidney disease: Q&A for an overall management in clinical practice. *Journal of Small Animal Practice*. ISSN 17485827. 62:1 E1–E19. doi: 10.1111/jsap.13237.

79- IRIS (International Renal Interest Society) - Treatment Recommendations for CKD in Dogs, atual. 2023. <http://www.iris-kidney.com>

80- Ettinger Stephen J.; Feldman, Edward C.; Côté, Etienne - Differential Diagnosis for Clinicopathological Abnormalities Em *Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dog and the cat*. 8. ed. St Louis, Missouri: Elsevier, 2017. ISBN 9780323462143. p. 739–882.

81- Ceron J. J.; Pardo-Marin, L.; Caldin, M.; Furlanello, T.; Solano-Gallego, L.; Tecles, F.; Bernal, L.; Baneth, G.; Martinez-Subiela, S. (2018) Use of acute phase proteins for the clinical

assessment and management of canine leishmaniosis: general recommendations. *BMC Veterinary Research*. ISSN 1746-6148. 14:1 196. doi: 10.1186/s12917-018-1524-y.

82- Miró G; Cardoso L; Pennisi MG; Oliva G; Baneth G (2008) Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. *Trends Parasitol*. ISSN 14714922. 24:8 371–377. doi: 10.1016/j.pt.2008.05.003.

83- Baxarias Canals M; Solano Gallego L (2023) Leishmaniosis Canina: Diagnóstico. Em Solano Gallego L (Ed.) - *Vet Topics: La Leishmaniosis*. 1. ed. Zaragoza: Grupo ASIS, p. 40–51.

84- Paltrinieri S; Solano-Gallego L; Fondati A; Lubas G; Gradoni L; Castagnaro M; Crotti A; Maroli M; Oliva G; Roura X; Zatelli A; Zini E (2010) Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. ISSN 0003-1488. 236:11 1184–1191. doi: 10.2460/JAVMA.236.11.1184.

85- Travi B L.; Cordeiro-da-Silva A; Dantas-Torres F; Miró G (2018) Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl Trop Dis*. ISSN 1935-2735. 12:1. doi: 10.1371/JOURNAL.PNTD.0006082.

86- Francino O.; Altet L.; Sánchez-Robert E.; Rodriguez A.; Solano-Gallego L.; Alberola J.; Ferrer L.; Sánchez A.; Roura X. (2006) Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*. ISSN 03044017. 137:3–4 214–221. doi: 10.1016/j.vetpar.2006.01.011.

87- Solano-Gallego L, Villanueva-Saz S, Carbonell M, Trotta M, Furlanello T, Natale A. Serological diagnosis of canine leishmaniosis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan, ID Screen and Leishmania 96), a rapid test (Speed Leish K) and an in-house IFAT. *Parasit Vectors*. 2014 Mar 24; 7:111. doi: 10.1186/1756-3305-7-111.

88- Adel A; Berkvens D; Abatih E; Soukehal A; Bianchini J; Saegerman C (2016) Evaluation of immunofluorescence antibody test used for the diagnosis of canine leishmaniasis in the mediterranean basin: A systematic review and meta-Analysis. *PLoS ONE*. ISSN 19326203. 11:8 doi: 10.1371/journal.pone.0161051.

89- Velez R; Gállego M (2020) Commercially approved vaccines for canine leishmaniosis: a review of available data on their safety and efficacy. *Tropical Medicine and International Health*. ISSN 13653156. 25:5 540–557. doi: 10.1111/tmi.13382.

90- Roura X; Fondati A; Lubas G; Gradoni L; Maroli M; Oliva G; Paltrinieri S; Zatelli A; Zini E (2013) Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *The Veterinary Journal*. ISSN 10900233. 198:1 43–47. doi: 10.1016/j.tvjl.2013.04.001.

91- Esteva L.; Ferreira C. P.; Vargas C. (2023) Impact of Vaccination, Insecticide-Impregnated Collar, and Treatment on the Canine Leishmaniasis. *Trends in Computational and Applied Mathematics*. ISSN 2676-0029. 24:1 141–158. doi: 10.5540/tcam.2022.024.01.00141.

92- Oliva G, Roura X, Crotti A, Maroli M, Castagnaro M, Gradoni L, Lubas G, Paltrinieri S, Zatelli A, Zini E (2010) Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc.* Jun 1;236(11):1192-8. doi: 10.2460/javma.236.11.1192.

93- Pennisi MG, De Majo M, Masucci M, Britti D, Vitale F, Del Maso R. (2005) Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniosis with a combination of metronidazole and spiramycin. *Vet Rec.* 2005 Mar 12;156(11):346-9. doi: 10.1136/vr.156.11.346. Erratum in: *Vet Rec.* May 14;156(20):653.

94- Pineda C, Aguilera-Tejero E, Morales MC, Belinchon-Lorenzo S, Gomez-Nieto LC, Garcia P, Martinez-Moreno JM, Rodriguez-Ortiz ME, Lopez I. (2017) Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PLoS One.* Oct 5;12(10): e0185981. doi: 10.1371/journal.pone.0185981.

95- Segarra S. (2021) Nutritional Modulation of the Immune Response Mediated by Nucleotides in Canine Leishmaniosis. *Microorganisms.* Dec 16;9(12):2601. doi: 10.3390/microorganisms9122601.

96- De Sousa Gonçalves R, de Pinho FA, Dinis-Oliveira RJ, Mendes MO, de Andrade TS, da Silva Solcà M, Larangeira DF, Silvestre R, Barrouin-Melo SM. (2021) Nutritional adjuvants with antioxidant properties in the treatment of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* Oct; 298:109526. doi: 10.1016/j.vetpar.2021.109526.

97- Miró Guadalupe; López-Vélez Rogelio (2018) Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. *Vet Parasitol.* ISSN 0304-4017. 254: 151–159. doi: 10.1016/J.VETPAR.2018.03.002.

98- Flórez Icíar Martínez; Brugué Carles Blasi; Pantaleo Valeria; Solano-Gallego L - Leishmaniosis Canina: Tratamiento, Seguimiento y Pronóstico. Em Solano Gallego LAIA (Ed.) - *Vet Topics: La Leishmaniosis.* 1. ed. Zaragoza: Grupo ASIS, 2023. p. 52–61.

99- Sykes Jane E.; Papich Mark G. (2022) Antileishmanial Antiprotozoal Drugs. Em Sykes, J E.; Rankin S C.; Papich M G.; Weese J. S; Little E.; Greene C E. (Eds.) - *Greene's infectious diseases of the dog and cat.* 5th Edition ed.v. 1. p. 513–541.

100- Manna L, Vitale F, Reale S, Picillo E, Neglia G, Vescio F, Gravino AE. (2009) Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. *Vet J.* Dec;182(3):441-5. doi: 10.1016/j.tvjl.2008.08.009.

101- Miró G, Gálvez R, Fraile C, Descalzo MA, Molina R. (2011) Infectivity to *Phlebotomus perniciosus* of dogs naturally parasitized with *Leishmania infantum* after different treatments. *Parasit Vectors.* Apr 13; 4:52. doi: 10.1186/1756-3305-4-52.

102- Miró G, Petersen C, Cardoso L, Bourdeau P, Baneth G, Solano-Gallego L, Pennisi MG, Ferrer L, Oliva G. (2017) Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniosis. *Trends Parasitol.* Sep;33(9):718-730. doi: 10.1016/j.pt.2017.05.005.

103- Olías-Molero AI, Fontán-Matilla E, Cuquerella M, Alunda JM. (2021) Scientometric analysis of chemotherapy of canine leishmaniasis (2000-2020). *Parasit Vectors.* Jan 9;14(1):36. doi: 10.1186/s13071-020-04544-x.

104- Cavalera MA; Gernone F; Uva A; D'ippolito P; Roura, X; Paltrinieri S; Zatelli A (2021) Effect of domperidone (leisguard®) on antibody titers, inflammatory markers and creatinine in dogs with leishmaniosis and chronic kidney disease. *Parasit Vectors.* ISSN 1756-3305. 14:1 525. doi: 10.1186/s13071-021-05030-8.

105- Gonçalves AAM, Leite JC, Resende LA, Mariano RMDS, Silveira P, Melo-Júnior OAO, Ribeiro HS, de Oliveira DS, Soares DF, Santos TAP, Marques AF, Galdino AS, Martins-Filho OA, Dutra WO, da Silveira-Lemos D, Giunchetti RC. (2019) An Overview of Immunotherapeutic Approaches Against Canine Visceral Leishmaniasis: What Has Been Tested on Dogs and a New Perspective on Improving Treatment Efficacy. *Front Cell Infect Microbiol.* Dec 18; 9:427. doi: 10.3389/fcimb.2019.00427.

106- Miró G, Petersen C, Cardoso L, Bourdeau P, Baneth G, Solano-Gallego L, Pennisi MG, Ferrer L, Oliva G. (2017) Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniosis. *Trends Parasitol.* Sep;33(9):718-730. doi: 10.1016/j.pt.2017.05.005.

107- Travi BL, Miró G. Use of domperidone in canine visceral leishmaniasis: gaps in veterinary knowledge and epidemiological implications. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 2018 Oct 18;113(11): e180301. doi: 10.1590/0074-02760180301.

108- Sabaté D, Llinás J, Homedes J, Sust M, Ferrer L. (2014) A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Prev Vet Med.* Jul 1;115(1-2):56-63. doi: 10.1016/j.prevetmed.2014.03.010.

109- Baxarias M, Homedes J, Mateu C, Attipa C, Solano-Gallego L. (2022) Use of preventive measures and serological screening tools for *Leishmania infantum* infection in dogs from Europe. *Parasit Vectors.* May 10;15(1):134. doi: 10.1186/s13071-022-05251-5.

110- Baxarias M, Martínez-Orellana P, Baneth G, Solano-Gallego L. (2019) Immunotherapy in clinical canine leishmaniosis: a comparative update. *Res Vet Sci.* Aug; 125:218-226. doi: 10.1016/j.rvsc.2019.06.009.

111- Pereira MA, Santos R, Oliveira R, Costa L, Prata A, Gonçalves V, Roquette M, Vala H, Santos-Gomes G. (2020) Prognostic Factors and Life Expectancy in Canine Leishmaniosis. *Vet Sci.* Sep 4;7(3):128. doi: 10.3390/vetsci7030128.

112- Dantas-Torres F, Miró G, Baneth G, Bourdeau P, Breitschwerdt E, Capelli G, Cardoso L, Day MJ, Dobler G, Ferrer L, Irwin P, Jongejan F, Kempf VAJ, Kohn B, Lappin M, Little S, Madder M, Maggi R, Maia C, Marcondes M, Naucke T, Oliva G, Pennisi MG, Penzhorn BL, Peregrine A, Pfeffer M, Roura X, Sainz A, Shin S, Solano-Gallego L, Straubinger RK, Tasker S, Traub R, Wright I, Bowman DD, Gradoni L, Otranto D. (2019) Canine Leishmaniasis Control in the Context of One Health. *Emerg Infect Dis.* Dec;25(12):1-4. doi: 10.3201/eid2512.190164.

113- Otranto D, Dantas-Torres F. (2013) The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol.* Jul;29(7):339-45. doi: 10.1016/j.pt.2013.05.003.

114- Baxarias Canals, Marta; Solano-Gallego L (2023) Leishmaniosis Canina: Prevención. Em SOLANO GALLEGO, LAIA (Ed.) - *Vet Topics: La Leishmaniosis*. 1. ed. Zaragoza: Grupo ASIS. p. 62–65.

115- Papadopoulos E, Angelou A, Diakou A, Halos L, Beugnet F. (2017) Five-month serological monitoring to assess the effectiveness of permethrin/fipronil (Frontline Tri-Act®) spot-on in reducing the transmission of *Leishmania infantum* in dogs. *Vet Parasitol Reg Stud Reports.* Jan; 7:48-53. doi: 10.1016/j.vprsr.2016.12.005.

116- Reguera RM, Morán M, Pérez-Pertejo Y, García-Estrada C, Balaña-Fouce R. (2016) Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol.* Aug 30; 227:98-114. doi: 10.1016/j.vetpar.2016.07.011.

117- Evans A, Bongiorno G, Fourie JJ, Lekouch N, Bianchi R, Khoury C, Thomas E, Chiummo R, Gradoni L. (2022) Elevated and sustained anti-feeding effect of Scalibor® deltamethrin collar against the sand fly *Phlebotomus perniciosus* in dogs confirmed for 1 year following treatment. *Med Vet Entomol.* Mar;36(1):14-19. doi: 10.1111/mve.12545.

118- Brianti E, Gaglio G, Napoli E, Falsone L, Prudente C, Solari Basano F, Latrofa MS, Tarallo VD, Dantas-Torres F, Capelli G, Stanneck D, Giannetto S, Otranto D. (2014) Efficacy of a slow-release imidacloprid (10%) /flumethrin (4.5%) collar for the prevention of canine leishmaniasis. *Parasit Vectors.* Jul 14; 7:327. doi: 10.1186/1756-3305-7-327.

119- Molina R, Miró G, Gálvez R, Nieto J, Descalzo MA. (2006) Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet Rec.* Aug 12;159(7):206-9. doi: 10.1136/vr.159.7.206.

120- Bongiorno G, Bosco A, Bianchi R, Rinaldi L, Foglia Manzillo V, Gizzarelli M, Maurelli MP, Giaquinto D, El Houda Ben Fayala N, Varloud M, Crippa A, Oliva G, Gradoni L, Cringoli G. (2022) Laboratory evidence that dinotefuran, pyriproxyfen and permethrin combination abrogates *Leishmania infantum* transmissibility by sick dogs. *Med Vet Entomol.* Mar;36(1):81-87. doi: 10.1111/mve.12553.

121- Bouhsira E, Deuster K, Lienard E, Le Sueur C, Franc M. (2018) Evaluation of the anti-feeding and insecticidal effects of a topically administered combination of imidacloprid and

permethrin (Advantix®) against *Phlebotomus (Larrousius) perniciosus* (Newstead, 1911) in dogs following monthly administration. *Parasit Vectors*. Mar 2;11(1):120. doi: 10.1186/s13071-018-2690-2.

122- Frenais Régis; Flochlay-Sigognault Annie; Milon-Harnois Gaëlle (2014) Anti-feeding efficacy of Activyl® Tick Plus topical treatment of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Parasit Vectors*. ISSN 17563305. 7:1. doi: 10.1186/1756-3305-7-217.

123- Maroli M, Gradoni L, Oliva G, Castagnaro M, Crotti A, Lubas G, Paltrinieri S, Roura X, Zini E, Zatelli A. (2010) Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. *J Am Vet Med Assoc*. Jun 1;236(11):1200-6. doi: 10.2460/javma.236.11.1200.

124- Fernández Cotrina J, Iniesta V, Monroy I, Baz V, Hugnet C, Marañón F, Fabra M, Gómez-Nieto LC, Alonso C. (2018) A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine*. Apr 5;36(15):1972-1982. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.02.111.

125- Amengual M M A; Solano-Gallego L (2023) Leishmaniosis Humana y Animal: Una Sola Salud. Em SOLANO GALLEGO, LAIA (Ed.) - *Vet Topics: La Leishmaniosis*. 1. ed. Zaragoza: Grupo ASIS. p. 13–19.

126- Otranto D; Dantas-Torres F; Breitschwerdt E B. - Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. *Trends Parasitol*. ISSN 14714922. 25:4 (2009) 157–163. doi: 10.1016/j.pt.2009.01.003.

127- Fernández Cotrina J, Iniesta V, Monroy I, Baz V, Hugnet C, Marañón F, Fabra M, Gómez-Nieto LC, Alonso C. A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine*. 2018 Apr 5;36(15):1972-1982. doi: 10.1016/j.vaccine.2018.02.111.

128- Vaden Shelly L.; Knoll Joyce S.; Smith Francis W. K.; Tilley Larry P. (2009) *Blackwell's Five-Minute Veterinary Consult: Laboratory Tests and Diagnostic Procedures: Canine & Feline*. 1. ed. Iowa: Wiley-Blackwell, ISBN-13: 978-0-8138-1748-4/2009.

129- Harrus Shimon; Waner Trevor; Mylonakis Mathios E.; Sykes Jane E.; Qurollo Barbara (2023) Ehrlichiosis. *Greene's Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 5. ed. St Louis, Missouri: Elsevier. p. 1729–1795.

130- ECUPHAR – 2023. Site: <https://www.ecuphar.pt> (Acedido: em 27 julho de 2023).

131- Botelho-Nevers E, Socolovschi C, Raoult D, Parola P. (2012) Treatment of *Rickettsia* spp. infections: a review. *Expert Rev Anti Infect Ther*. Dec;10(12):1425-37. doi: 10.1586/eri.12.139.

132- Jackson Hillary J.; Marsella R (2012) BSAVA Manual of Canine and Feline Dermatology. 3. ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Association. ISBN- 978 1 905319 27 5. p. 38-42.