

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Bruna Sander Eckert

PORTO ALEGRE

2013/2

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE VETERINÁRIA

TRATAMENTO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA
REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Autor: Bruna Sander Eckert

Monografia apresentada à Faculdade de
Veterinária como requisito parcial para obtenção
da Graduação em Medicina Veterinária

Orientador: André Silva Carissimi

Coorientador: Mariana Caetano Teixeira

PORTO ALEGRE

2013/2

RESUMO

A leishmaniose é uma zoonose, de notificação obrigatória e é causada por diversas espécies do gênero *Leishmania*, sendo que a *Leishmania chagasi* é a espécie responsável pela doença nas Américas. A crescente urbanização da doença ocorrida nos últimos 20 anos coloca em pauta a discussão das estratégias de controle empregadas e as novas perspectivas. No Rio Grande do Sul, até 2008, não haviam sido relatados casos da doença, tanto em cães como em humanos. Porém, em 2009, foi relatado o primeiro caso do Estado em São Borja, e desde então a doença teve ocorrência em vários outros municípios, inclusive na cidade de Porto Alegre. A situação atual é oportuna, pois a discussão de novas estratégias, centrada em vacinas eficazes, tem trazido bons resultados. As drogas tradicionalmente empregadas (antimoniato de meglumina, anfotericina B, isotionato de pentamidina e alopurinol) não tem boa eficácia e, apesar de induzirem a remissão temporária dos sinais clínicos, estes fármacos não impedem que os cães tratados se tornem reservatórios da doença. Ainda que não exista tratamento curativo para a doença, muitas pesquisas estão sendo desenvolvidas e a alternativa de imunoprofilaxia dos cães é um método que tem trazido bons resultados, apesar de ainda serem necessárias muitas pesquisas nesta área para que sua eficácia seja comprovada. O objetivo deste trabalho é expor as atuais estratégias de tratamento para a Leishmaniose Visceral Canina.

Palavras-chave: Leishmaniose Visceral, cães, zoonose, tratamento, estratégias de controle

ABSTRACT

Leishmaniasis is a zoonosis, compulsory notification, caused by several species of the genus *Leishmania* and the *Leishmania chagasi* is responsible for disease in the Americas. The increasing urbanization of the disease occurred in the last 20 years brings into question the strategies employed and the new perspectives. In Rio Grande do Sul, until 2008, no cases of the disease had been reported in both dogs and humans. However, in 2009, it was reported the first case of the state in São Borja, and since then the disease had occurred in several other counties, including the city of Porto Alegre. The current situation is opportune, because the discussion of new strategies, centered on effective vaccines has brought good results. The drugs traditionally used (meglumine antimoniate, amphotericin B, pentamidine isethionate and allopurinol) does not have good efficacy and, although they induced a temporary remission of clinical signs, these drugs do not prevent dogs treated become reservoirs of disease. Although there is no curative treatment for the disease, many researches are being developed and the alternative of immunoprophylaxis of dogs is a method that has brought good results, although many studies are still needed in this area so that its effectiveness is proven. The aim of this paper is to expose the current treatment strategies for canine visceral leishmaniasis.

Palavras-chave: visceral leishmaniasis, dogs, zoonosis, treatment, control strategies

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Forma flagelada ou promastigota..... | 9 |
| Figura 2 | Forma aflagelada ou amastigota..... | 10 |
| Figura 3 | <i>Lutzomia longipalpis</i> (fêmea) | 11 |
| Figura 4 | Cão com caquexia e lesões causadas por Leishmaniose Visceral Canina..... | 18 |
| Figura 5 | Onicogribose em cão com LVC..... | 19 |

SUMÁRIO

| | | |
|------|--|----|
| 1 | INTRODUÇÃO | 7 |
| 2 | AGENTE ETIOLÓGICO | 9 |
| 2.1 | Posição Taxonômica | 10 |
| 3 | VETOR..... | 11 |
| 4 | EPIDEMIOLOGIA..... | 13 |
| 5 | A URBANIZAÇÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA..... | 14 |
| 6 | PATOGENIA..... | 15 |
| 6.1 | Resposta Imunitária na LVC | 16 |
| 7 | MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS | 18 |
| 8 | DIAGNÓSTICO | 22 |
| 9 | TRATAMENTO | 24 |
| 9.1 | No Cão..... | 25 |
| 10 | PREVENÇÃO E CONTROLE..... | 26 |
| 10.1 | Vacinação | 27 |
| 11 | EUTANÁSIA DE CÃES POSITIVOS PARA LVC..... | 28 |
| | REFERÊNCIAS..... | 29 |

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que as leishmanioses são um grupo de doenças endêmicas com altos índices de morbidade e mortalidade, prevalentes em Países tropicais e subtropicais em quatro continentes. Estas enfermidades são responsáveis por doze milhões de casos em todo o mundo, com aproximadamente dois milhões de casos novos anuais. Elas colocam em risco mais de 350 milhões de pessoas (adultos e crianças) em diferentes pontos do mundo e se estima que cerca de 60.000 mortes por ano sejam devido às leishmanioses (CAMARGO et al., 2007).

As leishmanioses constituem, atualmente, o segundo grupo mais comum de doenças infecciosas depois da malária e estão entre as mais importantes doenças infecciosas tropicais combatidas pela OMS. Os encargos que essas doenças trazem persistem devido à existência de grandes obstáculos técnicos, gerenciais, financeiros e políticos ao controle das mesmas, permitindo que as leishmanioses se mantenham como grave problema da saúde pública, sendo bastante onerosas para o desenvolvimento social e para a economia de vários países (WHO, 2007).

A ocorrência da doença em uma determinada área depende basicamente da presença do vetor e de um hospedeiro/reservatório susceptível. A possibilidade de que o homem, principalmente crianças desnutridas, venha, em alguns, casos a ser fonte de infecção pode conduzir a um aumento na complexidade da transmissão da Leishmaniose Visceral (LV) (GENARO et al., 2000).

As leishmanioses constituem um grupo de doenças causadas pela infecção pelos protozoários do gênero *Leishmania*, que ocasionam quadros clinicamente heterogêneos (CAMARGO et al., 2007). Aproximadamente 20 espécies deste parasito são patogênicas ao homem, sendo que sua transmissão ocorre através da picada de insetos hematófagos (DESJEUX, 2004).

A principal forma de transmissão do parasita para o ser humano e outros hospedeiros mamíferos (raposas, marsupiais e chacal) é através da picada de fêmeas de dípteros da família *Psychodidae*, subfamília *Phebotominae*, conhecidos popularmente por Flebotomíneos. A *Lutzomyia longipalpis* é a principal espécie transmissora da *Leishmania chagasi* no Brasil. (GENARO et al., 2000).

Dependendo da espécie acometida, estas patologias podem se apresentar sob três formas clínicas principais: mucocutânea, cutânea e visceral, que abrangem uma ampla variedade de sintomas e graus de severidade (GONZÁLES et al., 2009). Os principais reservatórios da doença em áreas urbanas são os cães (SILVA, 2007).

No Brasil, a importância da Leishmaniose Visceral, reside não somente na sua elevada incidência e ampla distribuição, mas também na possibilidade de assumir formas graves e letais quando associadas ao quadro de má nutrição e infecções concomitantes. A crescente urbanização da doença ocorrida nos últimos 20 anos, coloca em pauta a discussão das estratégias de controle empregadas (COSTA & VIEIRA, 2002).

2 AGENTE ETIOLÓGICO

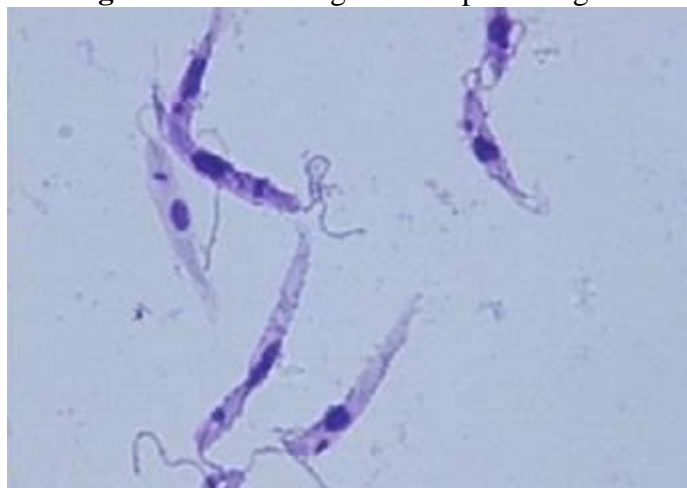
Os protozoários do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida, família *Trypanosomatidae*, e possuem ciclo biológico heteroxênico, necessitando assim de dois hospedeiros, um vertebrado, representado por canídeos silvestres e domésticos, além de roedores e humanos, e de um invertebrado, representado pelo inseto vetor (GONTIJO & MELO, 2004).

Leishmania donovani e *L. infantum* são exemplos de espécies causadoras da LV na África, Europa e Ásia e *L. chagasi* é o agente etiológico encontrado nas Américas. A *L. donovani* é responsável pela infecção em humanos, enquanto que a *L. infantum* e *L. chagasi* causam LV tanto em humanos quanto em cães (FEITOSA, 2006).

Leishmania infantum e *L. chagasi* são consideradas por muitos autores como espécies indistintas, baseado em análises bioquímicas e moleculares, mas ainda existem controvérsias quanto a origem de *L. chagasi* nas Américas e sua real classificação (FRASER, 2008).

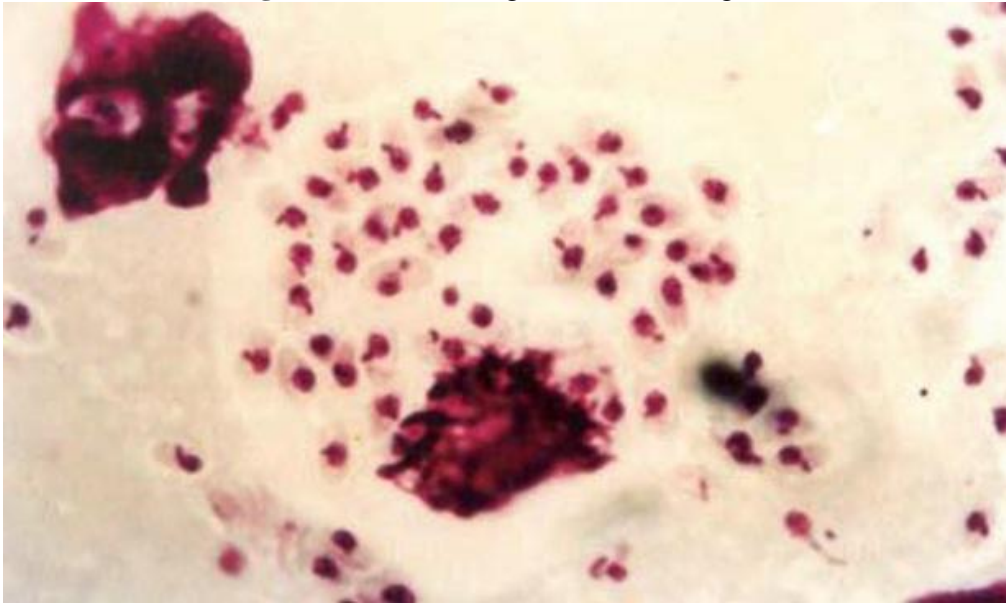
Estes protozoários são organismos pleomórficos, isto é, nos invertebrados encontram-se as formas promastigotas (flageladas) (Figura 1), e nos vertebrados a forma aflagelar, denominada amastigota (Figura 2) (FEITOSA, 2006). São parasitas intracelulares obrigatórios, multiplicando-se nos fagócitos mononucleares do sistema mononuclear fagocítico. As leishmanias quando são inoculadas na pele do hospedeiro pelos flebotomos, invadem os macrófagos e neles se multiplicam (SILVA, 2007).

Figura 1: Forma flagelada ou promastigota



Fonte: http://fcfrp.usp.br/dactb/Parasitologia/Arquivos/Genero_Leishmania.htm

Figura 2: Forma aflagelada ou amastigota



Fonte: BRASIL (2006)

2.1. Posição Taxonômica

Reino: Protista

Sub-reino: Protozoa

Filo: Sarcomastigophora

Sub-filo: Mastigophora

Classe: Zoomastigophorea

Ordem: Kinetoplastida

Sub-ordem: Trypanosomatina

Família: Trypanosomatidae

Gênero: *Leishmania*

Sub-gênero: *Leishmania*

Espécie: *chagasi*

3 VETOR

As leishmanias são transmitidas aos animais e ao homem pela picada de flebotomíneos pertencentes à ordem Diptera da Família *Psychodidae*, denominados flebotomos na linguagem vulgar. Estes insetos são conhecidos popularmente como mosquito palha, tatuquira, birigui, entre outros (GONTIJO & MELO, 2004). Assim, como existem diferentes espécies de *Leishmania* causadoras da Leishmaniose Visceral distribuídas no globo, as espécies de psicodídeos também segregam papéis distintos de transmissão da LV em diferentes regiões geográficas. No Velho Mundo, os transmissores da LV e Leishmaniose Visceral Canina (LVC) pertencem ao gênero *Phlebotomus* (*P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*) e nas Américas (Central e do Sul) a espécie *Lutzomyia longipalpis* (Figura 3) constitui o único vetor extremamente eficiente na transmissão da LV e da LVC (GONTIJO & MELO, 2004; REY, 2002).

Figura 3 *Lutzomyia longipalpis* (fêmea)



Fonte: <http://blogs.estadao.com.br/conversa-de-bicho>

No Brasil, especialmente, duas espécies estão relacionadas com a transmissão da doença: *Lutzomyia longiplapis* e *Lutzomyia cruzi* (BRASIL, 2006). A primeira espécie é considerada a principal espécie transmissora da *L. (L.) chagasi* no Brasil e, recentemente, *L. cruzi* foi incriminada como vetora no Estado de Mato Grosso do Sul. No Brasil, a distribuição geográfica de *L. longipalpis* é ampla e parece ainda estar em grande expansão (CAMARGO et al., 2007).

São pequenos insetos de 1 a 3 mm de comprimento, com hábito crepuscular e noturno, de coloração clara e facilmente reconhecidos pelo seu comportamento de voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas. Possuem adaptação a diversos ambientes, porém na fase larvária desenvolvem-se em ambientes terrestres úmidos e ricos em matéria orgânica e de baixa incidência de luminosidade. Ambos os sexos dos mosquitos necessitam de carboidratos como fonte energética. As fêmeas também se alimentam de sangue para o desenvolvimento dos ovos (SILVA, 2007).

O Ciclo do parasita pode ser descrito a partir da picada do inseto vetor infectado, que inocula a forma promastigota metacíclica no hospedeiro vertebrado. As formas promastigotas são fagocitadas na epiderme por células dendríticas e, no seu interior, evoluem para amastigotas. Essas formas apresentam multiplicação intensa intracelular quando conseguem vencer as resistências oferecidas pelo organismo. As células repletas rompem-se e liberam as formas amastigotas no meio tissular. Então, o novo flebótomo faz seu repasto sanguíneo e ingere células (macrófagos) parasitadas por amastigotas. Essas formas são liberadas no trato digestivo e tornam-se promastigotas, que se multiplicam intensamente, colonizam o esôfago e a faringe do flebótomo e, na porção anterior do sistema digestivo, tornam-se promastigotas metacíclicas, a forma infectante. Com um novo repasto sanguíneo, a inoculação do agente vai ocorrer. O ciclo completo no vetor ocorre em torno de vinte dias (RIBEIRO, 2007).

4 EPIDEMIOLOGIA

A transmissão das Leishmanias ocorre principalmente a partir da picada do inseto vetor contaminado, provocando infecções em seres humanos e animais principalmente nos países tropicais e subtropicais com climas quentes e úmidos. (GENARO et al., 2000).

Além do componente antroponótico, que versa apenas sobre as doenças no homem, a LV também têm um caráter zoonótico pelo fato de atingirem uma grande quantidade de mamíferos. São acometidos animais silvestres como a raposa e diversos roedores, além dos animais domésticos como o cão, os quais podem servir como reservatórios para manutenção do ciclo epidemiológico da doença (GONTIJO & MELO, 2004).

Devido a sua alta incidência, a expansão geográfica para áreas livres da doença, a urbanização e a alta letalidade em humanos, principalmente em indivíduos não tratados ou com tratamentos tardios, além de crianças desnutridas e indivíduos portadores da infecção pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV), fez com que se tornasse uma das principais doenças de importância em saúde pública da atualidade. O aparecimento de casos humanos normalmente é precedido por casos caninos e a infecção em cães tem sido mais prevalente do que no homem (SILVA, 2007).

Diversos trabalhos de pesquisadores vinculados a OMS reconhecem que as leishmanioses têm maior impacto em 88 países, dos quais 66 são do Velho Mundo e 22 do Novo Mundo. Nestes países as leishmanioses estão em intensa atividade dificultando a produtividade e o progresso socioeconômico. Muitos deles são países em desenvolvimento (países pobres), que de antemão sofrem com sérios problemas econômicos, sociais e de saúde pública. Nessas nações essas enfermidades vêm ganhando, anualmente, grandes proporções devido a fatores de risco tanto ambientais quanto a fatores culturais/comportamentais (GOMES, 2006) .

No Estado do Rio Grande do Sul, que era considerado área indene para Leishmaniose Visceral Canina até 2008, já foram notificados casos autóctones no município de São Borja. A partir de então, houve desencadeamento de investigação epidemiológica em outros municípios, registrando a presença de *L. longipalpis*, casos caninos com sorologia reagente e caracterização de *L. chagasi* em amostras biológicas caninas em alguns desses casos (TARTAROTTI et al., 2011).

5 A URBANIZAÇÃO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Os primeiros estudos sobre a epidemiologia das leishmanioses caracterizaram-nas como doenças exclusivamente rurais, compreendendo lesões que afetam a pele e os órgãos (ou vísceras). Estas doenças, que eram restritas a comunidades com baixo grau de instrução, com o passar do tempo, também se tornaram comuns em áreas suburbanas e urbanas (GAMA et al., 1998; GONTIJO & MELO, 2004). Essa nova distribuição aconteceu como resultado de problemas que envolvem aspectos ambientais, sociais e econômicos, possivelmente associados aos processos de fluxos populacionais em massa das áreas rurais para os centros urbanos, gerando um potente fator de risco para a disseminação da doença: a urbanização descontrolada.

Com a expansão da área de abrangência da doença e o aumento significativo no número de casos, a LV passou a ser considerada pela Organização Mundial de Saúde uma das prioridades dentre as doenças tropicais. A doença atinge principalmente as populações mais pobres. Embora existam métodos de diagnósticos e tratamentos específicos, grande parte da população não tem acesso a estes procedimentos, elevando os índices de mortalidade. Isso indica a necessidade de uma importante vigilância sanitária atuante e de medidas profiláticas adequadas para o controle dessa enfermidade (RIBEIRO, 2007).

6 PATOGENIA

A infecção em cães por espécies de *Leishmania* é clinicamente semelhante à infecção humana, embora no cão, além do acometimento das vísceras, são frequentemente encontradas lesões de pele nos animais infectados e sintomáticos (KRAUSPENHAR et al., 2007). O período de 2 a 12 meses é necessário para que um cão infectado desenvolva sinais clínicos e o período de incubação, observado em condições experimentais, pode alcançar 25 meses (OLIVEIRA et al., 1993). O quadro clínico é variável e depende da resposta imune do cão e da cepa do parasita inoculado pela picada do inseto vetor (FEITOSA, 2006).

A relação entre o protozoário e o cão é muito complexa, uma vez que depende de muitos fatores, tanto relacionados com o parasita como com o hospedeiro. Esta relação leva a que se registrem um conjunto de situações muito distintas, que vão desde a ausência da doença, ao aparecimento de processos muito graves, com quadros clínicos variados. Infecções naturais em cães podem permanecer assintomáticas por longos períodos de tempo, antes que os sinais clínicos apareçam e já foi demonstrado que cães soropositivos assintomáticos podem desenvolver autocura (GOMES, 2006).

A entrada das leishmanias nos macrófagos ocorre através de um processo de fagocitose regido pela interação da fração C3 do complemento, moléculas da superfície do parasita, tais como a maior glicoproteína de superfície (gp63) e o lipofosfoglicano (LPG) e diversos receptores de membrana do macrófago (SOARES, 2005).

Após a internalização, as formas promastigotas, vulneráveis à acidez e ação das enzimas líticas do vacúolo fagocítico, diferenciam-se em formas amastigotas. Estas se multiplicam por divisão binária até ao rompimento do macrófago infectado. Assim, ao libertarem-se as formas amastigotas, estas vão infectar outras células do sistema mononuclear fagocitário. A forma amastigota tem a capacidade, através de mecanismos intrínsecos, de resistir à ação das enzimas hidrolíticas lisossomais e aos radicais livres de oxigênio. A gp63 e a LPG degradam a maioria das enzimas hidrolíticas lisossomais e inibem a produção de radicais livres de oxigênio; além disso, a *Leishmania* possui certas enzimas (catalase e superóxido dismutase) que contrariam a ação dos radicais livres de oxigênio. As formas amastigotas evitam os mecanismos microbicidas, dependentes do oxigênio e os do óxido nítrico, que ocorrem com a ativação dos macrófagos. Certas citocinas, que induzem a ativação dos macrófagos, promovem o metabolismo oxidativo e a síntese de óxido nítrico (CORRÊA et al., 2006).

A pele é um órgão importante na determinação do progresso da infecção por *Leishmania* (FERRER et al., 1995).

6.1. Resposta Imunitária na LVC

A capacidade imunitária do hospedeiro é decisiva para que ocorra infecção, assim como o seu desenvolvimento e a natureza do processo patológico. Estudos realizados demonstram a influência da genética: o gene NRAMP1 (*Slc11a1*) ao ser mapeado e sequenciado, possibilitou comprovar que cães susceptíveis à LVC têm mutações neste gene, que controla o transporte de íons envolvido no controle da multiplicação dos parasitas dentro do fagossoma (SOARES, 2005).

Geralmente o cão infectado e susceptível apresenta ausência de linfoproliferação, enquanto que os resistentes apresentam hipersensibilidade tardia (SILVA, 2007). Em cães infectados com *L. infantum*, as células do sangue periférico não respondem especificamente aos antígenos de *Leishmania*, mas o fazem frente a outros estímulos (LIMA et al., 2003). A redução no número de células B CD21+ e de células T CD4+ em cães infectados pela *L. infantum* pode estar associada ao estabelecimento da doença canina, visto a ausência destas células nos cães saudáveis (RHALEMA, 1999). Geralmente um percentual de cães assintomáticos evolui para cura espontânea, apresentando, resposta imune celular positiva (FEITOSA, 2006).

Na LVC, os cães sintomáticos geralmente apresentam altos títulos de anticorpos antileishmania e os cães resistentes à infecção exibem baixos níveis ou ausência destes anticorpos (LIMA et al., 2003). Muitos aspectos da patogênese da LVC são atribuídos aos anticorpos produzidos, os quais formam imunocomplexos que se depositam em diversos tecidos, gerando lesões inflamatórias. Em cães assintomáticos a cura espontânea pode ser seguida de sorologia negativa (SOARES, 2005).

O valor prognóstico das subclasses de IgG antileishmania vem sendo estudado nos casos de LVC, podendo isto caracterizar o padrão da resposta imune nos cães infectados. Geralmente os anticorpos IgG2 estão associados a uma infecção assintomática e os anticorpos IgG1 à doença (LIMA et al., 2003). A caracterização da resposta imune deve ser feita levando-se em consideração a razão IgG1:IgG2 e a natureza do antígeno utilizado para determinar os títulos destes anticorpos (FERRER et al., 1995).

O padrão de resposta Th na Leishmaniose Visceral Canina não está muito bem estabelecido. Na LVC, a produção de IL-10 e TGF- β está presente tanto nos animais assintomáticos como nos sintomáticos (Correa, et al., 2006). Segundo Lima et al. (2003), a citocina IL-6, um dos mais importantes mediadores da resposta aguda, é produzida em níveis mais expressivos em animais com LVC em comparação a animais não infectados.

Estes resultados indicam uma tendência à resposta do tipo Th2. Na LVC as culturas de células mononucleares de sangue periférico de cães assintomáticos foram encontrados altos níveis de TNF, IL-2 e INF, em comparação com cães sintomáticos (LIMA et al., 2003).

Os INF tem como principal papel a eliminação de agentes intracelulares. A produção de INF- γ é detectada nos animais infectados, sendo mais expressiva em cães assintomáticos (GOMES, 2006).

A IL-4 induz a proliferação de linfócitos B, desenvolvendo a ativação da resposta tipo Th2 e estimulando a produção das imunoglobulinas IgE e IgG1 (VARELLA & FORTE, 2001).

Os parâmetros imunológicos mostram que em cães a resistência à infecção está associada a baixos níveis de anticorpos específicos e desenvolvimento de imunidade celular, com a produção de IL-2, TNF α , e IFN- γ (FERRER et al., 1995). A susceptibilidade está correlacionada com altos níveis de anticorpos e ausência de resposta mediada por células sem resposta de Th2.

A imunossupressão é uma consequência em parte da diminuição de células T CD4+. O grande número de parasitos observados nos órgãos linfáticos pode ser uma consequência das alterações imunológicas, permitindo a multiplicação e dispersão do parasito para outros sítios, incluindo estômago, intestino e pulmão (SILVA, 2007).

7 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

As manifestações clínicas da Leishmaniose Visceral no cão e no homem são similares, e apresentam sinais inespecíficos, como febre regular por longos períodos, anemia que ocorre devido a perda de sangue da lise de hemácias, ou, mais freqüentemente, da diminuição da eritropoiese em decorrência de uma hipoplasia ou aplasia medular. A emaciação é geralmente um sinal de envolvimento visceral. Alguns cães perdem peso, apesar de apresentarem normorexia, e pacientes severamente afetados apresentam caquexia (Figura 4) (FRASER, 2008).

Figura 4 Cão com caquexia e lesões causadas por Leishmaniose Visceral Canina



Fonte: <http://www.wspabrazil.org>

Nos órgãos linfoides, a proliferação de linfócitos B, plasmócitos, histiócitos e macrófagos pode resultar em linfadenomegalia generalizada e hepatoesplenomegalia. As alterações dermatológicas são bastante frequentes em animais com Leishmaniose Visceral e podem ocorrer na ausência de outros sintomas (NEVES, 2000).

No entanto, animais com alterações dermatológicas, provavelmente, também possuem envolvimento sistêmico, porque os parasitos estão geralmente disseminados por todo o corpo antes do aparecimento das lesões de pele. As alterações cutâneas incluem uma excessiva descamação da epiderme que pode ser localizada nas regiões periocular e na borda dos pavilhões auriculares ou difusa por todo o corpo. Os animais podem apresentar pelame seco, queda de pelos e áreas de alopecia. Alguns cães apresentam despigmentação cutânea e áreas de hiperqueratose e lignificação, principalmente em locais correspondentes a saliências ósseas. Podem existir úlceras e nódulos intradérmicos, provavelmente decorrentes da

multiplicação das formas amastigotas na epiderme, produzindo um processo inflamatório local, ou de uma vasculite necrotizante causada pela deposição de imunocomplexos. As úlceras cutâneas podem aparecer em qualquer sítio, mas sua ocorrência é mais nas zonas ósseas salientes, na face, no plano nasal, nos pavilhões auriculares e na região interdigital. Observa-se também crescimento exagerado das unhas (onicogrifose) (Figura 5), associado à presença do parasito estimulando a matriz ungueal (TILLEY et al., 2003).

Figura 5 Onicogrifose em cão com LVC



Fonte: <http://www.wspabrazil.org>

Em muitos animais com leishmaniose, observa-se uma miotrofia, inicialmente nos músculos das fossas temporais, seguidas, sucessivamente, pelo resto da musculatura do corpo (FEITOSA, 2006).

A deposição de imunocomplexos nos rins (ao longo da membrana basal glomerular e tubular), eventualmente, resulta em glomerulonefrite proliferativa e em nefrite intersticial, podendo levar a uma insuficiência renal que é muitas vezes a principal causa de morte em cães com LVC (FRASER, 2008).

As leishmanias também se multiplicam em macrófagos do fígado, produzindo uma hepatite ativa crônica e, ocasionalmente, hepatomegalia, vômitos, poliúria, polidipsia, anorexia e perda de peso. Alguns animais apresentam diarreia crônica e melena devido à presença de ulcerações de mucosa gástrica e intestinal. A enterite pode ser resultado de um dano parasitário direto ou consequência de uma insuficiência renal (TILLEY et al., 2003).

É possível observar animais com um quadro de pneumonia intersticial, miocardite aguda não supurativa e pericardite. Cães com LVC podem apresentar diáteses hemorrágicas, como hematúria, petéquias e sufusões e, principalmente, epistaxe, além da ocorrência de

ulcerações na cavidade nasal (provavelmente a principal causa da epistaxe). Outras causas para a ocorrência de hemorragias incluem vasculite, hiperglobulinemia, que pode interferir com a polimerização da fibrina, uremia, que interfere com a função plaquetária, sequestro esplênico de plaquetas e, eventualmente, trombocitopenia por aplasia ou hipoplasia medular (GONÇALVES et al., 2003).

Quadros de LVC podem vir acompanhados de lesões oculares, principalmente blefarite associada à dermatite facial, embora não seja raro encontrar uma ceratoconjuntivite bilateral. Em alguns cães, pode-se observar também uma uveíte bilateral com intensa leucocitose marginal, associada a um edema de córnea ou à formação de sinéquia, devido à presença de *Leishmania* ou como consequência de uma deposição de imunocomplexos na íris e no corpo ciliar (FEITOSA, 2006).

No sistema nervoso, observam-se depósitos de antígenos e de imunoglobulinas no plexo coroide, levando a uma coroidite, além de alterações histológicas no encéfalo e no cerebelo, tais como deposição de substância amilóides e degeneração neural. Dentre as alterações neurológicas observadas em cães com leishmaniose visceral, destacam-se tetraparesia, convulsões, mioclonias, andar em círculos, nistagmo, tremor de intenção, alterações em nervos cranianos, tais como estrabismo, paralisia de mandíbula e ptose labial. Tais alterações são decorrentes da deposição de imunocomplexos ou de infecções oportunistas no sistema nervoso central (LIMA et al., 2003).

A incidência de problemas locomotores, em casos de LVC, pode ser decorrente de neuralgia, poliartrite, sinovite, polimiosite, osteomielite, fissuras nos coxins ou úlceras interdigitais. Em alguns casos, é possível a identificação da *Leishmania* no líquido sinovial, mesmo sem a presença de alterações radiográficas. A poliartrite pode ser causada por depósito de imunocomplexos circulantes no líquido sinovial. Na avaliação citológica do líquido sinovial pode-se observar inflamação, mas não necessariamente parasitos. A imunossupressão causada pela leishmaniose pode promover a ocorrência de infecções oportunistas concomitantes, tais como cistites, pneumonias bacterianas, piodermites, malassezioses, dermatofitoses e demodicose. Consequentemente, o quadro clínico pode ser complicado. Infecções combinadas com *Ehrlichia*, *Babesia* e *Dirofilaria* são muito comuns se a infecção por *Leishmania* ocorrer em regiões onde esses organismos também são endêmicos (FEITOSA, 2006).

Em muitos pacientes, particularmente nos de meia idade a idosos, a doença está associada a uma causa que deprimiu o sistema imune, tal como parasitismo, infecções, doenças crônicas e alguns tipos de medicamentos. A literatura científica relata vários casos de

LVC associados a diferentes doenças, tais como hemangiosarcoma, leucemia linfóide, mieloma, linfoma e pênfigo foliáceo (GONÇALVES et al., 2003).

8 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da LV (tanto a humana quanto a canina) muitas vezes é um problema por ser uma enfermidade que tem sintomas comuns com outras doenças, tais como doença de chagas, malária, esquistossomose, febre tifoide e tuberculose. Não existe um teste diagnóstico totalmente preciso e específico. Sabe-se, entretanto, que dependendo do estado clínico do animal existe maior possibilidade de se encontrar o parasita, enquanto que em animais infectados, porém assintomáticos, o achado do parasita é pouco frequente. (GONTIJO & MELO, 2004).

Até o momento, não há um método diagnóstico com 100% de sensibilidade e especificidade (FERRER et al., 1995). Recomenda-se a associação de vários métodos (clínico, parasitológico, sorológico, molecular e imunológico), sendo pelo menos um método parasitológico. Assim, é possível evitar falsos positivos e ao mesmo tempo garantir a identificação dos animais infectados (MOURA et al., 1999).

Em zonas endêmicas, um só sintoma compatível é suficiente para a suspeita de leishmaniose e realização de provas diagnósticas específicas. Há que se considerar suspeito todo animal que proceda de uma zona endêmica ou que tenha permanecido na mesma durante o período de atividade do vetor (FEITOSA, 2006).

A demonstração do parasito pode ser feita em material de biópsia ou punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea ou linfonodos. O material obtido é utilizado para a confecção de esfregaço ou impressão em lâminas, histologia, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório. A especificidade destes métodos é de 100%, mas a sensibilidade é muito variável, pois a distribuição dos parasitas não é homogênea no mesmo tecido (MOURA et al., 1999)

Os achados histopatológicos são, por vezes, inespecíficos e caracterizam-se por uma reação inflamatória granulomatosa com presença de células mononucleares, reações estas comuns a várias outras dermatoses. Quando há poucas formas amastigotas de *Leishmania* nos tecidos, pode ser difícil estabelecer-se o diagnóstico somente pela histopatologia (LIMA et al., 2003).

O teste diagnóstico mais confiável é a observação direta do parasita em esfregaço de medula óssea ou linfonodos, porém às vezes é impossível de detectar o parasita. No Brasil, os testes mais utilizados e recomendados pelo Ministério da Saúde no diagnóstico de LV humana e canina são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA) sendo considerados testes de escolha para inquéritos populacionais (FRASER, 2008).

A RIFI apresenta alta especificidade, exige na sua execução pessoal treinado, é uma reação dispendiosa e não está adaptada para estudos epidemiológicos em larga escala. Uma das principais limitações da técnica é a ocorrência de reações cruzadas com Leishmaniose Tegumentar (LT), doença de chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar. Isto dificulta a interpretação dos dados epidemiológicos, pois no Brasil ocorre superposição da LV, sobretudo com LT e doença de chagas (MOURA et al., 1999).

A sensibilidade e especificidade do teste de ELISA dependem do tipo sanguíneo empregado (espécie ou forma evolutiva do parasito) e de mudanças no protocolo experimental padrão (tempo de incubação ou tipo de microplacas utilizadas). As técnicas que utilizam antígenos totais são limitadas em termos de especificidade, apresentando reações cruzadas não somente com outras espécies da família Trypanosomatidae, mas também com outros organismos filogeneticamente distantes. A utilização de antígenos recombinantes ou purificados, como as glicoproteínas da membrana gp63, gp72 e gp70 específicas do gênero *Leishmania*, melhoram a sensibilidade e especificidade da técnica de ELISA. Entretanto, ainda podem ocorrer reações cruzadas com outros tripanossomatídeos, Alguns antígenos recombinantes, como rK39, Rk9 e rK26, parecem conferir grande sensibilidade quando da realização do teste sorológico. Atualmente, para inquéritos em saúde pública os exames disponíveis para diagnóstico sorológico são a RIFI e o ELISA, que expressam os níveis de anticorpos circulantes. O material recomendado é o soro sanguíneo (LIMA et al., 2003).

Os achados laboratoriais caracterizam-se principalmente por alterações hematológicas como a anemia, geralmente normocítica normocrômica, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, hiperproteinemia, trombocitopenia, leucopenia associada à linfopenia ou leucocitose (MOURA et al., 1999).

Nos estudos com LV, a PCR (Reação em Cadeia da Polimerase) tem sido utilizada com várias finalidades além do diagnóstico, tais como o monitoramento do tratamento e estudos epidemiológicos. Esta técnica tem sido descrita como um método sensível para a detecção do parasita, independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente. Muitos centros de pesquisa têm avaliado o uso da PCR para diagnóstico de LV utilizando o sangue periférico. A PCR é mais usada em estudos epidemiológicos do que no diagnóstico de rotina. (LACHAUD et al, 2002).

9 TRATAMENTO

De acordo com a portaria interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008, ficou proibido o tratamento de cães com LVC, por não existir até o momento uma garantia de que os fármacos existente seja eficazes ou que haja redução na transmissão da doença, ou ainda que o animal não se mantenha como reservatório, ficando assim proibido em todo território nacional o tratamento da LVC em cães infectados ou doentes com produtos de uso humano ou produtos não registrado no MAPA (Ministério da Agricultura Pecuário e Abastecimento).

O primeiro relato de sucesso no tratamento da LVC no Brasil foi através da utilização do antimoniato de n-metilglucmina (RIBEIRO, 2007). Os fármacos utilizados no tratamento da LVC incluem medicamentos que atuam contra as leishmanias, imunomoduladores e imunoterapias, além de medicações de suporte (SILVA, 2007).

O tratamento da leishmaniose que vem sendo realizado ao longo dos últimos é o que utiliza antimoniais pentavalentes: antimoniato de N-metil glucamina (Glucantime) e estibogluconato de sódio (Pentostam), que são os medicamentos de primeira escolha para o tratamento. Estes fármacos são tóxicos, nem sempre efetivos, e na LV são usados em esquemas prolongados. O principal efeito colateral do Glucantime é a nefrotoxicidade (RIBEIRO, 2007).

Como tratamento alternativo no Brasil, são utilizados a anfotericina B e suas formulações lipossomais (anfotericina B – lipossomal e anfotericina B – dispersão coloidal), as pentamidinas (sulafto e mesilato) e os imunomoduladores (interferon gama e GM-CSF). Com exceção dos dois primeiros fármacos, as demais se encontram ainda em fase de investigação. Dados recentes indicam que a resistência aos antimoniais tem se tornado um problema na Índia e no Sudão. No entanto, a quimioterapia da leishmaniose está mais promissora atualmente do que há alguns anos, com novos fármacos e novas formulações para os fármacos que já vinham sendo utilizados. O desenvolvimento de anfotericina B encapsulada em lipossoma tem mostrado bons resultados. Os novos fármacos têm mudado o perfil do tratamento da LV humana, mas o custo das novas terapias leva a diferentes práticas de tratamento, de acordo com a condição socioeconômica e cultural de cada região (GONTIJO & MELO, 2004).

A inexistência de tratamento efetivo para a cura total da doença canina, e a polêmica sobre a eliminação indiscriminada de cães infectados, torna urgente à adoção de novas estratégias, centrada em vacinas eficazes (FEITOSA, 2006). Há alguns anos a vacina contra a LVC vem sendo utilizada no Brasil (COSTA & VIEIRA, 2002). Os ministérios da Saúde e da Agricultura preconizam que essas devem ser capazes de reduzir os sintomas, o parasitismo

tecidual e, conseqüentemente, a transmissão ao inseto vetor. Além disso, após a imunização deve ser possível distinguir sorologicamente cães imunizados daqueles infectados. Segundo Gomes (2006), essa vacina induz bom efeito protetor contra a doença, com eficácia vacinal de 80%. Além disso, ela bloqueia a transmissão, protegendo os cães do contágio e da condição de reservatórios, bloqueando a transmissão para os flebotomíneos. Mesmo com estes resultados, novas pesquisas devem ser desenvolvidas para confirmar a curácea da doença.

9.1. No Cão

Até hoje, não foi encontrado um princípio ativo, que é 100% eficaz, uma vez que, de um modo geral, a maioria dos cães melhora de um ponto de vista clínico ou patológico, mas uma cura parasitológica não é alcançada (GONTIJO & MELO, 2004) . Em muitos casos, ocorrem recaídas após um período de tempo que depende dos medicamentos utilizados e da resposta imunitária de cada paciente (MIRÓ, 2013).

Antes de decidir qual o tratamento a ser usado em um cão com LVC, é necessário avaliar os sinais clínicos, os parâmetros clínico-patológicos e os resultados de um teste sorológico quantitativo. Dependendo do estado clínico , diferentes regimes de tratamento são recomendados e o prognóstico pode ser estimado. O tratamento desta doença parasitária imunomediada inclui a aplicação de medicamentos com atividade leishmanicida ou leishmaniosstática, bem como aqueles cujo princípio ativo tem efeitos imunomoduladores (FRASER, 2008).

Antimoniais pentavalentes e miltefosina ainda são as drogas de escolha para o tratamento da LVC, pois normalmente induzem à remissão dos sinais clínicos e à redução parcial da carga parasitária. Porém, estes fármacos não previnem recaídas e por isso geralmente são combinados com um inibidor da biossíntese do ácido úrico (Alopurinol) (MIRÓ, 2013).

10 PREVENÇÃO E CONTROLE

O entendimento das interações entre mudanças do meio ambiente urbano e os flebotomíneos vetores constituem um pré-requisito para o desenvolvimento de ações apropriadas de prevenção e estratégias de controle. Um dos fatores de risco mais importantes na aquisição da LV é a exposição ao inseto vetor e o controle do mesmo tem sido baseado no uso de inseticida direcionado para as formas adultas, uma vez que os criadouros da espécie são pouco conhecidos. O inseticida de ação residual é aplicado no interior das casas e abrigos de animais, sendo esta medida considerada eficaz para reduzir a população de flebotomíneos e, conseqüentemente, os níveis de transmissão (GONTIJO & MELO, 2004).

Outras medidas mais permanentes são indicadas, visto que os resultados de uma única aplicação residual de inseticida nem sempre são satisfatórios. Tais medidas tem como princípio o manejo ambiental, através da limpeza de quintais, terrenos e praças públicas, a fim de alterar as condições do meio, que propiciem o estabelecimento de criadouros de formas imaturas do vetor. Medidas simples como limpeza urbana, eliminação dos resíduos sólidos orgânicos e destino adequado dos mesmos, eliminação de fonte de umidade, não permanência de animais domésticos dentro de casa, entre outras, certamente contribuirão para evitar ou reduzir a proliferação do vetor (COSTA & VIEIRA, 2002).

O impacto do controle canino através da remoção e sacrifício dos cães soropositivos tem sido discutido por se mostrar trabalhoso e de eficácia duvidosa. Em condições experimentais, diversos trabalhos demonstraram a eficácia na utilização de coleiras impregnadas com deltametrina 4% como medida de proteção individual para os cães contra picadas de flebotomíneos. Além disso, a captura de cães errantes é essencial, especialmente em áreas urbanas, pois eles podem disseminar várias doenças de importância médico-sanitária, entre elas a LV. Esta deverá ser realizada pelo município rotineiramente de acordo com as normas estabelecidas no código sanitário. (GONTIJO & MELO, 2004).

As medidas preventivas dirigidas à população humana se baseiam na proteção individual, tais como: uso de mosquiteiro com malha fina, telagem de portas e janelas, uso de repelentes, não se expor nos horários de atividade do vetor (crepúsculo e noite) em ambientes onde este habitualmente pode ser encontrado (SILVA, 2007).

Segundo Gontijo (2004), as estratégias de controle da LV ainda são pouco efetivas e estão centradas no diagnóstico e tratamento precoce dos casos, redução da população de flebotomíneos, eliminação dos reservatórios e atividades de educação em saúde.

10.1. Vacinação

A primeira vacina produzida no mundo contra a Leishmaniose recebeu autorização do Ministério da Agricultura para ser comercializada no país. A vacina foi desenvolvida por pesquisadores brasileiros da Universidade Federal do Rio de Janeiro. O produto de uso veterinário é utilizado nos cães, principais hospedeiros do protozoário que transmite a doença. A vacina está sendo comercializada, de maneira controlada, a médicos veterinários de áreas endêmicas do país (COSTA & VIEIRA, 2002).

Desenvolvida no Brasil pela Universidade Federal do Rio de Janeiro em parceria com outro laboratório, a Leishmune® oferece entre 92% e 95% de proteção aos cães vacinados, segundo os estudos a campo realizados. Desde junho de 2003 a empresa Fort Dodge detém autorização do Ministério da Agricultura para produzir e comercializar a vacina (MENZ, 2006).

Trata-se de uma vacina de subunidade, ou seja, é obtida de uma glicoproteína existente na membrana do protozoário (leishmânia) capaz de estimular a produção de anticorpos. Por isso, a Leishmune é uma vacina altamente purificada, que exige meios de cultura específicos e cuja produção é bastante complexa (RIBEIRO, 2007).

A vacina deve ser aplicada em cães soronegativos (testes sorológicos negativos para a doença) e assintomáticos a partir dos quatro meses de idade. Devem ser administradas três doses com intervalos de 21 dias entre elas. É recomendada a vacinação anual dos animais. (PALANTIK, 2013).

11 EUTANÁSIA DE CÃES POSITIVOS PARA LVC

Na legislação brasileira, a leishmaniose é uma doença de notificação obrigatória e é regida pelo Decreto do Senado Federal número 51.838 de 14 de março de 1963. Segundo o Ministério da Saúde, a prática de eutanásia canina é recomendada a todos os animais com sorologia e/ou parasitológico positivo.

A eutanásia de cães soropositivos deveria ser, em escala de importância, a terceira medida adotada. A retirada de cães soropositivos tem surtido efeito temporário na diminuição da força de transmissão entre os animais; e, de acordo com estudos controlados, a propagação da Leishmaniose Visceral humana não foi significativamente afetada pela exclusiva eliminação de cães soropositivos. (RIBEIRO, 2007).

O programa de eliminação de cães domésticos apresenta o menor suporte técnico científico entre as estratégias do programa de controle. Os argumentos contra a eutanásia de cães positivos para a LVC são: a falta de correlação espacial entre a incidência cumulativa de LV humana com a soroprevalência canina; a demonstração teórica de que é um método pouco eficiente em comparação com as estratégias de controle vetorial e de suplementação alimentar; a demonstração de que outros reservatórios podem ser fontes de infecção de *L. chagasi*, tais como pessoas (particularmente crianças desnutridas que podem transmitir para outras crianças), canídeos silvestres e Marsupiais; a grande velocidade com que a população canina é reposta, exigindo proporção e frequência de retiradas de cães soropositivos impraticáveis; a baixa eficiência dos testes sorológicos em detectar infecção canina; a utilização de um único método para efetuar as duas funções de teste de triagem e de teste confirmatório para infecção por *L. chagasi*, o que conduz a elevado custo por benefício devido à alta proporção de resultados falso-positivos, particularmente quando a prevalência real é baixa; a falta de indicadores clínicos ou laboratoriais de infectividade de cães para o vetor; a ausência de experiências anteriores que tenham demonstrado vantagens exclusivas da eliminação de cães, pois todos os relatos de sucesso de programas de controle de LV onde foram eliminados cães descrevem também o controle de vetores com inseticida; a publicação de observações e ensaios em que se verificou que quando esta medida foi aplicada sozinha, não houve demonstração inequívoca da vantagem de seu uso em reduzir a incidência de LV em seres humanos (COSTA & VIEIRA, 2001).

Os resultados inconsistentes obtidos no controle da LV, associados ao caráter descontínuo das políticas de saúde, tem suscitado debates nos órgãos responsáveis pelo controle da doença (GONTIJO & MELO, 2004).

A decisão pelo tratamento da LVC se deve ao conhecimento de que a doença não é uniformemente fatal e de que alguns cães podem apresentar cura espontânea. Os experimentos de tratamentos variados levaram à elaboração de protocolos que oferecem boas possibilidades de cura clínica, baixo índice de recidivas e diminuição ou supressão da capacidade infectante da pele. Entretanto, o tratamento é também complexo, prolongado e, em alguns casos, ineficiente (RIBEIRO, 2007).

REFERÊNCIAS

- BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. Brasília: Ed. do Ministério da Saúde, 2006.
- CAMARGO, J. B. et al. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle, Brasil. Clínica Veterinária, Ano XII, n. 71, p. 86-92, nov/dez, 2007.
- CORRÊA, A.P.F.L.; DOSSI, A.C.S.; VASCONCELOS, R.O.; LIMA, V.M.F. Avaliação de citocinas imunoregulatórias em cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral. In: 10 FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina, p.64, 2006.
- COSTA, C.H.N; VIEIRA, J.B..F. Mudanças no Controle da Leishmaniose Visceral no Brasil. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Pernambuco, v.33, p 223-228, abr. 2002.
- DESJEUX,P. Leishmaniasis: currente situation and new perspectives. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases, Oxford, v.27, n.5, p. 305-318, Sept. 2004.
- FEITOSA, M.M. Avaliação Clínica de Animais Naturalmente infectados. Anais do 1º fórum sobre Leishmaniose Visceral Canina. Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal(SP), 2006.
- FERRER, L. AISA, M. J. ; ROURA, X. ; PORTÚS, M. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. Veterinary Record, v. 136, n. 20, p. 514-516, 1995.
- FRASER, C. M. Manual Merck de Veterinária: um manual de diagnóstico, tratamento, prevenção e controle de doenças para veterinária. 9 ed. São Paulo: Roca, 2008, p. 543-544.
- GAMA, M. E. A. et al. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. Cadernos de saúde pública, Rio de Janeiro, v. 14, n. 2, p. 381-390, 1998.
- GENARO, O. et al. Leishmaniose visceral americana. In: NEVES, D.P. Parasitologia Humana. 10ed São Paulo: Atheneu, p.56-72, 2000.
- GOMES, Y. M; CAVALCANTI, M.P.; LIRA, R. A.; ABATH, F. G. C.; ALVES, L. C. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. The Veterinary Journal, v. 31, p.26-36, 2006.
- GONÇALVES, R., et al. Chronic interstitial pneumonitis in dog naturally infected with Leishmania (Leishmania) chagasi: a histopathological and morphometric study. Revista do Instituto de Medicina Tropical de Sao Paulo: v.45, n.3, 2003. ISSN 0036-4665.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Revista Brasileira de Epidemiologia, São Paulo, v.7, n.3, p.338-349, 2004.

GONZÁLEZ, U.A. et al. Interventions for american cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. Cochrane database of systematic reviews, Oxford, v.15, n. 2, Apr. 2009.

KRAUSPENHAR, C.; BECK, C.; SPEROTTO, V.; SILVA, A.A.; BASTOS, R.; RODRIGUES, L. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*, 37, 2007.

LACHAUD, L.; et al. Comparason of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. *J. Clin. Microbiol.* V.40, n.1, p.210-215, 2002.

LIMA, V.M.F. et al. Anti-leishmania antibodies in cerebrospinal fluid from dogs with visceral leishmaniasis. *Brazilian Journal of Medicine and Biological Research*, 36: 485-489, 2003.

MENZ, I. Leishmune – Desenvolvimento e Resultados Atuais (dez 2005). Anais do 1 Fórum sobre Leishmaniose Visceral Canina. Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal(SP), 2006.

MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. (Ed) *Parasitologia humana*. 11o ed., Ed. Atheneu, Sao Paulo, 2005. p. 56-72.

MIRÓ, G. New perspectives on canine leishmaniosis therapy I: Parasiticidal treatments. In: WOLRD CONGRESS ON LEISHMANIOSIS,5., 2013, Pernambuco. Anais... Pernambuco, 2013. P.16

MOURA, S. T. et al. Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do município de Cuiabá, estado de Mato Grosso, Brasil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, v. 36, n. 2, p. 123-126, 1999.

NEVES, D.P. *Parasitologia Humana*. 10ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2000. p.65.

OLIVEIRA, G.G.S.; SANTORO, F.; SADIGUSKY, M. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88: 243-248, 1993.

PALATINIK, C.B. Vaccination against canine leishmaniosis in Brazil. In: WOLRD CONGRESS ON LEISHMANIOSIS,5., 2013, Pernambuco. Anais... Pernambuco, 2013. P.18

REY, L. *Bases da Parasitologia Médica*. 2. ed. Ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2002. 379 p.

RHALEMA, A. et al. Analysis of immune responses in dogs with canine visceral leishmaniasis before, and after, drug treatment. *Veterinary imunology and imunopatology*, n.71, p. 69-76, jun.1999.

RIBEIRO, V.M. Leishmaniose Visceral Canina: aspectos de tratamento e controle. *Clínica Veterinária (São Paulo)*, v.71, p. 66-76, 2007.

SILVA, S.S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. *Revista Tropica – Ciencias Agrarias e Biologicas*, v.1, n. 1, p. 31, 2007.

SOARES, M.J.V. et al. Renal involvement in visceral leishmaniasis dogs. *The Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, v.11,n.4, p.579-593, 2005.

TARTAROTTI, A. L., DONINI, M. A., ANJOS, C., RAMOS, R. R. Boletim epidemiológico. Equipe de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Secretaria Municipal de Saúde de Porto Alegre, v. 13, p. 5-6, 2011.

TILLEY, L.P.; SMITH JR, F.W. Leishmaniose. *Consulta Veterinária em 5 minutos – espécies canina e felina*. 2ed. São Paulo: Manole, 2003 p.892.

VARELLA, P.P.V.; FORTE, W.C.N. Citocinas: revisão. *Revista Brasileira de Alergia e Immunopatologia*, 24: 146-154, 2001.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Urbanization: na increasing risk factor for leishmaniasis. *Weekly Epidemiological Record*, Genève, v.77, n.44, p.364-372, Nov. 2002.