



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E AS AFEÇÕES
RENAIS SECUNDÁRIAS MAIS COMUNS: REVISÃO DA
LITERATURA E DESCRIÇÃO DE 3 CASOS CLÍNICOS**

Dissertação apresentada a provas públicas para a obtenção do grau de mestre em Medicina Veterinária, orientada por Professor Doutor André Marcelo Conceição Meneses.

Beatriz Celina de Oliveira Fonseca Lapa, 21704091

2024

www.ulusofona.pt



UNIVERSIDADE
LUSÓFONA

CENTRO UNIVERSITÁRIO DE LISBOA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA E AS AFEÇÕES
RENAIS SECUNDÁRIAS MAIS COMUNS: REVISÃO DA
LITERATURA E DESCRIÇÃO DE 3 CASOS CLÍNICOS**

VERSÃO FINAL

Dissertação defendida em provas públicas na
Universidade Lusófona, Centro Universitário de
Lisboa, no dia 02 de Maio de 2024, perante o júri
nomeado pelo Despacho de Nomeação de Júri nº:
795/2024, de 08 de abril, com a seguinte composição:
Presidente: Professora Doutora Mariana Batista
Arguente: Professora Doutora Sabrina Legatti
(FMV-Universidade Lusófona)
Orientador: Professor Doutor André Meneses

Beatriz Celina de Oliveira Fonseca Lapa, 21704091

2024

www.ulusofona.pt

Every act of compassion, every purpose of service, is a gift to the world and to ourselves.

Dr. James R. Doty

Agradecimentos

A todos os docentes e colaboradores da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona por estes seis anos de exigência, profissionalismo, transmissão de sabedoria e empenho, em que me foi proporcionado um ensino de excelência, recheado de oportunidades únicas de aprendizagem.

Ao Professor Doutor André Meneses, primeiramente como meu professor, e mais tarde como orientador, quero agradecer pela disponibilidade e ajuda na realização desta dissertação. O professor é o exemplo de que é possível encarar esta profissão com leveza e disposição positiva, sendo simultaneamente um profissional exímio.

A toda a equipa do GHVS e do Onevet Hospital Veterinário do Seixal, aos médicos veterinários, enfermeiros, auxiliares e direção, pela receção, ajuda, orientação e partilha de conhecimento e experiências durante e após o estágio. Às minhas orientadoras externas, Dra. Inês Caravana e Dra. Lúcia Gonçalves, o meu muito obrigada!

À Dra. Nádia, por toda a ajuda e apoio dado na realização desta dissertação.

Aos meus pais, por me terem proporcionado a oportunidade de realizar este sonho e por sempre terem acreditado em mim. Obrigada por me provarem que todos os objetivos que temos são passíveis de ser atingidos, quando adotamos a atitude certa na vida.

À minha irmã, por ser uma fonte de inspiração, apoio constante e amizade inestimável na minha vida. A tua presença motivou-me a relativizar todas as dificuldades que foram surgindo ao longo esta jornada. Obrigada por tudo!

Ao Alexandre, por todo o apoio que me dedicou durante o curso e escrita desta dissertação. As tuas palavras encorajadoras, paciência infinita e constante compreensão foram o alento que me sustentou nos momentos mais difíceis. Obrigada por acreditares em mim, e principalmente, por também me ajudares a acreditar.

À minha tia Luísa, um agradecimento especial pela presença e todo o carinho ao longo desta caminhada. A toda a minha família, por me incentivarem, acreditarem que sou capaz e serem os meus maiores apoiantes.

À Sara, Lourenço e Gustavo, por estarem presentes e pelo incondicional incentivo. A todos os meus amigos, obrigada por me motivarem e animarem quando mais precisei.

À Tita, ao Charlie e à Luna, que apesar de não estarem mais presentes, foram responsáveis pelo meu amor por animais desde nova e para sempre. Ao Mike, à Bekas, à Bella e ao Lucky, por me terem acompanhado nesta etapa e em muitas outras da minha vida. Vocês deram-me, e dão, muito mais do que eu algum dia vos poderei dar. Obrigada.

Resumo

A presente Dissertação de Mestrado foi realizada no âmbito da conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa. Teve como objetivo o desenvolvimento do tema Leishmaniose visceral canina (LCan) e as afeções renais secundárias mais comuns. Inclui uma revisão bibliográfica sobre o tema e apresentação e discussão de três casos clínicos, acompanhados durante um dos estágios finais de curso, no Onevet Hospital Veterinário do Seixal.

A LCan é uma doença zoonótica causada pelo protozoário da espécie *Leishmania infantum*, transmitida por um vetor flebótomo e endémica em Portugal. A sintomatologia associada é variada e inespecífica e a doença renal pode ser a única manifestação clínica presente.

No presente trabalho foram apresentados três casos clínicos de cães com LCan e alterações renais concomitantes distintas, nomeadamente cálculos de xantina, doença renal crónica (DRC) e proteinúria *borderline*. Foram aplicadas diferentes abordagens diagnósticas e terapêuticas ao longo de toda a monitorização, com o objetivo de estabilizar a infeção por *L. infantum* nos animais acometidos e as alterações renais encontradas. Esta doença apesar de ter tratamento, não tem cura, sendo que os achados surgiram não só devido à doença, mas também devido ao tratamento instituído.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral canina; *Leishmania infantum*; cães; doença renal crónica; xantinúria.

Abstract

The present Master's Dissertation was carried out as part of the completion of the Integrated Master's Degree in Veterinary Medicine at Universidade Lusófona, Centro Universitário de Lisboa. It aimed to explore the topic of Canine Visceral Leishmaniasis (LCan) and the most common secondary renal affections. It includes a literature review on the subject and the presentation and discussion of three clinical cases, followed during one of the final internships at Onevet Veterinary Hospital in Seixal.

LCan is a zoonotic disease caused by the protozoan species *Leishmania infantum*, transmitted by a sand fly vector and endemic in Portugal. The associated symptoms are varied and nonspecific, with renal disease sometimes being the only clinical manifestation present.

In this study, three clinical cases of dogs with LCan and distinct concurrent renal alterations were presented, namely xanthine calculi, chronic kidney disease (DRC), and borderline proteinuria. Different diagnostic and therapeutic approaches were applied throughout monitoring, with the aim of stabilizing *L. infantum* infection in affected animals and addressing the renal alterations found. Despite being treatable, this disease is not curable, and the findings arose not only due to the disease but also due to the instituted treatment.

Keywords: Canine visceral leishmaniosis; *Leishmania infantum*; dogs; chronic kidney disease; xanthinuria.

Abreviaturas e Siglas

AFAST – *Abdominal Focused Assessment Sonography for Trauma*

A/G – Albumina/Globulina

AHCC – Composto correlacionado a hexose ativa, do inglês *Active Hexose Correlated Compound*

ALT – Alanina aminotransferase

BID – Duas vezes ao dia, do latim *bis in die*

BUN/CRE – Rácio ureia/creatinina

CAMV – Centro de Atendimento Médico-Veterinário

CLWG – *Canine Leishmaniasis Working Group*

DNA – Ácido desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic acid*

DRC – Doença renal crônica

ELISA – Ensaio de imunoabsorção enzimática, do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*
Et al. – E outros, do latim “*et alli*”

FA – Fosfatase alcalina

GGT – Gama-glutamilttransferase

GHVS – Grupo Hospitalar Veterinário da Sobreda

HVS – Onevet Hospital Veterinário do Seixal

IECA – Inibidores da enzima de conversão da angiotensina

IFAT – Teste de imunofluorescência por anticorpos, do inglês *Indirect fluorescent antibody test*

IFI – Teste de Imunofluorescência indireta

IR – Intervalo de referência

IRIS – Sociedade Internacional de Interesse Renal, do inglês *International Renal Interest Society*

LC – Leishmaniose cutânea

LCan – Leishmaniose visceral canina

LV – Leishmaniose visceral

MCH – Hemoglobina Corpuscular Média

MCHC – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média

MCV – Volume corpuscular médio

MPV – Volume Plaquetário Médio

MV – Médico Veterinário

OIE – Organização Mundial de Saúde Animal

ONLeish – Observatório Nacional das Leishmanioses

PAAF - Punção Aspirativa por Agulha Fina

PAS – Pressão Arterial Sistólica

PCR – Reação de cadeia polimerase, do inglês *Polymerase Chain Reaction*

PO – via oral, do latim *per os*

PU/PD – Poliúria/polidipsia

QUOD – Em dias alternados

RDW – Distribuição dos eritrócitos

SC – Via subcutânea

SDMA – Dimetilarginina simétrica, do inglês *Symmetric dimethylarginine*

SID – Uma vez ao dia, do latim *semel in die*

SMF – Sistema mononuclear fagocitário

SRD – Sem raça definida

TFG – Taxa de Filtração Glomerular

Th1 – Células *T-helper* 1

Th2 – Células *T-helper* 2

Treg – Células T reguladoras

UPC – Rácio proteína/creatinina urinário

WHO – Organização Mundial de Saúde, do inglês *World Health Organisation*

WOAH – Organização Mundial de Saúde Animal, do inglês *World Organisation for Animal Health*

Lista de Unidades e Símbolos

- – Menos

% – Percentagem

+ – Mais

< – Menor

= – Igual

> – Maior

± – Mais ou menos

≤ – Menor ou igual

≥ – Maior ou igual

® – Marca registada

µg/dL – Microgramas por decilitro

µmol/L – Micromole por litro

fL – Fentolitro

G – Gauge

g/dl – Gramas por decilitro

h – Hora

Kg – Quilograma

mg – Miligrama

mg/dL – Miligrama por decilitro

mg/kg – Miligrama por quilograma

ml – Mililitro

ml/kg – Mililitro por quilograma

mm – Milímetro

mmHg – Milímetro de mercúrio

mmol/L – Milimole por litro

°C – Graus Celsius

pg - Picograma

U/l – Unidade internacional por litro

UI – Unidade internacional

Índice Geral

1. Casuística do Estágio Curricular.....	13
2. Leishmaniose Visceral Canina.....	18
2.1 Etiologia.....	18
2.2 Epidemiologia.....	19
2.3 Prevalência em Portugal e na Europa	20
3. Importância em Saúde Pública	22
4. Leishmaniose e doença renal	23
4.1 Fisiopatologia	25
5. Sinais clínicos	26
6. Diagnóstico	28
6.1 Diagnóstico clínico	28
6.2 Diagnóstico laboratorial.....	29
6.3 Estadiamento da LCan	32
6.4 Estadiamento e sub-estadiamento - Doença Renal Crónica	35
7. Tratamento	35
7.1 Complicações renais associadas ao tratamento.....	37
7.2 Tratamento da doença renal crónica	38
7.3 Tratamento das alterações associadas à LCan e doença renal	39
7.3.1 Tratamento da proteinúria	39
7.3.2 Tratamento da hipertensão	40
8. Monitorização	41
9. Prognóstico	42
10.1 Prognóstico em cães com LCan e doença renal.....	42
10. Controlo e profilaxia	43
11. Material e Métodos.....	45
12. Casos clínicos	46
12.1.Caso clínico 1 - Pablito Aimar.....	46
12.1.1 Identificação do paciente e anamnese.....	46
12.1.2 História Clínica.....	46
12.1.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico	46
12.1.4 Diagnóstico definitivo	47

12.1.5 Tratamento	47
12.1.6 Evolução	47
12.2 Caso clínico 2 – Junior.....	53
12.2.1 Identificação do paciente e anamnese	53
12.2.2 História Clínica	53
12.2.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico.....	53
12.2.4 Diagnóstico definitivo	55
12.2.5 Tratamento	55
12.2.6 Evolução clínica	55
12.3 Caso clínico 3 – Rocky	57
12.3.1 Identificação do paciente e anamnese	57
12.3.2 História Clínica	57
12.3.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico.....	57
12.3.4 Diagnóstico definitivo	59
12.3.5 Tratamento	59
12.3.6 Evolução clínica	59
13. Discussão.....	62
13.1 Discussão do caso clínico 1	70
13.2 Discussão do caso clínico 2	72
13.3 Discussão do caso clínico 3	73
14. Conclusão	75
15. Referências Bibliográficas.....	76

Índice de Tabelas

Tabela 1. Manifestações clínicas e alterações laboratoriais encontradas na LCan.....	27
Tabela 2. Achados clínicos em cães com LCan sintomática e as percentagens de ocorrência de cada um.....	28
Tabela 3. Interpretação dos resultados do Leiscan® de acordo com o fabricante.....	30
Tabela 4. Estadiamento clínico da LCan proposto pela LeishVet.....	33
Tabela 5. Estadiamento da DRC canina com base nas concentrações de creatinina sanguínea e SDMA sérica e subestadiamento com base na proteinúria e PAS.....	35
Tabela 6. Protocolos atuais de tratamento de LCan.....	36
Tabela 7. Recomendações de tratamento sugeridas pela IRIS para cada estadio clínico de DRC em cães.....	39
Tabela 8. Monitorização recomendada durante e após o tratamento da LCan.....	41
Tabela 9. Resultados das análises Leiscan® realizadas ao Pablito Aimar	47
Tabela 10. Resultados dos proteinogramas realizados ao Pablito Aimar ao longo do tempo.....	48
Tabela 11. Resultados das urianálises realizadas ao Pablito Aimar ao longo do tempo.....	49
Tabela 12. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Pablito Aimar ao longo do tempo.....	51
Tabela 13. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Pablito Aimar ao longo do tempo.	52
Tabela 14. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Junior ao longo do tempo.....	54
Tabela 15. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Junior ao longo do tempo.....	54
Tabela 16. Resultados da análise Leiscan® do Junior.....	55
Tabela 17. Resultados do proteinograma realizado ao Junior.....	56
Tabela 18. Resultados das análises Leiscan® do Rocky ao longo do tempo.....	58
Tabela 19. Resultado do UPC realizado ao Rocky.....	59
Tabela 20. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Rocky ao longo do tempo.....	60
Tabela 21. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Rocky ao longo do tempo.....	60
Tabela 22. Resultados dos proteinogramas realizados ao Rocky ao longo do tempo.....	61

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Frequência relativa estimada de estadia nas diferentes secções de trabalho do estágio no GHVS.....	14
Gráfico 2. Frequência relativa estimada de estadia nas diferentes secções de trabalho do estágio no HVS.....	16
Gráfico 3. Distribuição da casuística cirúrgica durante todo o estágio curricular.....	17

Índice de Figuras

Figura 1. Distribuição aproximada da infeção canina por <i>L. infantum</i> na Europa.....	20
Figura 2. Mapa de Portugal continental com representação categórica da verdadeira seroprevalência da infeção em cães por <i>Leishmania</i> por região.....	21
Figura 3. Fluxograma da abordagem diagnóstica a cães não vacinados contra a LCan com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença.....	31
Figura 4. Resultado da análise imunológica realizada ao Pablito Aimar em julho de 2022.....	50

1. Casuística do Estágio Curricular

O Estágio Curricular da autora, realizado no âmbito da disciplina de Estágio com vista à conclusão do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, foi dividido em dois locais, ambos na área de clínica e cirurgia de animais de companhia.

A primeira parte do Estágio Curricular ocorreu entre 12 de setembro de 2022 a 30 de dezembro de 2022, no Grupo Hospitalar Veterinário da Sobreda (GHVS), concelho de Almada, distrito de Setúbal, sob orientação da Dra. Inês Caravana, diretora clínica do referido grupo.

O objetivo do Estágio foi aprimorar os conhecimentos adquiridos durante os 5 anos de estudo no Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, e aplicar essas aprendizagens na prática hospitalar, tendo sido, por isso, atribuído um horário de acordo com o período de funcionamento do hospital, que permitiu a autora ter contacto com um vasto leque de situações clínicas, incluindo urgências médicas e cirúrgicas.

Ao todo, a autora fez um total de 604 horas de contacto, sendo que os turnos iam alternando, tendo realizado turnos da manhã (8h-17h ou 9h-18h), intermédios (11h-20h) ou da tarde (13h-22h, 14h-23h ou 15h-24h). Duas a três vezes por mês, foi realizado o turno da noite (23h30-9h30), em que a autora dava apoio aos animais internados e auxiliava nas urgências.

Uma vez por mês ocorreu o dia de estudo, em que eram atribuídos dois temas à autora, um deles de uma doença típica de cães e outro de uma doença típica de gatos, para nesse dia ser elaborado um trabalho teórico sobre as mesmas, com o objetivo de estimular a capacidade de pesquisa, síntese e escrita científica.

Cada estagiário do GHVS estava designado a uma área por dia, que eram divididas em consultas, internamento e cirurgia. Ainda que os dias fossem assim atribuídos, a autora auxiliava cada área também de acordo com a necessidade dos médicos veterinários e casuística do Hospital, tendo ocorrido estar noutras áreas em dias em que o mesmo não estava estipulado.

O trabalho realizado em internamento foi o mais predominante, representando 315 horas, seguido das consultas, que representaram 207 horas e, por fim, da cirurgia, a representar 50 horas de estágio e os dias de estudo, a representar 32 horas de trabalho, como é possível observar no gráfico que se segue (Gráfico 1).

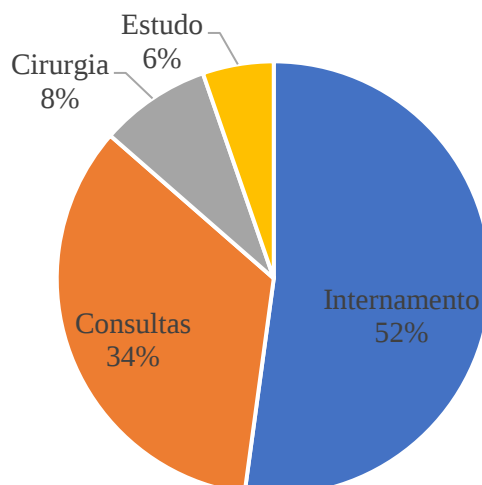


Gráfico 1. Frequência relativa estimada de estadia nas diferentes secções de trabalho do estágio no GHVS.

Relativamente ao internamento, a autora teve a possibilidade de acompanhar vários casos clínicos de medicina interna em conjunto com a equipa médica e de enfermagem, assistindo frequentemente à passagem de casos que ocorria de manhã, à tarde e à noite. Foi dada oportunidade de calcular, preparar e administrar medicações (endovenosas, subcutâneas, intramusculares, orais e tópicas), monitorizar parâmetros vitais aquando da realização de exames físicos, colocar cateteres, preparar sistemas de soro e calcular taxas de fluidoterapia, dar alimentações, elaborar planos alimentares, higienizar boxes e animais, colher amostras biológicas, realizar testes rápidos de diagnóstico, algaliar, fazer tricotomia e limpeza de feridas, realizar pensos, monitorizar transfusões de sangue, auxiliar na realização de exames complementares imagiológicos (como radiografias, ecografias, ecocardiografias e tomografias computadorizadas), assistir a sessões de fisioterapia e laserterapia e passear animais à trela. Foi também dada a oportunidade de realizar as pautas terapêuticas dos animais internados, planejar medicações e elaborar altas clínicas, sob supervisão do médico veterinário (MV) responsável pelo internamento nesse dia.

No que diz respeito às consultas, foi permitido assistir a consultas dos diversos MVs do GHVS, com o intuito de aprender diferentes abordagens clínicas e acompanhar as diversas especialidades, como medicina preventiva, dermatologia, gastroenterologia, oncologia, neurologia, ortopedia, oftalmologia, cardiologia, odontologia, endocrinologia e reprodução e obstetrícia, doenças infectocontagiosas, toxicologia, nefrologia/urologia, tendo sido possível assistir ao longo do estágio, a consultas de primeira opinião, segunda opinião, referência, acompanhamento e urgência.

A autora teve como função auxiliar na contenção de animais quando necessário e na realização de exames físicos, preparar e administrar vacinas, desparasitantes internos e externos, preencher boletins, escrever fichas clínicas e transportar medicação para os consultórios. Foi concedida autorização pelos MVs de debater a necessidade de realização de exames complementares de diagnóstico com os mesmos, interpretar resultados, participar na discussão de diagnósticos diferenciais e quais os planos terapêuticos viáveis, tendo sido postos em prática conceitos aprendidos ao longo de todo o percurso académico. A maior frequência de consultas correspondeu a medicina preventiva, onde estavam englobadas vacinações e desparasitações, tanto nas instalações do GHVS como ao domicílio.

Quanto ao serviço de cirurgia, a autora teve a oportunidade de realizar colheitas de sangue para realização de análises pré-cirúrgicas e interpretação das mesmas, instalar cateteres, calcular, preparar e administrar a medicação da anestesia, realizar tricotomia e assepsia da região cirúrgica, transportar os animais até à sala de cirurgia, entubação e colocação dos aparelhos de monitorização de gasometria arterial, capnografia, pressão arterial e frequência cardíaca e respiratória nos animais. Durante a cirurgia, a autora teve função de circulante, fornecendo os materiais necessários ao médico veterinário-cirurgião; função de anestesista, controlando os parâmetros vitais e plano anestésico do animal ao longo da cirurgia, administrando mais fármacos se necessário; e função de 2ª cirurgia, auxiliando na realização da cirurgia, conforme as indicações que eram dadas. No final da cirurgia, a autora foi responsável pelo período de recobro, em que monitorizou os sinais vitais do animal e retorno à consciência do mesmo, assim como preparou as medicações e recomendações a serem dadas no momento da alta para os tutores.

Em relação aos exames complementares de diagnóstico realizados no período de estágio, a autora teve possibilidade de auxiliar na realização de radiografias (torácicas, abdominais, pélvicas e de extremidades), ecografias (ecocardiografia, abdominal e AFAST em emergências e no seguimento de casos de internamento), testes rápidos de diagnóstico de doenças infecciosas/parasitárias, algaliação para recolha de urina, abdominocentese, cistocentese, toracocentese, punção aspirativa por agulha fina (PAAF) de massas cutâneas e linfonodos (ecoguiada e não ecoguiada), medição da pressão arterial, eletrocardiograma, citologia, esfregaço de sangue e urianálise. Os exames referidos foram realizados tanto em contexto de consulta como de internamento.

A segunda parte do Estágio Curricular realizou-se no Onevet Hospital Veterinário do Seixal, no concelho do Seixal, distrito de Setúbal, entre 9 de janeiro de 2023 a 3 de março de

2023, na área de clínica e cirurgia de animais de companhia, sob orientação da Dra. Lúcia Gonçalves, diretora clínica do mesmo.

A autora completou 260 horas de estágio, tendo realizado, maioritariamente, o turno da manhã (9h-18h) e da tarde (13h-21h ou 14h-22h), durante a semana e, ocasionalmente, ao fim de semana.

À semelhança do estágio anterior, foi possível assistir a consultas de diversas especialidades e acompanhar diferentes médicos veterinários, incluindo as passagens de casos que ocorriam três vezes por dia, auxiliar no serviço de internamento e assistir a cirurgias. Para além disso, foi também atribuída a função de auxiliar na realização de diversos exames complementares de diagnóstico, tanto de imagem como laboratoriais, nomeadamente análises sanguíneas (hemograma e análises bioquímicas).

Neste estágio, o trabalho predominante foi em consultas, seguido de internamento e, por fim, cirurgia, como é possível verificar no gráfico que se segue (Gráfico 2).

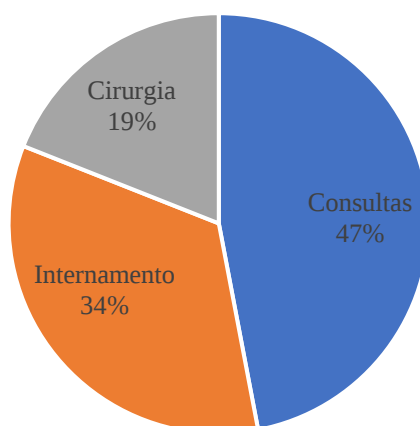


Gráfico 2. Frequência relativa estimada de estadia nas diferentes secções de trabalho do estágio no HVS.

No gráfico abaixo (Gráfico 3), é possível verificar que a distribuição da casuística cirúrgica na totalidade do estágio curricular foi variada, encontrando-se discriminada por especialidade. Realizaram-se as seguintes técnicas cirúrgicas: cistotomia (urologia), laparotomia exploratória, esplenectomia (outras), enucleação de globo ocular e correção de prolapso da glândula da terceira pálpebra (oftalmologia), remoção de massas com margens cirúrgicas (oncologia), higienização profissional e exodontia (odontologia), enterotomia, enterectomia, gastrotomia e gastropexia (gastroenterologia), nodulectomia cutânea e encerramento de laceração cutânea (dermatologia) e mastectomia, ovariohisterectomia, orquiectomia e cesariana (reprodução e obstetrícia).

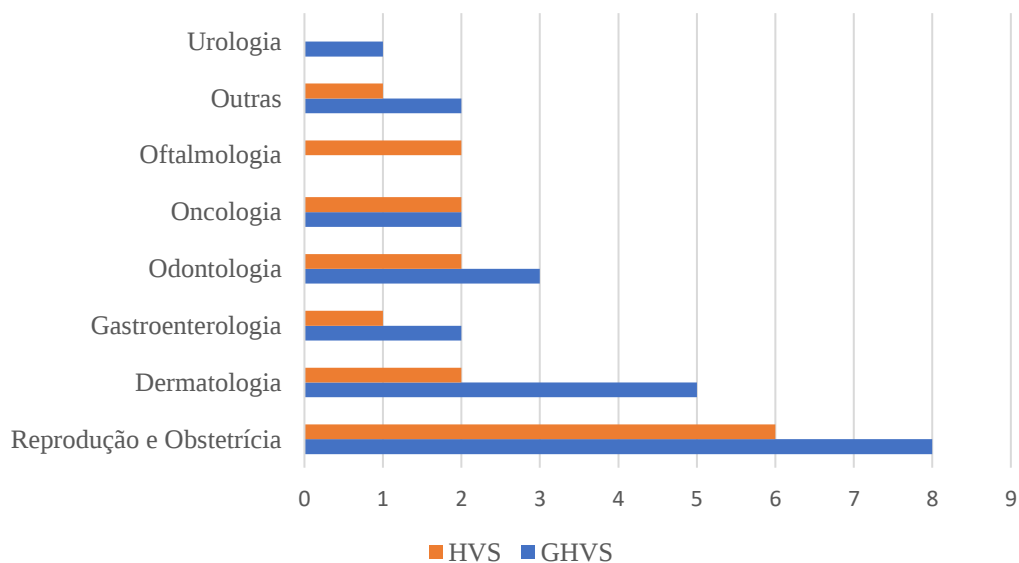


Gráfico 3. Distribuição da casuística cirúrgica durante todo o estágio curricular.

De uma forma geral, a autora teve oportunidade de integrar e se adaptar a dois centros de atendimento médico-veterinário (CAMV), acompanhar diferentes MVs e respectivas abordagens clínicas e lidar com diferentes ambientes de trabalho e casuística, o que permitiu adquirir competências pessoais, acadêmicas e profissionais, fundamentais no trabalho de um MV, tendo sido ambos os estágios bastante enriquecedores para o crescimento da autora, que acabaram por se complementar em diversos sentidos.

O tema escolhido para esta dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária foi “Leishmaniose visceral canina e as afeções renais secundárias mais comuns”, dado ser uma zoonose de elevada prevalência na região onde realizou o estágio e ter uma importância significativa em Medicina Veterinária e em Saúde Pública, e por ser uma doença de elevado interesse para a autora, visto que as disfunções renais são extremamente comuns em pacientes portadores de leishmaniose, sendo as principais abordadas na presente dissertação.

2. Leishmaniose Visceral Canina

2.1 Etiologia

A Leishmaniose visceral canina (LCan) é uma doença zoonótica, potencialmente fatal, provocada por protozoários do género *Leishmania*. É uma doença global, endémica em mais de 70 países no mundo, que acomete cães em países do Velho Mundo, que engloba a Europa, África e Ásia, e nos países do Novo Mundo, que inclui a América do Sul e Central. A Organização Mundial de Saúde (OMS) considera a leishmaniose como uma das mais importantes zoonoses negligenciadas do mundo (Maia & Campino, 2018; WHO, 2023). Estão descritas cerca de 30 espécies distintas de *Leishmania*, sendo que a espécie responsável pela ocorrência da infeção canina e humana no Velho Mundo é *Leishmania infantum*, denominada *Leishmania chagasi* no Novo Mundo (Baneth *et al.*, 2008).

Este parasita apresenta um ciclo de vida heteroxeno, o que implica o envolvimento de, pelo menos, dois hospedeiros, um vertebrado e outro invertebrado. A transmissão ocorre principalmente através de insetos vetores, flebótomos fêmeas, do género *Phlebotomus sp.*, onde o protozoário se replica como promastigotas. Existem numerosas espécies de flebotomíneos, mas apenas uma minoria destas são vetores competentes de LCan (Gálvez *et al.*, 2018; Serafim *et al.*, 2020). No hospedeiro vertebrado, mamífero, após a inoculação, o sistema mononuclear fagocitário (SMF) constituído por macrófagos e células dendríticas da pele vão fagocitar os promastigotas e convertê-los em amastigotas, que se vão multiplicar e infetar outras células do SMF (Bourdeau, 2009). O parasita é, então, transportado para todo o organismo do hospedeiro, através do sangue e linfa, maioritariamente para os órgãos do sistema hemolinfático, como o fígado, baço, linfonodos e medula óssea (Baneth *et al.*, 2008). Deste modo, o protozoário ao circular na corrente sanguínea, pode ser ingerido pelos flebótomos, o que possibilita a transmissão do mesmo. O cão doméstico (*Canis familiaris*) é o principal hospedeiro de *L. infantum* e reservatório da infeção para humanos, desempenhando um papel fundamental na transmissão zoonótica (Moreno *et al.*, 2002).

Têm sido demonstradas outras vias de transmissão não vetorial, como a vertical, venérea e através de transfusão de sangue de dadores portadores da infeção (Bourdeau, 2009; de Freitas *et al.*, 2006). Outros modos de transmissão suspeitos, mas ainda não provados, são o contacto direto cão a cão através de mordeduras ou feridas e por outros artrópodes hematófagos, como pulgas ou carraças (Shaw *et al.*, 2009). Estes modos de transmissão que não implicam a intervenção de flebótomos carecem de mais estudos, dado que a sua importância na epidemiologia da LCan não está bem definida (Baneth *et al.*, 2008).

2.2 Epidemiologia

Para além da prevalência da infeção por LCan em áreas endémicas ser consideravelmente maior do que a de doença clínica aparente, os cães doentes manifestam diferentes sinais clínicos e diferentes níveis de gravidade. Os animais sintomáticos não são os únicos responsáveis pela infeção dos flebótomos, uma vez que também os animais assintomáticos, isto é, que não manifestam sinais clínicos, têm a capacidade de infetar os vetores (Baneth *et al.*, 2008). A infeção dissemina-se rapidamente entre cães quando existem condições ideais de transmissão, como uma elevada densidade de vetores flebótomos e de hospedeiros caninos e escassas medidas de profilaxia (Almeida *et al.*, 2022; Oliva *et al.*, 2006). Uma elevada prevalência de infeção em cães está também associada com um aumento do risco de doença em humanos (Werneck *et al.*, 2007).

Foram descritos vários fatores predisponentes para o desenvolvimento da doença em Portugal, incluindo a idade, raça, nutrição, genética do hospedeiro, coinfeções e doenças concomitantes, condições imunossupressoras, carga parasitária, virulência da estirpe, infeções prévias e método de transmissão (Almeida *et al.*, 2022). A idade parece ser um fator importante, com maior prevalência relatada em cães com menos de 3 anos ou mais de 8 anos (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Alguns estudos descrevem que os fatores idade, tamanho da pelagem, região da habitação e estilo de vida *indoor* ou *outdoor*, foram mais importantes na transmissão da infeção por *Leishmania* do que a raça ou tratamento com inseticidas (Cortes *et al.*, 2012). Algumas raças de cães como Boxer, Cocker Spaniel, Rottweiler e Pastor Alemão, parecem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença, enquanto Ibizaian Hound, por exemplo, raramente desenvolve sinais clínicos de LCan (Ribeiro *et al.*, 2018).

As circunstâncias da transmissão mudam constantemente em relação a fatores ambientais, demográficos e comportamentais humanos, que todos juntos contribuem para uma epidemiologia variável de infeção e doença (Antoniou *et al.*, 2013). Foi descrito que os vetores tendem a picar preferencialmente no nariz, orelhas, região periocular e abdómen, por terem uma menor densidade de pêlo, o que facilita a ingestão de sangue (Mencke *et al.*, 2003). A maior taxa de infeção em raças de cães de trabalho ocorre provavelmente devido ao maior tempo de contacto com o vetor em ambientes exteriores. Embora controverso, o comprimento do pêlo pode influenciar o risco de infeção, pois é uma característica que varia muito entre as raças caninas. Resumindo, a probabilidade de adquirir infeção por *Leishmania* parece ser menor em cadelas de raças cruzadas, de pêlo longo, mantidas em ambiente doméstico restrito ou restritas sem a presença de áreas verdes próximas à casa (Ribeiro *et al.*, 2018).

2.3 Prevalência em Portugal e na Europa

Na Europa, existe uma elevada expressão da doença na região da bacia mediterrânica, sendo considerada uma região endémica para a LCan, causada por *L. infantum* (Figura 1), estimando-se que existam pelo menos 2,5 milhões de cães infetados nos países do sul da Europa e taxas de prevalência até 60% em populações expostas (Catorze *et al.*, 2006; ESCCAP, 2023; Greene, 2016).

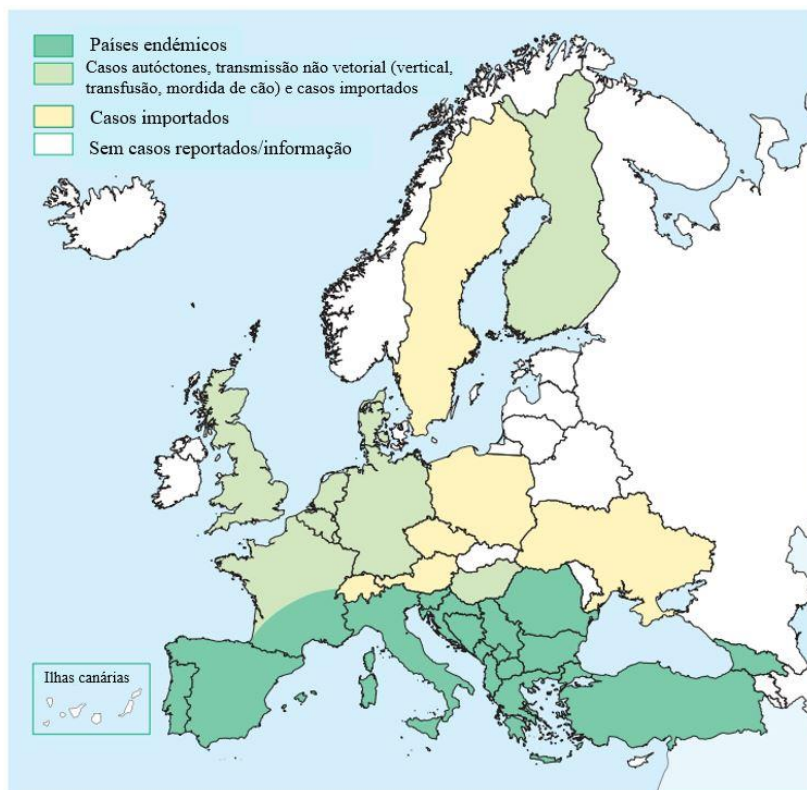


Figura 1. Distribuição aproximada da infecção canina por *L. infantum* na Europa (Adaptado de “GL5: Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats” In ESCCAP. Retirado a 7 de novembro de 2023 de https://www.esccap.org/uploads/docs/5y4xn3fr_0775_ESCCAP_Guideline_GL5_20221228_1p.pdf).

O aumento do número de cães que viajam ou são importados como animais de companhia de países onde LCan é endémica, levou ao aumento do número de casos clínicos notificados em países não endémicos, como o Reino Unido (Shaw *et al.*, 2009).

Em 2022, um estudo revelou valores de seropositividade médios em Portugal continental de 12,3% (Almeida *et al.*, 2022), sendo que dez anos antes, em 2012, apresentava valores na ordem dos 6,3% (Cortes *et al.*, 2012). A nível regional os valores são variáveis. No período de 1986 a 2006 foram registados níveis de seropositividade de 4 a 21% em todo o país (Observatório Nacional das Leishmanioses [ONLeish], 2011). Em 2019, a seroprevalência atingiu 56% na região Centro (Pires *et al.*, 2019) e noutro estudo realizado por Almeida *et al.* (2022), a seroprevalência variou de 9,6% na região do Norte a 17,2% no Algarve (Figura 2).

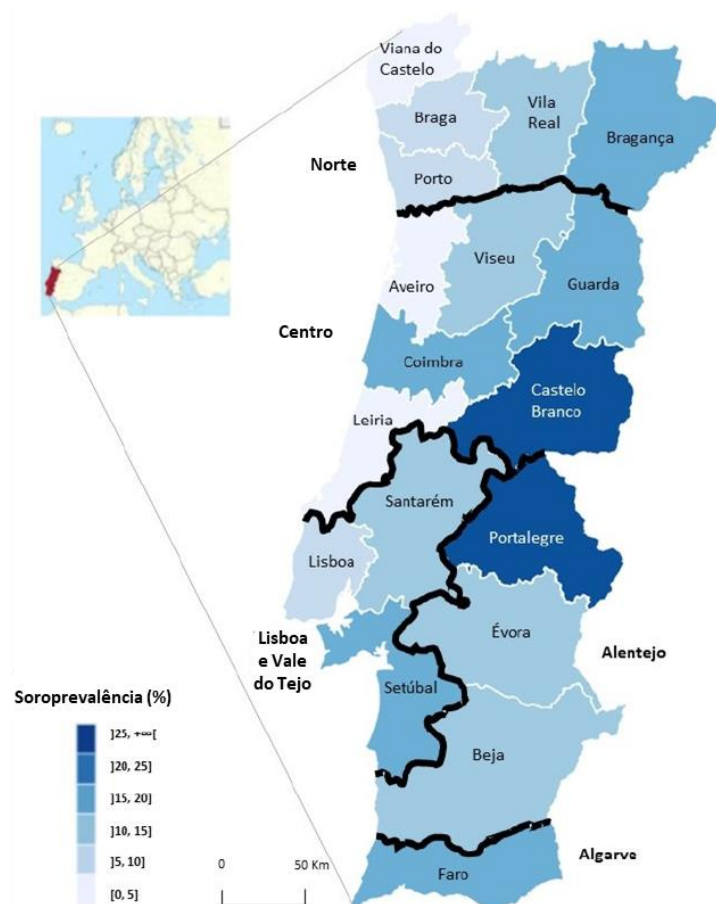


Figura 2. Mapa de Portugal continental com representação categórica da verdadeira seroprevalência da infecção em cães por *Leishmania* por região (adaptado de Almeida *et al.*, 2022).

Um estudo realizado por Maia *et al.* (2016) no sul de Portugal revelou que em cães sem sinais clínicos compatíveis, a prevalência da infecção por *L. infantum* foi de 69%, enquanto em cães com pelo menos um sinal clínico, a detecção de DNA de *L. infantum* foi superior em machos (53,3%) e naqueles que não receberam repelentes de insetos (52,8%). Outro estudo realizado na zona urbana de Lisboa, testou 374 cães através de métodos serológicos e verificou uma prevalência da parasitose de 19,2%, sendo que cães errantes apresentaram uma seroprevalência superior (21,6%) comparativamente com cães domésticos (18,4%) (Cortes *et al.*, 2007).

Os potenciais fatores de risco associados com a infecção por *L. infantum* em cães em Portugal foram a idade (igual ou superior a dois anos), residir no interior do país e não usar repelentes (Almeida *et al.*, 2022). Em relação aos cães domésticos, verifica-se uma maior prevalência de infecção nos animais que habitam na área suburbana da região de Lisboa, o que está provavelmente associada a um aumento de casas com zona exterior, onde os animais permanecem maior parte do tempo, o que aumenta a exposição ao vetor (Cortes *et al.*, 2007).

3. Importância em Saúde Pública

A principal via de infecção em humanos é através de flebótomos, cuja transmissão ocorre a partir de cães ou canídeos selvagens infetados (Baneth & Solano-Gallego, 2022). Nos humanos, a leishmaniose pode apresentar-se de três formas distintas, nomeadamente, visceral, cutânea e mucocutânea. A leishmaniose visceral (LV) causada por *L. infantum* é caracterizada por acessos irregulares de hiperexia, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia e anemia. Esta é a forma mais séria da doença, dado ser fatal em 95% dos casos se não for instituído um tratamento. Estima-se que afete anualmente entre 200 mil a 400 mil pessoas em todo o mundo e que cause entre 20 mil a 40 mil mortes por ano (Alvar *et al.*, 2012; Burza *et al.*, 2018). Ao longo dos anos em algumas partes do mundo, milhões de cães foram abatidos como parte de políticas governamentais para o controlo de LV humana, também conhecida como LV zoonótica, mas esta prática tem vindo a ser substituída por abordagens mais efetivas (Dantas-Torres *et al.*, 2019). A leishmaniose cutânea (LC) é a forma mais comum da doença, provocando lesões cutâneas. É estimado que ocorram anualmente 600 mil a 1 milhão de novos casos em todo o mundo, sendo que 95% dos mesmos surgem na bacia do Mediterrâneo, América, Médio Oriente e Ásia Central (WHO, 2023).

No sul da Europa, onde a doença em humanos é frequentemente esporádica, são afetados maioritariamente adultos que sofrem de doenças imunossupressoras ou crianças jovens (Gramiccia & Gradoni, 2005). No entanto, em Portugal no período de 2000 a 2009 foram diagnosticados laboratorialmente 173 novos casos de LV humana, 66 em adultos e crianças imunocompetentes e 107 em adultos imunocomprometidos (Campino & Maia, 2010). Em regiões endémicas, as pessoas compartilham o mesmo *habitat* e estão frequentemente em contato físico próximo com cães infetados, quer apresentem doença clínica ou, como é mais frequente, abriguem a infecção de forma assintomática e a proporção entre humanos clinicamente afetados e cães infetados é baixa, sendo que ter cães geralmente não é percebido como estando associado a um aumento no risco de leishmaniose para o Homem (Miró *et al.*, 2008). É possível compreender que a ligação entre a infecção do canídeo e do Homem difere de região para região e depende de vários fatores, como a desnutrição, habitação precária, sistema imunitário enfraquecido, alterações climáticas e ambientais, mobilidade populacional e falta de recursos financeiros (WHO, 2023).

Para evitar que a LCan afete novos países ou regiões onde existem condições de transmissão, deve-se testar os animais com métodos sensíveis e prevenir a entrada de animais infetados. Cães que visitem áreas endémicas devem ser protegidos por inseticidas ou vacinas

(Miró *et al.*, 2008). Esta doença é também uma preocupação em países não endêmicos onde a importação de animais doentes ou infetados constituem um problema veterinário e de saúde pública (Shaw *et al.*, 2009). É função do MV transmitir informação aos tutores sobre esta doença zoonótica, incentivando a adoção de medidas de controlo de vetores e a participar na prevenção e tratamento da doença.

4. Leishmaniose e doença renal

A origem primária da doença renal associada a LCan é glomerular, resultante da deposição de complexos imunes circulantes em diferentes níveis da estrutura glomerular (Roura *et al.*, 2021). Inicialmente, os cães infetados assintomáticos podem apresentar proteinúria moderada a grave, sem azotemia. À medida que o dano glomerular progride, desenvolve-se nefrite tubulointersticial secundária e azotemia, levando à síndrome nefrótica ou doença renal (Baxarias *et al.*, 2023). A glomerulonefrite e a nefrite tubulointersticial são os achados patológicos mais comuns, tendo sido apontadas como as principais causas de proteinúria subclínica, síndrome nefrótica e doença renal crónica (DRC), enquanto a amiloidose é muito rara (Costa *et al.*, 2003; Plevraki *et al.*, 2006). A classificação histológica da glomerulonefrite é maioritariamente do tipo membranoproliferativa e/ou mesangioproliferativa (Wilson *et al.*, 2017). A doença renal é uma descoberta frequente na LCan e pode ser a única manifestação clínica em cães infetados, tendo sido identificadas evidências laboratoriais de doença renal em aproximadamente 50% dos cães infetados (Cortadellas *et al.*, 2006; Pineda *et al.*, 2017). Além disso, praticamente 100% dos cães com LCan apresentam lesões histopatológicas compatíveis com nefropatia (Costa *et al.*, 2003).

A proteinúria resulta da perda urinária de proteínas plasmáticas, como a albumina, resultante das alterações na permeabilidade da membrana basal glomerular, o que promove a progressão das lesões glomerulares e tubulointersticiais e, se for persistente, pode desencadear a síndrome nefrótica, caracterizada por hipoalbuminemia, ascite, edema periférico e hipercolesterolemia. A azotemia, indicativa de disfunção renal, é frequentemente descrita em cães com LCan e pode levar à doença renal grave isoladamente, que é potencialmente fatal (Roura *et al.*, 2021). Apesar da alta prevalência de doença renal em cães com LCan, a azotemia renal é um achado laboratorial tardio, sendo evidente apenas quando a maioria dos nefrónios está disfuncional, o que acontece quando ocorre progressão da doença (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018; Paltrinieri *et al.*, 2016). No entanto, a proteinúria é frequentemente reconhecida no momento do diagnóstico em cães com infeção subclínica. A proteinúria é também um

importante marcador da progressão da doença renal em cães com azotemia e está associada a um maior risco de desenvolvimento de sinais clínicos e morte. Tanto a proteinúria quanto a azotemia podem melhorar significativamente com o tratamento apropriado, sendo úteis para monitorizar a resposta ao tratamento (Ribeiro *et al.*, 2018; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

As alterações renais podem permanecer como proteinúria leve ou subclínica, ou progredir para síndrome nefrótica, com disfunção excretora e hipertensão sistêmica associada, culminando em doença renal em estadió final. A DRC é uma manifestação grave da progressão da doença e a principal causa de mortalidade em cães com LCan, sendo que o diagnóstico precoce beneficia o animal, prolongando a sua expectativa de vida (Koutinas & Koutinas, 2014).

Embora a medição de dimetilarginina simétrica (SDMA) sérica seja considerada um marcador sensível (IRIS, 2019a), pesquisas recentes não demonstraram vantagens em comparação com a medição do UPC, como marcador precoce para detecção de DRC em cães com LCan (Giapitzoglou *et al.*, 2020; Torrent *et al.*, 2018). Seria esperado porque a proteinúria é o primeiro achado clinicopatológico que indica nefropatia associada à LCan e a Taxa de Filtração Glomerular (TFG) geralmente não é reduzida nas fases iniciais da doença glomerular, estando, em vez disso, normal ou aumentada (Paltrinieri *et al.*, 2016). Um UPC entre 0,5 e 2,0 pode indicar doença glomerular ou tubular, enquanto um $UPC \geq 2,0$ está mais provavelmente correlacionado com doença glomerular (Baxarias *et al.*, 2023).

As doenças renais são a principal causa de hipertensão sistêmica secundária em cães, associada ou não à LCan. Nestes cães, um aumento substancial na PAS pode resultar em dano nos órgãos-alvo, afetando os olhos, coração, cérebro e rins (Acierno *et al.*, 2018). Além disso, em cães com insuficiência renal induzida, as maiores medições de PAS estão associadas a um aumento na proteinúria, uma redução mais acentuada na TFG e uma maior gravidade da lesão renal. Portanto, alterações renais e hipertensão simultâneas em cães com LCan podem potencialmente exacerbar a DRC pré-existente, aumentando o risco de mortalidade (Roura *et al.*, 2021). A prevalência de hipertensão sistêmica em cães com LCan está descrita entre 29% (Braga *et al.*, 2015) e 62% (Cortadellas *et al.*, 2006), sendo recomendada também a medição da PAS em todos os casos, de acordo com as recomendações internacionais (IRIS, 2019b).

Embora apenas cerca da metade dos cães com LCan apresente evidências clínicas de doença renal com base nos critérios diagnósticos comuns, quase todos provavelmente são afetados de alguma forma. Para estabelecer um diagnóstico mais precoce e melhorar o prognóstico para doença renal existente, a quantificação da proteinúria deve ser obrigatória em todos os cães com LCan (Roura *et al.*, 2021).

4.1 Fisiopatologia

A evolução da infecção por *Leishmania sp.* e as manifestações clínicas altamente variáveis da doença resultam de uma complexa interação entre o parasita, o vetor flebótomo (especificamente, as propriedades imunomoduladoras da sua saliva) e o sistema imunitário local (pele) e sistêmico do hospedeiro, sendo que o histórico genético (raça) dos cães afetados também pode influenciar o sistema imunológico (Hosein, Blake & Solano-Gallego, 2017).

A resposta imune do hospedeiro contra *L. infantum* inclui tanto respostas imunes inatas quanto adaptativas, sendo as segundas as mais intensivamente investigadas. Geralmente, o desfecho da doença está correlacionado com duas respostas imunes adaptativas e são essas respostas imunes divergentes que se acredita serem responsáveis pela variedade de alterações patológicas e sinais clínicos reconhecidos em cães com doença clínica evidente. Assim, cães geneticamente resistentes desenvolvem uma resposta imune protetora de tipo Th1 (*T-helper* 1), marcada pela produção de citocinas pró-inflamatórias que sinalizam macrófagos parasitados permitindo que eliminem amastigotas de *Leishmania* intracitoplasmáticas, o que limita tanto a infecção quanto as reações inflamatórias associadas, que, em última análise, restringem a capacidade de reservatório do cão infetado (Toepp *et al.*, 2020).

Por outro lado, a suscetibilidade está associada a uma resposta imune sistêmica dominada por células Th2 (*T-helper* 2), com aumento na produção de citocinas anti-inflamatórias, alta carga parasitária e exacerbação da doença (Santos *et al.*, 2019, 2020). A resposta de tipo Th2 é caracterizada por uma atividade humoral exagerada, causando hipergamaglobulinemia Gama, produção de autoanticorpos e formação de complexos imunes circulantes. Os locais-alvo clássicos para a deposição de tais complexos na LCan são, por exemplo, os glomérulos renais, úvea anterior, derme, mucosa nasal e membrana sinovial (Koutinas & Koutinas, 2014), sendo que a circulação e subsequente deposição de complexos imunes em diversos tecidos resultam em reações inflamatórias, como a glomerulonefrite, vasculite, uveíte, miosite, meningite e poliartrite, geralmente correlacionadas com a progressão da doença (Parody *et al.*, 2019). Além disso, as células T reguladoras (Treg) podem desempenhar um papel importante na regulação imune, sendo recrutadas para os locais de infecção, reprimindo a resposta de tipo Th1, o que permite o crescimento do parasita e a progressão da doença (Toepp *et al.*, 2020). Estudos dizem que diferentes tecidos afetados por parasitas *Leishmania* podem apresentar respostas imunes de tipo Th1, Th2 ou mistas Th1/Th2 (Rodríguez-Cortés *et al.*, 2016).

5. Sinais clínicos

A variedade e intensidade dos sinais clínicos é determinado por um conjunto de fatores que envolve a estirpe do parasita, genética e o estado imunitário do hospedeiro. O quadro clínico da LCan está diretamente relacionado ao tipo de resposta celular contra os protozoários. Quando os linfócitos Th1 estão em maior quantidade, ocorre uma resposta celular protetora e o animal não apresenta sintomatologia. Por outro lado, quando há predomínio dos linfócitos Th2, ocorre uma resposta imune humoral e o cão apresenta sinais clínicos da infecção (da Fonseca Júnior *et al.*, 2021). Entre as diversas alterações clínicas que se podem observar na forma sintomática da doença (Tabela 1), são de salientar as evidências inespecíficas de doença sistêmica, como baixa condição corporal, pêlo em mau estado e linfadenomegalia generalizada, onicogribose, epistaxe, alterações dermatológicas e hepatoesplenomegalia (Almeida *et al.*, 2022). Cães com doença renal avançada podem apresentar úlceras orais, membranas mucosas pálidas ou desidratação.

Tabela 1. Manifestações clínicas e alterações laboratoriais encontradas na LCan (Adaptado de LeishVet, 2022; Paltrinieri *et al.*, 2016).

Manifestações Clínicas	
Gerais	Cutâneas
Linfadenomegalia generalizada	Dermatite esfoliativa não prurítica, com ou sem alopecia, localizada ou disseminada
Perda de peso corporal	Dermatite nodular, papular ou pustular
Diminuição ou aumento do apetite	Onicogribose
Poliúria	Dermatite erosiva/ulcerativa
Polidipsia	
Letargia	Oculares
Membranas mucosas pálidas	Blefarite (esfoliativa, ulcerativa ou nodular) e conjuntivite (nodular)
Vômito	Queratoconjuntivite (comum ou seca)
Pirexia	Endoftalmite
Diarreia	
Outras	
Lesões ulcerativas ou nodulares mucocutâneas e das mucosas (oral, genital e nasal)	
Epistaxis	
Claudicação (poliartrite erosiva ou não erosiva, osteomielite e polimiosite)	
Alterações Laboratoriais	
Hemograma/Hemóstase	Perfil bioquímico sérico com eletroforese de proteínas
Anemia não regenerativa ligeira a moderada, normocítica normocrômica	Hiperglobulinemia (beta- e/ou gamaglobulinemia policlonais)
Leucocitose ou leucopenia: linfopenia, neutrofilia, neutropenia	Hipoalbuminemia
Trombocitopenia	Diminuição do rácio albuminas:globulinas
Redução da hemóstase secundária e da fibrinólise	Aumento da atividade das enzimas hepáticas

Urianálise	Hiperproteinemia
Proteinúria	Aumento da atividade das enzimas hepáticas
Densidade específica urinária diminuída	Aumento das proteínas de fase aguda positivas (p.e. proteína C-reativa, ferritina, amiloide A sérica)
Outras	
Atrofia muscular (miosite atrófica dos músculos mastigadores)	
Vasculopatias (vasculite sistêmica e tromboembolismo arterial)	
Alterações neurológicas	

Nesta doença, a infecção não é igual a doença clínica, o que resulta numa alta prevalência de infecção subclínica (Baneth *et al.*, 2008; Solano-Gallego *et al.*, 2001) e segue frequentemente um processo insidioso, padrão crônico e multissistêmico, que pode potencialmente envolver qualquer órgão (Peters & Sacks, 2006). Porém, a infecção subclínica não é necessariamente permanente, dado que fatores como a imunossupressão ou doenças concomitantes podem quebrar o equilíbrio e levar à progressão da doença clínica (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Alguns cães podem permanecer infetados por um longo período (anos ou o resto da vida) sem que ocorra doença clínica, e até pode evoluir para cura espontânea, sendo que outros apresentam uma evolução aguda e desenvolvem sinais clínicos severos pouco tempo depois da infecção ocorrer, podendo levar à morte, se não forem adotadas medidas de manejo e terapia adequadas (Ribeiro *et al.*, 2018). Os sinais clínicos podem manifestar-se a partir de 3 meses até vários anos após os cães serem infetados. Na Tabela 2, é possível verificar a incidência de alguns sinais clínicos em cães sintomáticos.

Tabela 2. Achados clínicos em cães com LCan sintomática e as percentagens de ocorrência de cada um (adaptado de Baneth *et al.*, 2008).

Achado no exame clínico	Percentagem de cães sintomáticos
Lesões dermatológicas	81-89 %
Linfadenomegalia	62-90 %
Lesões oculares	16-81 %
Membranas mucosas pálidas	58%
Esplenomegalia	10-53 %
Caquexia	10-48 %
Pirexia	4-36 %
Epistaxis	6-10 %
Onicogribose	20-31 %

6. Diagnóstico

O diagnóstico da LCan baseia-se nos sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença, assim como em técnicas serológicas e moleculares que confirmam a infecção por *L. infantum*, dado não existir um teste perfeito de diagnóstico. O espectro de sinais clínicos característicos da LCan é amplo e a gama de alterações laboratoriais que se podem verificar pode ser variada e inespecífica, o que torna o diagnóstico complexo (Solano-Gallego *et al.*, 2011). O principal objetivo do diagnóstico da infecção é determinar se o cão está infetado, mas sem doença clínica; infetado e doente por outro motivo; ou infetado e doente devido à LCan (Roura *et al.*, 2021).

Diagnosticar, para além de confirmar a doença num cão com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis, possibilita rastrear cães clinicamente saudáveis que vivam ou viajem de ou para áreas endémicas e que sejam dadores de sangue e reprodutores (LeishVet, 2022). A tentativa de diagnóstico pode ser feita, também, como rastreio, previamente à vacinação ou terapia imunossupressora.

A LCan é uma doença sistémica que pode afetar qualquer órgão, tecido ou fluído biológico e manifesta-se através de um quadro clínico variável e inespecífico, o que torna a lista de diagnósticos diferenciais extensa (Solano-Gallego *et al.*, 2009; 2011). Os cães podem estar coinfectados com doenças infecciosas ou transmitidas por vetores, nomeadamente a Babesiose, Erliquiose e Hepatozoonose, ou não infecciosas concomitantes, tornando os diagnósticos diferenciais mais complicados e diversos, fazendo com que a abordagem diagnóstica tenha de ser adaptada a cada animal (Pessoa-e-Silva *et al.*, 2019). Um estudo realizado por Apostolidis *et al.* (2023), constatou que nos cães infetados com *L. infantum* é mais frequente ocorrer doença clínica se os cães forem seropositivos para *Neospora caninum* e *Babesia spp.*

6.1 Diagnóstico clínico

Durante a recolha da anamnese, a possibilidade da exposição do cão ao vetor deve ser avaliada, assim como o estilo de vida do animal, o local de habitação, se ocorreram deslocações a áreas endémicas de LCan e quais as profilaxias aplicadas. É importante realizar um exame físico minucioso de forma a averiguar se existe sintomatologia compatível com a LCan. Porém, como já fora referido, o quadro clínico desta doença é heterogéneo e inespecífico, e os animais podem ser assintomáticos, sendo por isso aconselhável a realização de exames complementares que permitam orientar o diagnóstico (Monteiro, Prata, Cardoso, Pereira da Fonseca, & Leal, 2021). Os principais exames complementares de diagnóstico utilizados para diagnosticar LCan

são o hemograma completo, perfil bioquímico, urianálise e proteinograma (da Fonseca Júnior *et al.*, 2021). Um estudo realizado por Baxarias *et al.* (2023) verificou que as alterações bioquímicas foram os achados clinicopatológicos mais comuns encontrados em cães seropositivos para LCan, estando presentes em 98% dos animais, seguidos de alterações no trato urinário (46%) e hematológicas (40%).

No hemograma, é possível constatar anemia não regenerativa, leve a moderada, que a nível morfológico se caracteriza por ser normocítica e normocrômica. Pode estar presente trombocitopenia, diminuição dos fatores de coagulação e hiperglobulinemia. As alterações mais comuns incluem leucopenia, mas também leucocitose com neutrofilia devido à resposta inflamatória sistêmica, ou linfopenia e linfocitose, monocitose, eosinofilia e trombocitopenia leve a moderada na ausência de co-infecções, sendo que se for grave, se deve suspeitar de infecção por outros agentes transmitidos por vetores ou outras causas concomitantemente (Paltrinieri *et al.*, 2016). No perfil bioquímico com eletroforese de proteínas séricas (proteinograma), pode verificar-se hiperproteïnemia com hipoalbuminemia e hiperglobulinemia, achado frequente em cães com LCan devido à diminuição do rácio albumina/globulina (A/G). As enzimas hepáticas alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina (FA) e gama-glutamilttransferase (GGT), podem apresentar uma elevação moderada, porém são pouco frequentes nos cães infetados, dado terem tendência a normalizar após o tratamento. É possível encontrar-se azotemia, ou aumento da ureia ou creatinina sérica (de Fonseca Junior *et al.*, 2021). Num estudo realizado por Silva *et al.* (2019), foi observada hiperfosfatemia em 83,3% dos casos e hipocalcemia em 73,3%, resultados consistentes com as alterações verificadas quando ocorre doença renal (Cortadellas *et al.*, 2012). É importante salientar que a utilização do proteinograma auxilia no diagnóstico e é considerado um dos melhores meios de monitorização da progressão da doença e da resposta do animal ao tratamento, o que permite detetar ainda as suas eventuais recidivas.

Na urianálise é frequente verificar-se hipostenúria e proteinúria, com presença de cilindros hialinos durante o exame de sedimento urinário, sinal evidente de glomerulonefrite secundária à deposição de complexos imunes (Baxarias *et al.*, 2023).

6.2 Diagnóstico laboratorial

Os métodos de diagnóstico laboratorial existentes dividem-se em parasitológicos, nomeadamente a citologia/histologia, imuno-histoquímica e cultura; moleculares, nomeadamente, a reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional, “*nested*” e em tempo real e serológicos, quantitativos (como o teste de imunofluorescência por anticorpos [IFAT] e ensaio imunoenzimático [ELISA]) e qualitativos (testes rápidos) (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

A probabilidade de diagnosticar LCan aumenta quando um animal que apresenta sinais clínicos sugestivos e tem alterações laboratoriais compatíveis, possui um título de anticorpos marcadamente positivo nos testes serológicos (por exemplo, título de anticorpos por imunofluorescência (IFI) $\geq 1/320$ se o limite do teste for 1/40) e quando o parasita pode ser identificado em amostras de tecido (Roura *et al.*, 2021).

Um dos testes comerciais mais utilizados é o Leiscan®, um ensaio imunoenzimático para a detecção e medição semi-quantitativa de anticorpos anti-*Leishmania* no soro. Foi creditado e recomendado pela Organização Mundial de Saúde Animal (OIE) como teste de referência para confirmação diagnóstica e monitorização da doença, por apresentar uma precisão diagnóstica superior aos restantes testes disponíveis no mercado (Solano-Gallego *et al.*, 2014). É possível verificar a interpretação dos resultados obtidos quando realizado o kit Leiscan®, de acordo com o fabricante (Tabela 3).

Tabela 3. Interpretação dos resultados do Leiscan® de acordo com o fabricante (INNO, 2023).

Resultado	Razão (Rz) da amostra	Equivalência com Imunofluorescência (IFI)
Negativo	(Rz= $<0,5$)	Negativo
Negativo	($0,5 < Rz = <0,7$)	$1/20 < IFI < 1/40$
Negativo	($0,7 < Rz = <0,9$)	$1/40 < IFI < 1/80$
Duvidoso, repetir Leiscan 6 meses depois	($0,9 < Rz = <1,1$)	IFI = 1/80
Seropositivo baixo com leves sinais clínicos	($1,1 < Rz = <1,5$)	$1/80 < IFI < 1/160$
Positivo	($1,5 < Rz = <2$)	$1/160 < IFI < 1/320$
Positivo alto	($2 < Rz = <3$)	$1/320 < IFI < 1/640$
Positivo muito alto	($3 < Rz = <4$)	$1/640 < IFI < 1/1280$
Positivo muito alto	(Rz >4)	$>1/1280$

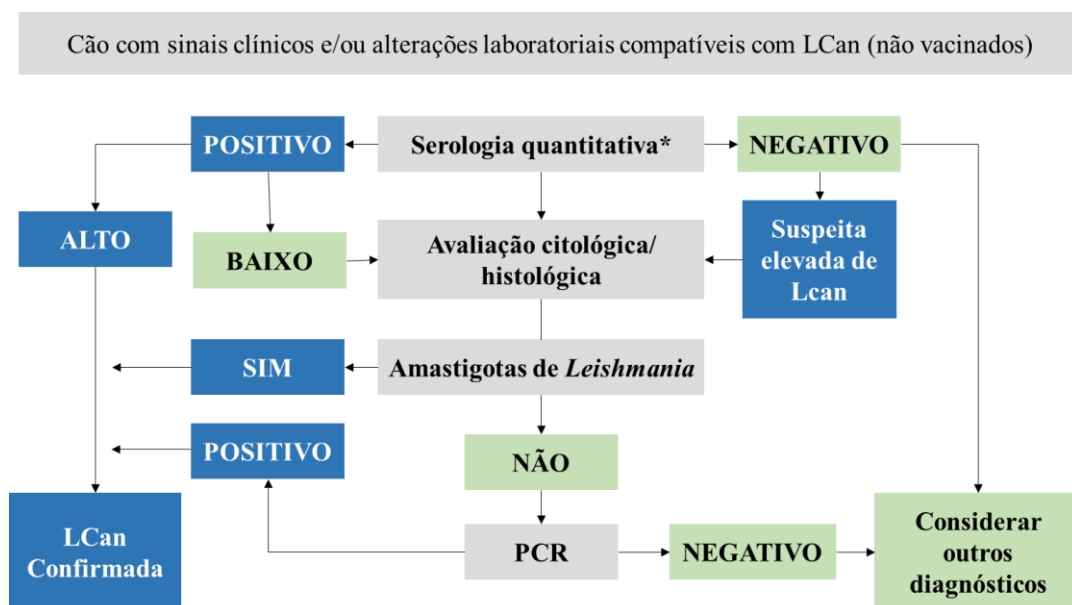
Legenda: Rz – Razão; IFI – Imunofluorescência.

Pacientes com LCan clínica ativa apresentam geralmente títulos elevados de anticorpos, enquanto os títulos baixos predominam em pacientes controlados clinicamente ou expostos sem confirmação parasitária. A serologia quantitativa é recomendada em cães clinicamente suspeitos, uma vez que títulos positivos (razão superior a 1.5) de anticorpos podem confirmar o diagnóstico clínico. Cães em tratamento médico devem repetir monitorização serológica a cada 6 meses (Paltrinieri *et al.*, 2016). Os cães infetados sem ou com sinais clínicos localizados leves, em que a presença de *Leishmania* foi confirmada através de métodos diretos que apresentam anticorpos anti-*Leishmania* negativos ou de baixo título, geralmente não

revelam sinais clínicos ao exame físico nem alterações nos parâmetros hematológicos, bioquímicos e urianálise (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Paltrinieri *et al.*, 2010).

A presença de DNA de *Leishmania* no sangue ou noutros tecidos de cães clinicamente saudáveis que vivem em áreas endêmicas indica que esses cães estão infetados, mas eles podem nunca desenvolver a doença clínica (Oliva *et al.*, 2006). Em contraste, um título de anticorpos positivo elevado pode indicar que um cão infetado está a direccionar-se ao desenvolvimento de uma infeção disseminada e ao futuro desenvolvimento de doença clínica (Reis *et al.*, 2006). Portanto, é recomendado o uso de serologia sozinha ou da combinação de serologia com PCR para triagem de cães saudáveis. É, também, recomendado evitar a triagem de cães clinicamente saudáveis apenas por PCR (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

A abordagem diagnóstica para cães que vivam numa área não endémica e que tenham viajado para uma área endémica, sejam doentes ou saudáveis, deve incluir serologia quantitativa 3 meses após o início da exposição na área endémica (LeishVet, 2022). Para cães doentes que vivem numa área endémica, a abordagem a adotar está representada na Figura 3.



* A citologia pode ser realizada ao mesmo tempo em qualquer tecido lesional ou fluido biológico.

Figura 3. Fluxograma da abordagem diagnóstica a cães não vacinados contra a LCan com sinais clínicos e/ou alterações laboratoriais compatíveis com a doença (Adaptado de LeishVet, 2022).

A técnica de PCR mais sensível é em tempo real, sendo que as amostras derivam da medula óssea, linfonodo, baço, pele e zaragatoas conjuntivais. As outras duas técnicas de PCR, “nested” e convencional, apresentam menor sensibilidade e as amostras utilizadas são o sangue, “buffy coat” e urina (Solano-Gallego *et al.*, 2007). A PCR em tempo real permite a quantificação da carga parasitária de *Leishmania* nos tecidos de cães infetados, o que é útil para

o diagnóstico e acompanhamento durante o tratamento. É importante ressaltar que as informações fornecidas pela PCR, não devem ser separadas dos dados obtidos a partir de avaliações clínicas e serológicas (Manna *et al.*, 2008).

A biópsia renal é a técnica indicada para um diagnóstico definitivo. Foram descritos diferentes métodos de obtenção de biópsias renais, incluindo biópsia cirúrgica e técnicas percutâneas, por exemplo, laparoscopia. A principal indicação para uma biópsia renal seria para investigar a existência de uma componente imunomediada ativa, que poderia sugerir intervenção terapêutica imunossupressora (IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.* 2013b). Além disso, na presença de proteinúria, a biópsia renal pode estabelecer se há uma lesão renal não relacionada à LCan, porém, isso não significa que a biópsia renal deva ser realizada em todos os cães seropositivos e proteinúricos. Esta técnica é contraindicada em algumas situações, como em cães com doença renal estadio 3 ou 4 da IRIS (Roura *et al.*, 2021).

6.3 Estadiamento da LCan

Um estadiamento da LCan correto é relevante no momento do diagnóstico e durante o período de acompanhamento, para ajudar o clínico a decidir se o cão deve ou não ser tratado para LCan, se o cão precisa de tratamentos adicionais, dependendo dos sinais clínicos apresentados e, por último, qual é o prognóstico clínico (Roura *et al.*, 2021). Neste contexto, os estadios podem variar de acordo com o sistema de classificação utilizado, com base em critérios como a presença de sinais clínicos, resultados de exames clínicos, achados laboratoriais e outras informações clínicas relevantes, sendo fundamental para determinar o tratamento mais apropriado e prever o prognóstico do animal. Como já foi referido, a LCan manifesta-se através de um amplo espectro de sinais clínicos e graus de gravidade, sendo que ainda não há acordo científico sobre a gestão desta doença (Baneth *et al.*, 2008).

Existem dois sistemas conhecidos de classificação clínica para a LCan com um bom nível de concordância entre eles que contribuem para o estabelecimento de um diagnóstico, prognóstico e tratamento mais precisos, agrupando os cães afetados de acordo com a gravidade da sua apresentação clínica, sendo estes o sistema LeishVet e o sistema do *Canine Leishmaniasis Working Group* (CLWG). É necessária uma avaliação clínica e laboratorial completa de cada cão no momento do diagnóstico, juntamente com respostas serológicas e detecção de parasitas, para caracterizar a gravidade da doença e atribuir um estadio clínico. Após o diagnóstico, o cão deve ser periodicamente reavaliado e reclassificado de acordo com a progressão ou regressão da doença (Paltrinieri *et al.*, 2010, 2016).

No sistema LeishVet, o estadiamento é classificado em quatro estádios de evolução, nomeadamente Estádio I, que corresponde a doença leve, Estádio II, correspondente a doença moderada e que se subdivide nos subestádios A e B, Estádio III que se traduz em doença grave e Estádio IV, que corresponde a doença muito grave. Este estadiamento é realizado após o diagnóstico da infeção por *L. infantum* em pacientes caninos com sinais clínicos e/ou anormalidades clinicopatológicas para facilitar o tratamento adequado e a monitorização do paciente (Solano-Gallego *et al.*, 2017) (Tabela 4). Cães infetados, mas clinicamente saudáveis, não são incluídos neste estadiamento (LeishVet, 2022).

Tabela 4. Estadiamento clínico da LCan proposto pela LeishVet (Adaptado de LeishVet, 2022).

Estádio Clínico	Estádio I - Doença Ligeira	Estádio II - Doença Moderada	Estádio III - Doença grave	Estádio IV - Doença muito grave
Serologia	Níveis de anticorpos negativos a positivos baixos	Níveis de anticorpos positivos baixos a altos	Níveis de anticorpos positivos médios a altos	Níveis de anticorpos positivos médios a altos
Sinais Clínicos	Cães com sinais clínicos ligeiros, como linfadenomegalia isolada ou dermatite papular	Cães que, além dos sinais indicados no Estádio I, podem apresentar outros sinais clínicos como: lesões cutâneas difusas ou simétricas, como dermatite esfoliativa/ onicogribose, ulcerações (plano nasal, almofadas plantares, proeminências ósseas e junções mucocutâneas), linfadenomegalia generalizada, anorexia e perda de peso	Cães que, além dos sinais indicados nos Estádios I e II, podem apresentar sinais com origem em lesões por imunocomplexos (por exemplo, uveíte e glomerulonefrite)	Cães com os sinais clínicos indicados no Estádio III. Tromboembolismo pulmonar ou síndrome nefrótica e doença renal em estadio final
Resultados Laboratoriais	Geralmente, não se observam alterações laboratoriais. Geralmente, não se observam alterações laboratoriais. Perfil renal normal: creatinina < 1,4 mg/dl; não proteinúrico: UPC < 0,2	Alterações laboratoriais, como anemia não regenerativa ligeira, hipergamaglobulinemia, hipoalbuminemia e síndrome de hiperviscosidade sérica. Subestádios: a) Perfil renal normal: creatinina < 1,4 mg/dl; não proteinúrico: UPC < 0,5 b) Creatinina <1,4 mg/dl; UPC = 0,5-1	Alterações laboratoriais indicadas no Estádio II Doença renal crónica (DRC) no estadio I da IRIS com UPC = 1-5 ou estadio II (creatinina 1,4-2 mg/dl)***	Alterações laboratoriais indicadas no Estádio III: DRC no estadio III da IRIS (creatinina 2,1-5 mg/dl) e estadio IV (creatinina > 5 mg/dl)*** ou síndrome nefrótica: proteinúria acentuada com UPC > 5
Terapêutica	Monitorizar a progressão da doença**	Alopurinol + antimoníato de meglumina ou miltefosina	Alopurinol + antimoníato de meglumina ou miltefosina. Seguir as orientações da IRIS relativas à DRC****	Tratamento específico deve ser instaurado individualmente
Prognóstico	Bom	Bom a reservado	Reservado a mau	Mau

*Hemograma completo, perfil bioquímico e urianálise. **A infeção deve ser confirmada por meio de outras técnicas de diagnóstico, como citologia, histologia/imuno-histoquímica e PCR, em cães com níveis de anticorpos negativos a moderadamente positivos. Níveis elevados de anticorpos, 3-4 vezes superiores ao limite de referência estabelecido pelo laboratório, são conclusivos para a LCan. ***Cães no estadio I (doença leve) provavelmente necessitarão de um tratamento breve com um ou dois medicamentos anti-

Leishmania convencionais (antimoniato de meglumina, miltefosina, alopurinol). Tratamentos adjuntos imunopotencializadores ou isolados podem ser considerados (domperidona, nucleotídeos mais AHCC - composto correlacionado a hexose ativa). Alternativamente, pode-se considerar o monitoramento sem tratamento. Há evidências limitadas sobre os resultados do tratamento para cães neste estágio e, portanto, a eficácia dessas opções de tratamento permanece inconclusiva.

O sistema CLWG classifica os cães como expostos, infetados e doentes, sendo estes últimos classificados de acordo com a gravidade (Paltrinieri *et al.*, 2010; Roura *et al.*, 2013). Os cães expostos (A) são clinicamente normais, não precisam de tratamento e têm um prognóstico favorável. Os cães infetados (B) são saudáveis ou têm sinais clínicos ou alterações clinicopatológicas associadas a outras causas, mas são positivos na PCR, na citologia ou em ambos, só precisam de tratamento para os sinais clínicos associados a outras doenças, e o prognóstico para a LCan é favorável. Os cães doentes infetados (C) apresentam sinais clínicos ou alterações clinicopatológicas associadas à LCan; precisam de tratamento para a LCan, e o prognóstico é favorável a reservado. Os cães gravemente doentes (D) apresentam condições clínicas graves, como proteinúria grave associada a nefropatia ou DRC (por exemplo, estádios III e IV da IRIS) e podem necessitar de medicamentos imunossupressores, além do tratamento para a LCan, e o seu prognóstico é reservado a desfavorável (Paltrinieri *et al.*, 2010; Roura *et al.*, 2013, 2021). Porém, não há consenso sobre a importância exata de cada forma clínica no ciclo de transmissão do parasita. É prudente considerar que tanto cães sintomáticos quanto assintomáticos podem ser infecciosos para os vetores de flebótomos e, portanto, devem ser igualmente considerados ao propor medidas de controle (Ribeiro *et al.*, 2018). Uma outra classificação da LCan baseada na gravidade das alterações das proteínas de fase aguda e que faz correspondência com os sistemas LeishVet e CLWG foi recentemente publicada (Ceron *et al.*, 2018).

O sistema Leishvet possui quatro estádios clínicos e dois subestádios com definições detalhadas da concentração sérica de creatinina e proteinúria de acordo com a classificação da IRIS, e a sua correlação entre o título de anticorpos e sinais clínicos ou alterações clinicopatológicas para cada estágio torna difícil a classificação de um número maior de cães do que com o sistema CLWG. Por outro lado, o sistema CLWG não faz distinção entre os diferentes níveis de proteinúria e concentração de creatinina sérica no estadiamento, mas identifica um valor de *cut-off* apenas para esses parâmetros, de forma a formular um prognóstico. O CLWG é menos detalhado e esquemático do que o sistema Leishvet, tornando mais fácil a alocação dos casos em diferentes estádios. Porém, ambos os sistemas de estadiamento de LCan são simples e úteis para classificar cães com LCan, havendo um bom entendimento entre os dois (Proverbio *et al.*, 2016).

6.4 Estadiamento e sub-estadiamento - Doença Renal Crônica

A LCan está associada a uma elevada prevalência de DRC em animais doentes, o que torna fundamental a avaliação da função renal e estadiamento da mesma. O sistema de estadiamento proposto pela LeishVet utiliza as recomendações da IRIS quanto à DRC (IRIS, 2023a). Esta baseia-se na medição da concentração de creatinina sanguínea em jejum ou da concentração de SDMA em jejum ou, preferencialmente, em ambos, avaliados em pelo menos duas ocasiões num paciente hidratado e estável.

De seguida, o cão é subestadiado com base na proteinúria e na pressão arterial sistólica (PAS) (Tabela 5). Com base nesses critérios, algumas recomendações empíricas podem ser feitas sobre o tipo de tratamento mais adequado a ser utilizado nesses casos (IRIS, 2023a; Paltrinieri *et al.*, 2016).

Tabela 5. Estadiamento da DRC canina com base nas concentrações de creatinina sanguínea e SDMA sérica e subestadiamento com base na proteinúria e PAS (adaptado de IRIS, 2023a).

	Estadio 1 Sem azotémia	Estadio 2 Azotemia leve (creatinina normal ou levemente aumentada)	Estadio 3 Azotemia moderada	Estadio 4 Azotemia severa
Creatinina (mg/dL/μmol/L)	< 1.4 (<125)	1.4 - 2.8 (125 - 250)	2.9 - 5.0 (251 - 440)	> 5.0 (>440)
SDMA (μg/dL)	< 18	18 - 35	36 - 54	> 54
UPC Subestadio baseado na proteinúria	Não proteinúrico < 0.2 Proteinúrico borderline 0.2 - 0.5 Proteinúrico > 0.5			
Pressão arterial sistólica (mmHg) Subestadio baseado na pressão arterial	Normotenso < 140 Prehipertenso 140 - 159 Hipertenso 160 - 179 Hipertenso severo $\geq$ 180			

7. Tratamento

Os objetivos do tratamento anti-*Leishmania* em cães são promover a cura clínica, o que aumenta a longevidade e melhora a qualidade de vida, para além de reduzir a carga parasitária e infecciosidade para o vetor. Embora a LCan seja considerada uma doença crônica, a maioria dos cães responde bem aos tratamentos recomendados e não necessita de medicamentos leishmanicidas e/ou leishmanostáticos ao longo da vida (Oliva *et al.*, 2010; Roura *et al.*, 2013; Solano-Gallego *et al.*, 2011), apesar dos cães tratados poderem continuar a ser portadores do parasita e ser infecciosos para os flebótomos, mas em menor grau do que antes do tratamento, e as recidivas serem frequentes (Ribeiro *et al.*, 2018).

O tratamento mais frequentemente escolhido para a LCan é o antimonioato de meglumina (antimonial pentavalente) administrado na dose de 100 mg/kg via subcutânea (SC)

uma vez por dia (SID) durante 1 mês, juntamente com o alopurinol (medicamento leishmanioestático), administrado na dose de 10 mg/kg via oral (PO) a cada 12 horas (BID), por um período mínimo de 6 meses (Roura *et al.*, 2021). Os medicamentos mais usados para o tratamento da LCan incluindo dosagem, combinações e efeitos colaterais, estão listados na Tabela 6 (Leishvet, 2022).

Tabela 6. Protocolos atuais de tratamento de LCan (Adaptado de (LeishVet, 2022).

Princípio ativo	Dosagem	Principais efeitos secundários
Antimoniato de meglumina ^a	100 mg/kg SC SID ou dividido em duas doses, durante 4-6 semanas (doses iniciais reduzidas durante 2-3 dias podem ser úteis para detetar quaisquer efeitos adversos) ^b	Potencial nefrotoxicidade Dor e inflamação no local da injeção*
Miltefosina ^a	2 mg/kg PO SID, durante 28 dias	Hiporexia Vômitos Diarreia**
Alopurinol	10 mg/kg PO BID durante, pelo menos, 6-12 meses (dependendo do estadio e tolerância)	Urolitíase por xantina Mineralização renal Nefrolitíase
Domperidona ^c	0,5 mg/kg PO, SID, durante 1 mês	Galactorreia
Nucleótidos dietéticos com AHCC ^c	Seguir instruções do fabricante, PO, 6-12 meses	

Legenda: AHCC –Active Hexose Correlated Compound. ^aAmbos os fármacos são recomendados em combinação com o alopurinol. ^bHá um número limitado de estudos sobre o regime de tratamento ideal. Dosagens recomendadas fora do rótulo, mas de acordo com estudos farmacocinéticos e clínicos em cães. O tratamento pode ser estendido por 2-3 semanas em pacientes nos estadios II e III (sem DRC) e com quadro clínico grave ou anormalidades laboratoriais. ^cConsiderado como monoterapia apenas para o Estadio I. *As injeções devem ser administradas em locais diferentes da pele. **Para reduzir os efeitos adversos, administrar sempre com alimento. ***Monitorizar os efeitos secundários com urianálise e ecografia abdominal é recomendado periodicamente.

A duração do tratamento depende da gravidade da doença, da tolerância individual aos medicamentos e da resposta clínica ao tratamento. Esta resposta pode variar dependendo do estado clinicopatológico inicial do animal e da resposta específica à terapia (Ribeiro *et al.*, 2018). É esperado que cães com DRC apresentem uma taxa de recuperação inferior em comparação com aqueles que não têm dano renal ou têm apenas proteinúria leve (Solano-Gallego *et al.*, 2011), sendo que a maioria demonstra melhoria clínica após o primeiro mês de tratamento (Solano-Galego *et al.*, 2009). A ocorrência de efeitos colaterais ou resistência associada ao uso destes medicamentos sugere que o tratamento deve ser suspenso quando o cão alcança o estado de infetado, mas clinicamente saudável (Roura *et al.*, 2021). Porém, alguns cães podem ter recidivas mesmo após receberem tratamento adequado quando é interrompido o uso do alopurinol ou mesmo durante o tratamento com alopurinol. Na primeira situação, é necessário reiniciar um tratamento completo; na segunda, o cão precisará novamente de

tratamento com um medicamento leishmanicida, como o antimoniato de meglumina ou a miltefosina. Além disso, existem alguns cães que, mesmo quando mantidos em tratamento com alopurinol, precisam de tratamento leishmanicida a cada 4 a 12 meses para permanecerem clinicamente estáveis (Oliva *et al.* 2010; Roura *et al.*, 2013, 2021; Solano-Gallego *et al.*, 2011).

As terapias imunomoduladoras, como a domperidona, carecem ainda de mais estudos que comprovem a sua eficácia. A sua utilização é maioritariamente em cães seronegativos, com o objetivo de reduzir o risco de desenvolvimento de infecção ativa, mas também pode ser aplicada em casos de doença ligeira, para melhorar a resposta mediada por células (Baxarias *et al.*, 2019). O mesmo se aplica aos nucleótidos com origem na dieta e os compostos correlacionados com hexose ativa (AHCC) que podem ser uma boa alternativa ao alopurinol, quando os animais sofrem dos efeitos adversos deste (Segarra *et al.*, 2017).

7.1 Complicações renais associadas ao tratamento

Em casos de tratamento prolongado com alopurinol, podem ocorrer vários efeitos colaterais, como xantinúria, mineralização renal e formação de cálculos urinários. O antimoniato de meglumina pode ser potencialmente nefrotóxico, enquanto a miltefosina pode causar desconforto gastrointestinal (Ribeiro *et al.*, 2018).

Habitualmente, o alopurinol era considerado seguro para uso em cães, com terapia de longo prazo e até mesmo para o longo da vida frequentemente necessária (Manna *et al.*, 2015). No entanto, tanto a resistência ao alopurinol quanto a urolitíase de xantina podem ocorrer com o uso prolongado deste fármaco (Maia *et al.*, 2013). Os efeitos adversos urinários do alopurinol podem ser detetados em questão de semanas após o tratamento ou até mesmo após 9 anos, sugerindo problemas tanto com o uso a curto quanto a longo prazo (Torres *et al.*, 2011, 2016).

Dado que a mineralização renal e os urólitos de xantina geralmente são irreversíveis, podendo afetar seriamente a função renal e sendo que esse tipo de urólito não pode ser dissolvido medicamente, uma monitorização mais próxima, incluindo urianálise (no início do tratamento e em avaliação no acompanhamento) e ecografia abdominal, é necessária se for detetada xantinúria (Roura *et al.*, 2021). Na presença de tais problemas urinários, a dose de alopurinol deve ser reduzida para 10 mg/kg SID ou menos, o consumo de água deve ser aumentado e deve ser fornecida uma dieta com baixo teor de purina, para manter a concentração de xantina na urina abaixo do seu ponto de saturação (Manna *et al.*, 2015) ou substituir o alopurinol por nucleotídeos (Segarra *et al.*, 2017).

Estudos recentes indicam que o tratamento com antimoniato de meglumina para a LCan não teve impacto na função renal (Daza González *et al.*, 2019; Kasabalis *et al.*, 2019). O aumento da azotemia ou proteinúria em alguns cães tratados com antimoniato de meglumina é mais provavelmente devido ao mecanismo patológico específico dos rins, a formação e deposição de complexos imunes, do que à nefrotoxicidade do medicamento (Koutinas & Koutinas, 2014). O uso rotineiro de outros protocolos ou medicamentos para tratar a LCan em cães com doença renal não é mais recomendado (Pineda *et al.*, 2017). Complexos imunes circulantes foram detetados no sangue de cães infetados (Cacheiro-Llaguno *et al.*, 2020; Gizzarelli *et al.*, 2020). Num caso clínico, recorreu-se com sucesso à hemodiálise como complemento ao tratamento da doença (Baneth *et al.*, 2018).

Um estudo realizado por Jesus *et al.* (2022) verificou que quando a xantínúria é detetada, 43,2% dos MVs interrompem o uso do alopurinol, 24% substituem por análogos de nucleotídeos, 14,9% reduzem a dosagem e 3,1% dividem a dosagem, mas aumentam a frequência de administração. A prescrição de uma dieta baixa em purinas foi também adotada por 59,4% dos entrevistados do estudo. É recomendado que cães com LCan e qualquer alteração renal sejam tratados para a LCan com o mesmo protocolo que cães sem envolvimento renal, juntamente com o tratamento renal sintomático e específico necessário para cada estadio conforme a classificação da IRIS (IRIS, 2023b; IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.*, 2013b).

7.2 Tratamento da doença renal crónica

Todos os cães diagnosticados com DRC devem ser estadiados e tratados de forma adequada segundo as recomendações IRIS, assim como todos os cães com LCan concomitante (IRIS, 2023b). É importante que o tratamento seja adaptado e individualizado e a relação risco/benefício de cada tratamento seja cuidadosamente avaliada (Baneth *et al.*, 2018).

No entanto, quando a doença renal induzida pela LCan é identificada, independentemente da concentração de creatinina, o tratamento específico para a LCan deve ser logo iniciado, seja isoladamente ou em conjunto com o tratamento padrão recomendado pela IRIS. Os animais devem ser acompanhados para analisar a eficácia do tratamento (Tabela 7) (Daza González *et al.*, 2019; IRIS 2019; IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.*, 2013b).

Tabela 7. Recomendações de tratamento sugeridas pela IRIS para cada estadio clínico de DRC em cães (adaptado de IRIS, 2023b).

Estadio 1	Estadio 2	Estadio 3	Estadio 4
Descontinuar toda a medicação nefrotóxica se possível	Igual ao estadio 1	Igual ao estadio 2	Igual ao estadio 3
Corrigir qualquer alteração pré-renal e pós-renal	Dieta renal terapêutica	Manter fósforo <5.0 mg/dL (<1.6 mmol/L)	Manter fósforo <6.0 mg/dL (<1.9 mmol/L)
Água fresca disponível permanentemente	Tratar inapetência e náusea se presente	Tratar acidose metabólica	Considerar sonda de alimentação para suporte nutricional e hidratação e facilitar a administração de medicamentos
Monitorizar as tendências de creatinina e SDMA para documentar estabilidade ou progressão		Considerar tratamento de anemia	
Investigar e tratar doenças subjacentes e/ou complicações		Tratar vômito, inapetência e náusea	
Tratar a hipertensão se a pressão arterial sistólica persistir >160 ou existir evidência de dano em órgãos-alvo		Aumentar fluídos enterais ou subcutâneos pode ser necessário para manter a hidratação	
Tratar proteinúria persistente com dieta renal terapêutica e medicação (UPC > 0.5)			
Manter fósforo <4.6 mg/dL (<1.5 mmol/L)			
Se necessário, usar dieta terapêutica renal com ligantes de fosfato			
Corrigir desidratação clínica se necessário com soluções isotônicas (p.e, lactato de ringer) IV ou SC			

Por si só, o tratamento leishmanicida pode melhorar a gravidade da doença renal. Além disso, a terapia padrão para doenças renais (IRIS, 2023a) também pode ajudar a preservar a função renal e prolongar a sobrevivência (Cortadellas *et al.*, 2014).

7.3 Tratamento das alterações associadas à LCan e doença renal

7.3.1 Tratamento da proteinúria

A proteinúria associada à LCan requer diferentes abordagens terapêuticas, dependendo da condição clínica do cão e do estadio da doença. O tratamento recomendado para a proteinúria

tem mostrado forte concordância entre as várias diretrizes publicadas, que incluem não apenas aquelas especificamente focadas na proteinúria, mas também aquelas que abordam doenças glomerulares (IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.* 2013a, 2013b) e DRC (IRIS, 2022a). Todas estas priorizam a inibição do sistema renina-angiotensina-aldosterona como a abordagem principal. As diretrizes mais recentes recomendam que se a proteinúria não for controlada após 4 semanas de tratamento leishmanicida/leishmaniostático, uma dieta terapêutica renal com baixo teor de fósforo deve ser adicionada ao alopurinol, combinada ou não com um IECA (inibidor da enzima conversora de angiotensina). Se a proteinúria permanecer descontrolada após 4 semanas deste tratamento, a dose deve ser aumentada (máximo de 2mg/kg oralmente SID) (Roura *et al.*, 2021). Se durante o acompanhamento e independentemente da concentração de creatinina sérica o cão ainda apresentar proteinúria (UPC > 0.5), a terapia para proteinúria deve ser instituída (IRIS, 2022^a; Proverbio *et al.*, 2016).

7.3.2 Tratamento da hipertensão

Pacientes com LCan e PAS > 160 mmHg necessitam de tratamento anti-hipertensivo para reduzir a pressão arterial abaixo desse valor de referência, dado o risco de danos adicionais aos rins que podem levar à progressão da doença renal (Roura *et al.*, 2021). Porém, nem todos os cães com LCan e doença renal necessitam de IECAs, dado que alguns animais podem ter doença renal não proteinúrica ou estar desidratados, enquanto o tratamento com leishmanicidas pode levar a uma redução no UPC < 0,5. Nesses casos, o IECA ainda pode ser introduzido se houver um aumento subsequente no UPC ou se a hipertensão sistêmica for detetada em exames complementares (IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.*, 2013a, 2013b; Proverbio *et al.*, 2016). Os IECAs como o enalapril e o benazepril são a primeira escolha no tratamento da hipertensão sistêmica devido a doença glomerular em cães, e ambos devem ser usados na dose 0,5 mg/kg PO BID (IRIS, 2022).

Contudo, se a hipertensão não for controlada, a dose deve ser aumentada para o dobro. Se persistir, pode ser necessário adicionar um bloqueador de canal de cálcio, como a amlodipina, ou um bloqueador do recetor de angiotensina, como o telmisartan (Acierno *et al.*, 2018; IRIS, 2022b). Os cães que apresentam evidências de danos em órgãos-alvo (olhos, sistema nervoso central ou coração) também devem ser tratados, mesmo que a hipertensão persistente não possa ser demonstrada (Roura *et al.*, 2021). Monteiro *et al.* (2022) relatou que os IECAs foram prescritos por 100%, 85,2% e 78,9% dos MVs entrevistados no estudo como medicamentos de primeira escolha para a LCan nos estádios IIb, III e IV, respetivamente, sendo o IECA utilizado em monoterapia por 64,3%, 40,7% e 46,1% dos entrevistados.

8. Monitorização

O termo "monitorização" refere-se à avaliação contínua de pacientes ao longo de uma doença, sendo que no contexto da LCan, envolve a avaliação da resposta ao tratamento em animais acometidos (Roura *et al.*, 2013). Alguns cães apresentam uma redução significativa na titulação de anticorpos associada a uma melhoria clínica nos primeiros 6 meses a 1 ano de tratamento. Por outro lado, outros animais podem permanecer com os títulos de anticorpos aumentados, mas ainda assim apresentar melhorias clínicas. Um aumento acentuado nestes níveis deve ser interpretado como um indicador de recidiva, especialmente após a interrupção do tratamento (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Para monitorizar o animal após o tratamento, o uso de técnicas serológicas não é recomendado, dado que o título de anticorpos anti-*Leishmania* permanece detetável durante um longo período (Ayele & Seyoum, 2016). No entanto, estes são úteis para avaliar o prognóstico da doença, sendo que um título elevado está frequentemente associado a um prognóstico negativo e recaídas após o tratamento, enquanto um título baixo é característico de uma evolução positiva (Ibiapina *et al.*, 2022). As frequências de monitorização e parâmetros clinicopatológicos, incluindo serologia, a serem acompanhados durante e após o tratamento da LCan, estão resumidas na Tabela 8, tendo em conta as recomendações da Leishvet (2022).

Tabela 8. Monitorização recomendada durante e após o tratamento da LCan (adaptado de LeishVet, 2022).

Parâmetros	Frequência	
	Cães doentes tratados	Cães infetados clinicamente saudáveis
Anamnese e exame físico completo Testes laboratoriais de rotina Hemograma completo Perfil bioquímico Eletroforese sérica (opcional) Urianálise completa ± UPC em cães proteinúricos	Após o primeiro mês de tratamento e a cada 3-4 meses durante o primeiro ano. Mais tarde, a cada 6-12 meses em cães totalmente recuperados clinicamente com o tratamento.	A cada 3-6 meses
Serologia quantitativa*	Não antes de 6 meses após o tratamento inicial e a cada 6-12 meses.	
PCR em tempo real (opcional)	Opcionalmente, pode ser realizado ao mesmo tempo que a serologia. A utilidade completa deste ensaio para acompanhamento durante o tratamento é atualmente indeterminada.	

*Alguns cães apresentam uma diminuição significativa nos níveis de anticorpos (ou seja, nos resultados do teste de IFAT, há uma diferença de diluição de dois a três vezes entre as amostras de monitoramento), associada a uma

melhora clínica dentro de 6 a 12 meses de tratamento. Um aumento acentuado nos níveis de anticorpos (ou seja, pelo menos três diferenças de diluição de dois a dois entre as amostras de monitoramento) deve ser interpretado como um indicador de recidiva da doença, especialmente em cães após a interrupção do tratamento. **A sensibilidade diagnóstica dos ensaios de PCR depende consideravelmente do tipo e número de tecidos diferentes avaliados. Medula óssea, linfonodo, baço e lesões cutâneas são alvos mais eficazes para a detecção de *Leishmania* do que o sangue total. Recomenda-se a colheita de duas a três amostras de tecidos diferentes para um diagnóstico mais preciso.

Recomenda-se a utilização de serologia isoladamente ou a combinação de serologia e PCR para o rastreio de cães saudáveis, e evitar fazer o rastreio de cães clinicamente saudáveis (não vacinados) apenas com PCR. Os cães seropositivos (com títulos baixos de anticorpos) confirmados devem ser monitorizados com exame físico, análises laboratoriais de rotina e testes serológicos, regularmente, a cada 3 a 6 meses para avaliar a possível progressão da infecção subclínica para doença e não ser vacinados. Se forem seronegativos, mas PCR positivos, deverão ser monitorizados a cada 3 a 6 meses e avaliar a seroconversão e a possibilidade de desenvolvimento da doença. Em ambos os casos, o tratamento não é recomendado e a prevenção baseia-se na proteção com inseticidas repelentes tópicos para minimizar a transmissão de *L. infantum* (LeishVet, 2022).

9. Prognóstico

O prognóstico da doença não é o mesmo para todos os cães pois varia dependendo da situação clínica e patológica. Atualmente, o prognóstico na maioria dos casos é favorável, devido à melhoria nas técnicas de diagnóstico que possibilita realizar um diagnóstico precoce e ao uso de protocolos mais adequados para o tratamento da doença (Roura *et al.*, 2021). No entanto, a discussão com os tutores sobre o prognóstico de um cão com LCan pode ser difícil.

O prognóstico depende de fatores como o estadió clínico no momento do diagnóstico e em cada avaliação de acompanhamento, a gravidade das alterações clínico-patológicas presentes, a resposta ao tratamento e o número de recidivas (Roura *et al.*, 2013; Solano-Gallego *et al.*, 2011). O prognóstico depende também do tratamento anti-*Leishmania* utilizado, dado que as alterações clínicas e laboratoriais são mais estáveis e o prognóstico é melhor a longo prazo quando é utilizado o tratamento com antimonio de meglumina e alopurinol (Manna *et al.*, 2015). Em contrapartida, o prognóstico é bastante desfavorável em cães com sinais clínicos graves de LCan sem tratamento (Dos-Santos *et al.*, 2008).

10.1 Prognóstico em cães com LCan e doença renal

Os fatores que mais influenciam o tempo de sobrevivência e a progressão da doença são o diagnóstico precoce e uma abordagem terapêutica e esquema de monitorização adequado.

Habitualmente, o prognóstico de cães com LCan e doença renal era muito desfavorável, porque a doença renal avançada era a principal causa de morte ou eutanásia dos animais acometidos. Porém, devido aos mais recentes avanços, o diagnóstico é frequentemente feito mais cedo, as opções de tratamento são melhores e o prognóstico é mais favorável. Atualmente, muitos cães com LCan e doença renal concomitante têm qualidade e expectativa de vida normais (Paltrinieri *et al.*, 2018).

Cães que se encontrem nos estádios 1, 2 ou no início do estágio 3 de DRC conforme a IRIS, bem como aqueles com proteinúria grave ou progressiva, o prognóstico após o tratamento é geralmente favorável a reservado (Roura *et al.*, 2021). No entanto, cães com DRC avançada em estágio 3 ou estágio 4 ou aqueles com proteinúria grave ou progressiva, o prognóstico após o tratamento é reservado a desfavorável (Planellas *et al.*, 2009). Ao avaliar o prognóstico de cães com LCan e doença renal associada, o valor prognóstico da proteinúria deve ser considerado após a implementação do tratamento com leishmanicidas (IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.* 2013b; Proverbio *et al.*, 2016).

10. Controlo e profilaxia

Considerando que a via de transmissão mais importante da LCan ocorre através da picada de flebótomos, as medidas de controlo da infeção devem focar-se principalmente na prevenção do contacto com o vetor, de forma a reduzir o risco de infeção de cães não infetados e para prevenir a transmissão a partir de cães infetados (Dantas-Torres *et al.*, 2019; Miró *et al.*, 2017). Esta, pode passar pelo uso de barreiras físicas como redes mosquiteiras em janelas, barreiras químicas, nomeadamente repelentes, ou manejo, evitando a presença dos animais no exterior ao anoitecer e eliminar lixo orgânico domiciliar na zona perto da habitação (Ribeiro *et al.*, 2018). Os produtos repelentes contra flebótomos disponíveis no mercado contêm piretroides sintéticos, como a permetrina, deltametrina ou flumetrina, e existem em formulações de aplicação local (*spot-on*) ou coleiras. Nas formulações *spot-on*, o efeito de proteção pode variar de duas a quatro semanas (Ribeiro *et al.*, 2018).

Quanto às coleiras, um estudo demonstrou que a Seresto® preveniu 88,3% das infeções incidentais em cães, em comparação com 61,8% pela coleira Scalibor® (Brianti *et al.*, 2016). Contudo, a Seresto® proporcionou 8 meses de proteção contra flebótomos, enquanto a Scalibor® recomenda a utilização até 12 meses em vários países da Europa, dado ter sido demonstrada uma eficácia sustentada contra picadas de *Phlebotomus perniciosus* de aproximadamente 94% nesse período (Paulin *et al.*, 2018). Prevendo uma grande possibilidade

de falha dessas medidas, os cães necessitam ainda de conseguir responder à infeção causada pelas picadas de flebótomos infetados, preferencialmente através de uma resposta imune adaptativa desenvolvida anteriormente por meio da vacinação.

A vacina LetiFend®, única atualmente disponível em Portugal e formulada com base numa proteína recombinante (proteína Q) sem coadjuvante (Moreno, 2019), num estudo realizado por Fernández Cotrina *et al.* (2018) demonstrou uma redução da incidência de sinais clínicos relacionados à LCan, assim como do número de casos confirmados da doença, revelando uma eficácia global na prevenção de casos confirmados de LCan em áreas endémicas de 72%. Noutro estudo realizado em Portugal por Almeida *et al.* (2022), analisou-se o estado de vacinação e a presença de sinais clínicos compatíveis com a LCan entre cães seropositivos, e verificou-se que o grupo de cães seropositivos não vacinados apresentou significativamente mais animais com sinais clínicos (26%) do que os cães seropositivos vacinados, com apenas 7% ($p=0,002$). A vacinação com LetiFend® não pareceu causar resultados falso-positivos nos testes serológicos de diagnóstico para *L. infantum*, o que permite discriminar entre animais vacinados e cães naturalmente infetados (Solano-Gallego *et al.*, 2017; Velez e Gállego, 2020). Para além disso, a revacinação de cães seropositivos revelou ser segura e não piorar o desenvolvimento da doença (Fernández Cotrina *et al.*, 2018). Todas as vacinas comercializadas contra a LCan recomendam a aplicação simultânea de inseticidas tópicos em animais vacinados, uma vez que os níveis de proteção conferidos apenas pela imunização não são considerados satisfatórios na prevenção da infeção por *L. infantum* (Velez & Gállego, 2020). Além disso, cães vacinados e infetados também representam potenciais fontes de transmissão do parasita a outros cães e humanos (Fernandes *et al.*, 2014; Coelho & Christodoulides, 2023).

Para alguns autores (Ribeiro *et al.*, 2018), a vacinação contra *Leishmania* associada a inseticidas tópicos é a forma mais eficaz de prevenção e controlo da LCan. Porém, outros autores defendem que as coleiras impregnadas com inseticidas, principalmente com deltametrina 4%, nomeadamente Seresto® (Alves *et al.*, 2020), devem ser a primeira medida de proteção para fins de saúde pública (Dantas-Torres *et al.*, 2020), e que a decisão de vacinar deve ser baseada na relação risco/benefício individual para o cão, levando em consideração a idade, raça, estilo de vida, área de residência, estado reprodutivo e *compliance* do tutor (Miró *et al.*, 2017).

11. Material e Métodos

Nesta dissertação são apresentados três casos clínicos de cães com diagnóstico de LCan e com diferentes alterações renais concomitantes, que foram observados pela autora durante o seu estágio curricular no HVS no primeiro trimestre de 2023.

Para a recolha dos dados, a autora acompanhou as consultas durante o estágio curricular, sendo que para a análise da restante informação pregressa foram consultadas as fichas clínicas dos animais em estudo através do programa WINTOUCH®. Foram, inclusivamente, recolhidas informações adicionais respetivas aos casos estudados após o término do estágio curricular. As análises apresentadas nestes casos clínicos foram processadas em laboratório externo, laboratório veterinário INNO, ou excecionalmente, realizadas no laboratório interno do hospital.

Estas informações foram gentilmente cedidas pelo Hospital acima referido, mantendo a confidencialidade da identidade dos clientes e restantes dados pessoais, conforme consentimento prestado pelos mesmos.

Não foram realizados procedimentos desnecessários aos pacientes com vista ao desenvolvimento e realização deste relatório, tendo sido feita apenas a recolha dos dados, não tendo sido, por isso, afetado o normal funcionamento do Hospital.

12. Casos clínicos

12.1. Caso clínico 1 - Pablito Aimar

12.1.1 Identificação do paciente e anamnese

Pablito Aimar, canídeo, macho em estado reprodutivo fértil (inteiro) com 2 anos, sem raça definida (SRD), porte pequeno, peso corporal de 4,9 Kg à data da consulta a 26/12/2022. Foi adotado ainda em cachorro, único animal em casa, *indoor* com acesso ao exterior controlado várias vezes por dia e plano vacinal e desparasitação interna e externa em dia, incluindo utilização de coleira com efeito contra flebótomos (Scalibor®). Compareceu em consulta de seguimento previamente agendada para realização de exames complementares, com o intuito de monitorizar o estado clínico e, eventualmente, adequar o plano terapêutico para a LCan, sendo que a alimentação era à base de ração seca veterinária terapêutica.

12.1.2 História Clínica

Quando nasceu em julho de 2020, o Pablito começou a ser seguido noutro CAMV, onde realizou as primeiras desparasitações e primovacinação. A partir dos 3 meses de idade, começou com queixas de episódios de diarreia frequentes, com pontual hematoquezia, perda de peso e linfadenomegalia dos poplíteos e pré-escapulares, com melhorias quando fazia antibioterapia. Mais tarde, a partir dos 8 meses de idade, passou a ser seguido no HVS e o quadro clínico ainda permanecia inalterado.

12.1.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico

Quando compareceu em consulta pela primeira vez no HVS, vinha também com queixas de vómitos. Dado que as análises coprológicas realizadas deram negativo, foi colocada a hipótese de alergia ou intolerância alimentar, tendo começado terapia com ração veterinária seca analérgica da Royal Canin® durante 8 semanas, apesar de não ser a mais aconselhada na fase de crescimento. Foi também receitado omeprazol na dose 0,5 mg/kg PO SID durante 12 dias, sucralfato na dose 100mg/kg PO BID durante 7 dias, metronidazol na dose 25 mg/kg PO BID durante 1 mês e maropitant na dose 2 mg/kg PO SID durante 2 dias.

Em julho de 2021, realizou uma ecografia abdominal em que não foram detetadas quaisquer alterações, à exceção de reatividade generalizada dos linfonodos. Visto ter continuado com os episódios de diarreia e com os linfonodos poplíteos e pré-escapulares aumentados depois de ter parado a antibioterapia, apesar de continuar com a ração terapêutica, foi realizado um teste Leiscan® em laboratório externo, cujo resultado foi positivo alto para

LCan (Rz= 2.62) tendo em conta o intervalo de referência (IR) [Positivo alto (IR: 2<Rz=<3)] (Tabela 9). No dia dessa consulta, o Pablito apresentava também conjuntivite bilateral, tendo sido receitado cloranfenicol em colírio para administração tópica, e lesões dérmicas focais nas orelhas, que foram tratadas com iodopovidona. Foram realizadas algumas análises no HVS, onde se detetou uma hiperproteinemia com a contagem de proteínas totais superior a 11 g/dL [IR: 5.5 - 7.2] (Tabela 10) e uma contagem de hemoglobina a 7.54 g/dL [IR: 12.0 – 18.0] e hematócrito a 27.9% [IR: 37.0 – 55.0], tendo sido planeada a repetição das análises dentro de 8 a 10 dias.

Tabela 9. Resultados das análises Leiscan® realizadas ao Pablito Aimar (INNO, 2021; 2022; 2023).

Data	julho/ 2021	dezembro/ 2021	abril/ 2022	julho/ 2022	outubro/ 2022	dezembro/ 2022	fevereiro/ 2023
Resultado	Positivo alto (Rz=2.62)	Positivo alto (Rz=2.44)	Positivo (Rz=2.00)	Positivo alto (Rz=2.01)	Positivo (Rz=1.62)	Positivo alto (Rz=2.72)	Positivo alto (Rz=2.81)

Legenda: Rz – Razão da amostra.

12.1.4 Diagnóstico definitivo

Tendo em conta os resultados das análises e as orientações do grupo Leishvet, o Pablito encontrava-se no estadio II e subestadio A de LCan, em julho de 2021.

12.1.5 Tratamento

Quando o diagnóstico foi realizado, o primeiro plano de terapêutico consistiu na administração de alopurinol na dose 10 mg/kg PO BID e miltefosina na dose 2 mg/kg PO SID durante 28 dias. Foi aplicado um desparasitante externo com ação contra flebótomos, em formato pipeta de duração mensal e um desparasitante interno em formato comprimido à base de praziquantel, embonato de pirantel e febantel.

12.1.6 Evolução

Ainda em julho, alguns parâmetros do hemograma foram repetidos, onde se detetou que as alterações verificadas anteriormente se mantinham, com a hemoglobina diminuída a 8.67 g/dL [IR: 12.0 – 18.0] e o hematócrito a 25.7 % [IR: 37.0 – 55.0]. Os eritrócitos totais também estavam diminuídos, a $4.07 \times 10^6/\mu\text{L}$ [IR: 5.50 – 8.50] e verificou-se trombocitopenia, de $148 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 200 – 500]. Dado verificar-se de uma anemia moderada, foi então prescrito um suplemento alimentar rico em vitaminas e minerais, que auxilia a formação de células sanguíneas e recomendado comer fígado, três vezes por semana.

Em agosto de 2021, 1 mês depois, foi realizado uma análise à creatinina, cujo valor se encontrava ligeiramente abaixo do IR, a 0.5 mg/dL [IR: 0.6 - 1.4] (Tabela 12) e um hemograma em que foi detetada linfocitose de $6.89 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 0.83 – 4.91] e uma ligeira trombocitopenia de $160 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 200-500] (Tabela 13). Entretanto já tinha suspenso a antibioterapia com metronidazol, o que provocou alterações pontuais nas fezes que rapidamente normalizaram. Os olhos apresentaram melhorias, mas ainda com ligeira inflamação local, tendo sido receitadas gotas de colírio anti-inflamatório à base de ceterolac trometamina durante 7 dias.

Em setembro, estive a tomar domperidona na dose 0,5 mg/kg PO SID durante 4 semanas consecutivas. Em outubro, regressou para administração da vacina anual.

Em dezembro de 2021, 4 meses mais tarde, foi realizado um hemograma, em que não se verificaram alterações dignas de registo (Tabela 13); análises bioquímicas, em que os parâmetros analisados se encontravam dentro dos IR (Tabela 12) e um proteinograma, que revelava uma hiperproteinemia, com a contagem de proteínas totais a 8.2 g/dL [IR: 5.5-7.2], uma hipergamaglobulinemia Gama, a 1.57 g/dL [IR: 0.26-1.17], e um rácio A/G diminuído, 0.85 [IR: 0.86-1.93] (Tabela 10). Foi também enviado sangue para realização de Leiscan® em laboratório externo, cujo resultado foi positivo alto (Rz=2.44) [Positivo alto (IR: $2 < \text{Rz} < 3$)] (Tabela 9).

Tabela 10. Resultados dos proteinogramas realizados ao Pablito Aimar ao longo do tempo (INNO, 2021; 2022).

Análise	Unidades	Intervalo de referência	Resultados				
			julho/2021	dezembro/2021	julho/2022	outubro/2022	dezembro/2022
Proteínas Totais	g/dL	5.5 - 7.2	>11	8.2	9.4	9.7	10
Albumina	%	2.44 - 4.96	3	45.8	31.6	31.4	23
	g/dL			3.73	2.98	3.05	2.3
Alfa 1	%	0.17 - 0.45	-	4.7	3.3	4.5	1.2
	g/dL			0.38	0.31	0.44	0.12
Alfa 2	%	0.38 - 1.02	-	9.3	9.5	8.5	3.4
	g/dL			0.76	0.9	0.83	0.34
Beta 1	%	0.16 - 0.78	-	8.7	6	8.7	9.3
	g/dL			0.71	0.57	0.85	0.93
Beta 2	%	0.37 - 1.62	-	12.2	14.2	10.8	22.1
	g/dL			0.99	1.34	1.05	2.21
Gama	%	0.26 - 1.17	-	19.3	35.4	36.1	41
	g/dL			1.57	3.34	3.51	4.11
Rácio Albumina/Globulina		0.86 - 1.93	-	0.85	0.46	0.46	0.3
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído					

Em janeiro de 2022, manteve-se a administração do alopurinol e adicionou-se a domperidona na dose 0,5 mg/kg PO SID durante 4 semanas consecutivas, com vista à repetição da serologia em 3 meses e colheita de urina para urianálise. Só finalmente em abril é que se procedeu ao envio de urina para urianálise em laboratório externo, tendo sido observada presença de proteinúria, hematúria e cristais esféricos esverdeados abundantes, compatíveis com cristais de urato de amónia ou xantina (Tabela 10). Devido aos resultados da urianálise, recomendou-se a mudança da alimentação para uma dieta terapêutica veterinária com baixo teor de purinas, nomeadamente *Royal Canin® Urinary Low Purine*.

Tabela 11. Resultados das urianálises realizadas ao Pablito Aimar ao longo do tempo (INNO, 2022).

Análise	Valores de referência	Resultados		
		abril/2022	julho/2022	novembro/2022
Método de colheita		Algaliação	Algaliação	Cistocentese
Cor	Ambar/Ambar transparente	Amarela	Amarela	Amarela
Turbidez	Transparente	Turva	Turva	Límpida
Densidade		1.041	1.040	1.040
pH	Geralmente ácido	7	5.5	5.5
Leucócitos	Negativos	Negativo	Negativo	Negativo
Nitritos	Negativos	Negativo	Negativo	Negativo
Proteínas	Negativas	1 + (30 mg/dL)	Vestigial	1 + (30 mg/dL)
Glucose	Negativas	Negativo	Negativo	Negativo
Cetonas	Negativas	Vestigial (5 mg/dL)	Negativo	Negativo
Urubilinogénio	Negativos	Negativo	Negativo	Negativo
Bilirrubina	Negativas a +1	1+	1+	1+
Sangue/hemoglobina	Negativos	3+	Negativo	Vestigial
Sedimento Urinário				
Leucócitos totais/hpf		0-1	1-2	0-1
Eritrócitos totais/hpf		6-10	1-5	1-5
Células epiteliais/hpf		0-1	0	0-1
Cilindros/hpf		0		
Cristais/hpf		> 20	0	
Bactérias/hpf		Não observadas	Abundantes	Não observadas
Outros achados		-	Espermatozoides	Espermatozoides
Interpretação		Presença de hematúria e abundantes cristais esféricos esverdeados, compatíveis com cristais de urato de amónia ou xantina.	A presença de bactérias sem sinais evidentes de inflamação deverá ser interpretada de acordo com o método de colheita, não se descartando a possibilidade de se tratar de contaminação ambiental.	Sedimento urinário sem alterações assinaláveis. Presença de cristais de oxalato de cálcio di-hidratado.

Também em abril foi enviada nova amostra para realização de Leiscan®, tendo o resultado sido positivo (Rz=2.00) [Positivo (IR: 1,5<Rz=<2)] (Tabela 8). No plano da consulta, ficou previsto introduzir domperidona em junho e continuar o alopurinol até julho.

Em julho de 2022, realizaram-se novamente análises, nomeadamente um Leiscan®, cujo resultado foi positivo alto (Rz=2.01) [Positivo alto (IR: 2<Rz=<3)] (Tabela 8); um proteinograma, que revelou hiperproteinemia, com a contagem de proteínas totais a 9.4 g/dL [IR: 5.5-7.2], uma hipergamaglobulinemia Gama, a 3.34 g/dL [IR: 0.26-1.17], e um rácio A/G diminuído, a 0.46 [IR: 0.86-1.93] (Tabela 9); uma urianálise, em que se observou uma abundante presença de bactérias (Tabela 10); análises bioquímicas, em que foi possível verificar-se uma ligeira urémia, a 56.7 mg/dL [IR: 19.3 – 55.6] (Tabela 11) e um hemograma, em que se verificou uma ligeira monocitopenia de 0.18 x10³/uL [IR: 0,2-2,0] e uma ligeira trombocitopenia de 159 x10³/uL [IR: 200-500] (Tabela 12).

Nessa altura realizou também análises imunológicas a várias doenças infecciosas, tendo obtido resultado positivo para *Rickettsia conorii* (IgG) no teste IFI, na titulação 1/80 (Figura 4). Começou, então, tratamento com doxiciclina na dose 10 mg/kg PO SID, no dia 28 de julho. Uma semana depois parou a medicação, contra o que estava inicialmente previsto, que seria fazer o tratamento durante 21 dias. Previu-se repetir as análises em outubro e se estivesse pior ou igual, fazer então o protocolo de tratamento com doxiciclina.

Análises	Resultados / Unidades	Val. Referência
<i>Rickettsia conorii</i> (IgG)		
IFI		
Titulação 1/80	POSITIVO	< 1:80
<i>Ehrlichia canis</i> IgG		
IFI		
Titulação 1/40	Negativo	< 1:40
<i>Anaplasma spp</i> (Ac)		
ELISA		
Resultado	Negativo	Negativo
<i>Babesia spp</i> (Ac)		
ELISA		
Resultado	Negativo	Negativo

Figura 4. Resultado da análise imunológica realizada ao Pablito Aimar em julho de 2022 (INNO, 2022).

Três meses depois, em outubro de 2022, foi realizado um Leiscan®, em que o resultado obtido foi positivo (Rz=1.62) [Positivo (IR: 1,5<Rz=<2)] (Tabela 8); um proteinograma, que continuava a apresentar hiperproteinemia, com a contagem de proteínas totais a 9.7 g/dL [IR: 5.5-7.2], uma hipergamaglobulinemia Beta 1, a 0.85 g/dL [IR: 0.16-0.78], uma

hipergamaglobulinemia Gama, a 3.51 g/dL [IR: 0.26-1.17] e um rácio A/G diminuído, a 0.46 [IR: 0.86-1.93] (Tabela 9); análises bioquímicas, que se encontravam dentro dos valores de referência (Tabela 11) e um hemograma, que revelou uma ligeira trombocitopenia de $144 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 200-500] e uma monocitopenia de $0.19 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 0.2 – 2.0] (Tabela 12).

Tabela 12. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Pablito Aimar ao longo do tempo (INNO, 2021; 2022).

Análise	Valor de referência	Resultados				
		agosto/ 2021	dezembro/ 2021	julho/ 2022	outubro/ 2022	dezembro/ 2022
Creatinina	0.6 - 1.4 (mg/dL)	0.5	0.83	1.23	0.84	0.64
Ureia	19.3 - 55.6 (mg/dL)	-	31.6	56.7	23	33.7
ALT	17 - 95 (U/L)	-	36.3	42.8	80.6	36.8
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído				

Passado um mês, em novembro, os tutores relataram que o Pablito já estava a perder o apetite em relação à dieta terapêutica que fora anteriormente receitada devido à presença de cálculos de xantina. Dado também já não estar a tomar alopurinol, realizou-se, então, uma nova urianálise, que não revelou presença de sedimento anormal, e por isso, suspendeu a ração, apesar da presença dos cristais de oxalato de cálcio di-hidratado (Tabela 10). Realizou também um hemograma, em que se verificou uma leucopenia de $4.51 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 6.0-17.0], neutropenia de $2.43 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 3.0-11.8], trombocitopenia de $103 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 200-500] e hematócrito ligeiramente diminuído, a 35 % [IR: 37.0-55.0] (Tabela 12). O plano manteve-se e fez-se apenas a domperidona novamente.

Em dezembro de 2022, o Pablito realizou um Leiscan®, cujo resultado obtido foi positivo alto ($R_z=2.72$) [Positivo alto (IR: $2 < R_z < 3$)] (Tabela 8). Realizou também um proteinograma, em que se verificaram alterações em todos os parâmetros analisados, tendo sido possível detetar hiperproteinemia, com a contagem de proteínas totais a 10 g/dL [IR: 5.5-7.2], hipoalbuminemia, com a contagem de albumina a 2.3 g/dL [IR: 2.44 – 4.96], hipoglobulinemia Alfa-1 e Alfa-2, com a contagem de Alfa-1 a 0.12 g/dL [IR: 0.17 - 0.45] e Alfa-2 a 0.34 g/dL [IR: 0.38 - 1.02]; hipergamaglobulinemia policlonal, tanto da Beta 1 como da Beta 2, a 0.93 g/dL [IR: 0.16-0.78] e 2.21 g/dL [IR: 0.37-1.62], respetivamente, hipergamaglobulinemia Gama, a 4.11 g/dL [IR: 0.26-1.17], e um rácio A/G diminuído, a 0.3 [IR: 0.86-1.93] (Tabela 9).

Adicionalmente, realizou análises bioquímicas, em que os parâmetros analisados se encontraram todos dentro dos IR (Tabela 11); um hemograma, em que se detetou leucopenia de $3.73 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 6.0-17.0], neutropenia de $2.02 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 3.0 - 11.8], trombocitopenia

moderada, a $83 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 200 – 500], valor de eritrócitos totais a $4.46 \times 10^6/\mu\text{L}$ [IR: 5.50 - 8.50], hemoglobina a 10.3 g/dL [IR: 12.0 – 18.0] e hematócrito a 32.8 % [IR: 37.0 - 55.0], ou seja, uma anemia não regenerativa normocítica normocrômica (Tabela 12). O Pablito apresentava, portanto, uma pancitopenia moderada. Nas consultas de dezembro, os tutores relataram que se verificou um aumento do apetite do Pablito, o que se refletiu também no aumento gradual do seu peso.

Em fevereiro de 2023, foi realizado um último Leiscan®, cujo resultado foi positivo alto ($R_z=2.81$) [Positivo alto (IR: $2 < R_z < 3$)] (Tabela 9). Esta análise foi realizada uma semana após o término do tratamento que realizou novamente com miltefosina que tinha começado em janeiro.

Tabela 13. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Pablito Aimar ao longo do tempo (INNO, 2021; 2022).

Parâmetro	Intervalo de Referência	Unidades	Resultado					
			agosto/ 2021	dezembro/ 2021	julho/ 2022	outubro/ 2022	novembro/ 2022	dezembro/ 2022
Leucócitos totais	6.0 - 17.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	13.54	11.77	7.18	7.0	4.51	3.73
Neutrófilos	60.0 - 80.0	%	44.2	59.50	68.90	61.8	53.9	54.20
Linfócitos	12.0 - 30.0	%	50.9	35.20	25.90	33.3	39.9	37.00
Monócitos	3.0 - 14.0	%	3.5	3.20	2.50	2.70	4.8	5.60
Eosinófilos	2.0 - 10.0	%	1.1	2.00	2.60	2.10	1.1	2.90
Basófilos	0.0 - 2.5	%	0.3	0.10	0.10	0.10	0.3	0.30
Neutrófilos	3.0 - 11.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	5.98	7.01	4.94	4.32	2.43	2.02
Linfócitos	1.0 - 4.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	6.89	4.14	1.86	2.33	1.8	1.38
Monócitos	0.2 - 2.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.47	0.38	0.18	0.19	0.22	0.21
Eosinófilos	0.1 - 1.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.15	0.23	0.19	0.15	0.05	0.11
Basófilos	0.0 - 0.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.05	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
Eritrócitos totais	5.50 - 8.50	$\times 10^6/\mu\text{L}$	6.23	7.60	6.10	6.97	5.75	4.46
Hemoglobina	12.0 - 18.0	g/dL	13.3	17.8	14.0	16.0	12.4	10.3
Hematócrito	37.0 - 55.0	%	39.1	53.0	48.6	48.6	35.0	32.8
MCV	60.0 - 74.0	fL	62.8	69.7	79.7	69.7	60.8	73.5
MCH	19.5 - 24.5	pg	21.4	23.4	23.0	23.0	21.6	23.1
MCHC	31.0 - 36.0	g/dL	34.0	33.6	28.8	32.9	35.5	31.4
RDW	12.0 - 18.0	%	15.2	18.8	18.8	18.3	14.5	17.2
Plaquetas totais	200 - 500	$\times 10^3/\mu\text{L}$	160	201	159	144	103	83
MPV	5.0 - 15.0	fL	9.6	12	-	-	9.4	-
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído	MCV – Volume corpuscular médio; MCH – Hemoglobina Corpuscular Média; MCHC – Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW – Distribuição dos eritrócitos; MPV – Volume Plaquetário Médio.					

12.2 Caso clínico 2 – Junior

12.2.1 Identificação do paciente e anamnese

Junior, canídeo, macho inteiro de raça Epagneul Breton, com 11 anos de idade, porte médio e peso corporal 15,1 Kg à data da primeira consulta em fevereiro de 2023. Vacinação *core* e raiva em atraso, assim como desparasitação interna e externa, com último registo em 2019. Tem acesso livre ao exterior da habitação. A alimentação é à base de ração seca comercial.

O Junior compareceu a consulta no HVS com queixas de diarreia com perda de peso acentuada nos últimos 15 dias.

12.2.2 História Clínica

Na consulta, a tutora relatou que o Junior tem episódios pontuais de diarreia, assim como de indiscrição alimentar com émise associada. Em casa, forneceram óleo de milho ao animal para aumentar o aporte calórico e melhorar o pêlo, que se encontrava baço. Nunca tinha sido testado para LCan, nem usou coleira ou fez outro tipo de prevenção contra flebótomos.

A história clínica deste animal é escassa, dado não haver registo de nenhum atendimento médico-veterinário anterior, por ser seguido noutro CAMV.

12.2.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico

Ao exame físico, o Junior encontrava-se alerta, normotérmico, com mucosas ligeiramente pálidas, Tempo de Repleção Capilar (TRC) <2 segundos, linfonodos normodimensionados, auscultação cardiopulmonar sem alterações e palpação abdominal sem desconforto. Apresentava uma ligeira pigmentação no escroto e na região perianal.

Foi notada uma lesão tipo exfoliativa no plano nasal, que a tutora referiu que já apresentava alguma cronicidade, tendo sido "uma espécie de caroço que ia nascendo e que se ia tirando". A urina e o apetite não apresentavam alterações.

As análises bioquímicas realizadas no dia da consulta revelaram azotemia, com aumento da ureia a 57,9 mg/dL [IR: 9.2 – 29.2] e creatinina a 1.66 mg/dL [IR: 0.40-1.40], assim como um aumento da ALT (136 U/I) [IR: 17-78] e do rácio ureia/creatinina (BUN/CRE), a 34.9 [IR: 12.5-31.8] (Tabela 14).

Tabela 14. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Junior ao longo do tempo (INNO, 2023).

Análise	Valor de referência (unidades)	Resultados	
		fevereiro/ 2023	maio/ 2023
Creatinina	0.6 - 1.4 (mg/dL)	1.66	1.25
Ureia	19.3 - 55.6 (mg/dL)	57.9	-
ALT	17 - 95 (U/L)	136	92
Proteínas Totais (TP)	5.0 - 7.2 (g/dL)	5.8	-
Glucose (GLU)	75 - 128 (mg/dL)	122	-
Fósforo Inorgânico (IP)	1.0 - 5.0 (mg/dL)	-	3.8
Fosfatase alcalina (FA)	17 - 78 (U/L)	72	-
BUN/CRE	12.5 - 31.8	34.9	-
Legenda:	Valor aumentado		

No hemograma realizado verificou-se linfopenia ($0.94 \times 10^3/\mu\text{L}$) [IR: $1.0 - 4.8 \times 10^3/\mu\text{L}$] (Tabela 15).

Tabela 15. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Junior ao longo do tempo (INNO, 2023).

Parâmetro	Intervalo de Referência	Unidades	Resultado	
			fevereiro/ 2023	maio/ 2023
Leucócitos totais	6.0 - 17.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	10.13	8.24
Neutrófilos	60.0 - 80.0	%	84.8	72.2
Linfócitos	12.0 - 30.0	%	9.3	18.3
Monócitos	3.0 - 14.0	%	4.4	4.2
Eosinófilos	2.0 - 10.0	%	1.5	5.3
Basófilos	0.0 - 2.5	%	0.0	0.0
Neutrófilos	3.0 - 11.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	8.59	5.95
Linfócitos	1.0 - 4.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.94	1.51
Monócitos	0.2 - 2.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.45	0.35
Eosinófilos	0.1 - 1.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.15	0.43
Basófilos	0.0 - 0.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.0	0.0
Eritrócitos totais	5.50 - 8.50	$\times 10^6/\mu\text{L}$	5.29	5.96
Hemoglobina	12.0 - 18.0	g/dL	12.3	13.7
Hematócrito	37.0 - 55.0	%	35.2	39.1
MCV	60.0 - 74.0	fL	66.5	65.5
MCH	19.5 - 24.5	pg	23.3	23.0
MCHC	31.0 - 36.0	g/dL	35.1	35.1
RDW	12.0 - 18.0	%	12.8	13.4
Plaquetas totais	200 - 500	$\times 10^3/\mu\text{L}$	338	373
MPV	5.0 - 15.0	fL	7.2	6.7
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído	MCV: Volume corpuscular médio; MCH: Hemoglobina Corpuscular Média; MCHC: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Distribuição dos eritrócitos; MPV: Volume Plaquetário Médio.	

Foi realizada colheita de sangue para análise Leiscan® em laboratório externo, cujo resultado foi positivo (Rz=1.52) [Positivo (IR: 1,5<Rz=<2)] (Tabela 16).

Tabela 16. Resultados da análise Leiscan® do Junior (INNO, 2023).

Data	fevereiro/2023
Resultado	Positivo (Rz=1.52)

12.2.4 Diagnóstico definitivo

Tendo em conta os resultados das análises e as orientações do grupo Leishvet, o Junior encontrava-se no estadio III de LCan em fevereiro de 2023.

12.2.5 Tratamento

O plano de tratamento incluiu alopurinol, na dose 10 mg/kg PO BID durante 6 a 12 meses e miltefosina na dose 2 mg/kg PO SID, durante 28 dias.

Devido à diarreia persistente, foi também prescrito omeprazol durante 28 dias, metronidazol durante 8 dias e aconselhada a alteração temporária de dieta para arroz com frango.

12.2.6 Evolução clínica

Agendou-se uma reavaliação médica 1 mês após o início do tratamento para realização de hemograma, análises bioquímicas, urianálise completa, UPC e medição da PAS para estadiar a doença renal. Porém, o animal não compareceu em consulta para realização dos exames de monitorização da doença no tempo aconselhado.

Apenas compareceu novamente em consulta em maio, 3 meses depois, onde foi detetado um sopro cardíaco na auscultação cardiopulmonar, verificou-se seborreia seca e pêlo baço e uma atrofia muscular marcada no membro posterior direito. Posto isto, foi recomendado administrar condroprotetores, ácidos gordos essenciais e realizar uma ecocardiografia.

Realizou também análises bioquímicas, cujos valores analisados se encontravam dentro do IR (Tabela 13), um hemograma, que já não apresentava alterações (Tabela 14). No entanto, no proteinograma verificou-se hipoproteinemia, com as proteínas totais a 5.0 g/dL [IR: 5.5 – 7.2], hipoalbuminemia, com a albumina a 1.93 g/dL [IR: 2.44 – 4.96] e rácio A/G diminuído, a 0.64 [IR: 0.86 – 1.93] (Tabela 17).

Devido à hipoalbuminemia que se verificou no proteinograma de maio, iria ser aconselhado realizar uma ecografia abdominal e urianálise com UPC, mas não foi possível

estabelecer contacto com os tutores, que não tiveram conhecimento dos resultados dos exames. Seria também aconselhado avaliar novamente os níveis de albumina dentro de uma semana, e dali a 3 meses parar a toma do alopurinol e repetir o proteinograma e Leiscan®.

Tabela 17. Resultados do proteinograma realizado ao Junior (INNO, 2023).

			Resultados
Análise	Unidades	Intervalo de referência	maio/2023
Proteínas Totais	g/dL	5.5 - 7.2	5.0
Albumina	%	2.44 - 4.96	39.0
	g/dL		1.93
Alfa 1	%	0.17 - 0.45	7.8
	g/dL		0.39
Alfa 2	%	0.38 - 1.02	16.1
	g/dL		0.80
Beta 1	%	0.16 - 0.78	11.1
	g/dL		0.55
Beta 2	%	0.37 - 1.62	10.7
	g/dL		0.53
Gama	%	0.26 - 1.17	15.3
	g/dL		0.76
Rácio Albumina/ Globulina		0.86 - 1.93	0.64
Legenda:	Valor diminuído		

12.3 Caso clínico 3 – Rocky

12.3.1 Identificação do paciente e anamnese

Rocky, cão macho, inteiro, cruzado de Yorkshire Terrier, 5 anos de idade, porte pequeno e peso corporal 5,4 Kg. Vacinação *core* e raiva em dia, assim como desparasitação interna e externa. A alimentação é à base de ração seca comercial. Tinha acesso controlado ao exterior várias vezes por dia. O Rocky compareceu em consulta no HVS em janeiro, para realização de exames de monitorização do tratamento para a LCan.

12.3.2 História Clínica

Fez a sua primeira consulta no HVS com 2 meses de idade, em que foi gradualmente realizando todo o protocolo de desparasitação externa e interna e primovacinação. Ao longo da sua vida foi sempre um animal saudável, apenas com um episódio pontual de otite aos 7 meses.

12.3.3 Abordagem clínica e Exames de Diagnóstico

Em outubro de 2022, compareceu em consulta devido à presença de algumas borbulhas na zona ventral do abdómen, para além de crostas em processo de descamação e zonas de alopecia por todo o corpo, pele espessada com algum prurido, mas sem feridas. Ao restante exame de estado geral apresentava as mucosas rosadas, húmidas e brilhantes, TRC < 2 segundos, normotérmico e auscultação cardiorrespiratória e palpação abdominal sem alterações dignas de registo.

Dado que a última desparasitação externa tinha sido 2 meses antes, foi administrado um desparasitante em formato de comprimido mastigável à base de fluralaner com ação contra pulgas e carraças, de forma a excluir a possibilidade do quadro clínico estar associado a ectoparasitas.

Foi também prescrita a realização semanal de banhos terapêuticos com champô à base de clorexidina e miconazol para tratamento de dermatite seborreica associada a *Malassezia pachydermatis* e *Staphylococcus intermedius*. Realizou-se uma cultura fúngica através do método *Dermatophyte Test Medium* (DTM) e foi reagendada consulta de acompanhamento para a semana seguinte para analisar se existiram melhorias clínicas.

Aquando do regresso do Rocky, duas semanas depois da consulta inicial, as queixas relativas à presença de crostas no corpo mantiveram-se, associadas a seborreia, ainda que na região da cabeça apresentasse melhorias. O DTM não revelou crescimento de dermatófitos, mas sim de saprófitas. Foi colhida uma amostra de pêlo para observação no microscópio no HVS e

a lâmina apresentava *Malassezia sp.* Foi prescrito itraconazol na dose 5 mg/kg PO SID durante 7 dias e prednisolona na dose 1 mg/kg PO SID durante 3 dias devido às queixas de prurido.

Os tutores relataram que não secavam o animal depois da aplicação do champô, o que levava a inúmeras tentativas de remoção do produto pelo animal, ao raspar-se na parede, o que também levou ao contacto do champô com os olhos, o que terá provocado uma conjuntivite, tendo sido por isso prescrito tratamento local com cloranfenicol em formato colírio. Foi, também, recomendada a aplicação local do champô sem banho completo e a respetiva limpeza depois da atuação do mesmo.

Na consulta de acompanhamento seguinte, 9 dias depois, o Rocky apresentava crescimento de pêlo e região rostral com visíveis melhorias. No entanto, o restante corpo continuava igual, com presença exuberante de crostas e seborreia generalizada, apesar de já não apresentar prurido. Ainda revelava conjuntivite devido à dificuldade dos tutores realizarem o tratamento com a periodicidade recomendada. Foi aconselhado continuar o tratamento com os comprimidos de itraconazol, champô à base miconazol e clorexidina, e colírio com cloranfenicol, por mais 7 dias.

Tendo em conta que depois de todo o tratamento prescrito o Rocky ainda apresentava alterações dermatológicas evidentes, foram enviadas amostras para realização de Leiscan® e o resultado foi positivo alto [Positivo alto (IR: 2<Rz=<3)] (Tabela 18).

Tabela 18. Resultados das análises Leiscan® do Rocky ao longo do tempo (INNO, 2022; 2023).

Data	novembro/2022	setembro/2023
Resultado	Positivo alto (Rz=2.52)	Positivo (Rz=1,69)

As análises realizadas nessa data incluíram análises bioquímicas (Tabela 20), em que não foram detetadas alterações aos parâmetros analisados; hemograma, em que se verificou uma eosinopenia de $0.02 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 0.1 – 1.3] e linfopenia de $0.58 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 1.0 - 4.8] (Tabela 21); proteinograma, em que se verificou hiperproteinemia de 10.5 g/dL [IR: 5.5 - 7.2], com hipergamaglobulinemia Beta 1 a 2.98 g/dL [IR: 0.16 - 0.78], hipergamaglobulinemia Gama a 3.26 g/dL [IR: 0.26 - 1.17], diminuição do rácio globulina/albumina a 0.33 [IR: 0.86 – 1.93] (Tabela 22) e um UPC onde se detetou proteinúria *borderline*, a 0.2 [Proteinúria *borderline* (IR: 0.2 – 0.5)] (Tabela 19).

Tabela 19. Resultado do UPC realizado ao Rocky (INNO, 2022).

		Resultados
Rácio Proteínas/Creatinina - Urina	Unidades	novembro/2022
Proteínas na Urina	mg/dL	6.0
Creatinina na Urina	mg/dL	29.5
UPC		0.2
Interpretação:	<0,2: Ausência de proteinúria 0,2 a 0,5: Proteinúria <i>borderline</i> * >0,5: Proteinúria*	

A interpretação dos resultados deverá ser feita em animais com DRC diagnosticada pela medição da creatinina sérica em jejum, em pelo menos duas ocasiões distintas, num paciente estável (estadiamento IRIS para DRC). * Proteinúria *borderline* - demonstrar persistência reavaliando num prazo de 2 semanas a 2 meses; * Proteinúria - demonstrar persistência reavaliando num prazo de 2 a 4 semanas. Para rácios P/C urinária superiores a 2 (proteinúria severa) não é necessário demonstrar persistência antes de iniciar terapia. Fonte: INNO, 2022.

12.3.4 Diagnóstico definitivo

Tendo em conta os resultados das análises e as orientações do grupo Leishvet, o Rocky em novembro de 2022 encontrava-se no estadio II e subestadio A com proteinúria *borderline* quando foi diagnosticado com LCan.

12.3.5 Tratamento

O plano terapêutico teve início em novembro, logo após a confirmação do diagnóstico pelo Leiscan®. Este, baseou-se na administração de injeções de antimoníato de N-metilglucamina na dose 100 mg/kg SC SID durante 30 dias e alopurinol, na dose 10 mg/kg PO BID durante 6 a 12 meses.

Foi também aplicada uma pipeta mensal com ação contra flebótomos à base de fipronil e permetrina. Os tutores não compareceram todos os dias do tratamento no HVS e, por isso, não cumpriram a periodicidade recomendada para as administrações de antimoníato de meglumina, o que levou a que o tratamento se prolongasse por mais tempo.

12.3.6 Evolução clínica

De forma a monitorizar a resposta do Rocky ao tratamento, foi planeada a repetição do hemograma, análises bioquímicas gerais, proteinograma, urianálise e UPC no espaço de 1 mês após o início do tratamento e Leiscan® após 3 meses. Em janeiro de 2023, cerca de 1 mês após o término das injeções de antimoníato de meglumina, os parâmetros avaliados nas análises bioquímicas (creatinina e ALT), encontravam-se dentro do IR (Tabela 20).

Tabela 20. Resultados das análises bioquímicas realizadas ao Rocky ao longo do tempo (INNO, 2022; 2023).

Análise	Valor de referência (unidades)	Resultado		
		novembro/ 2022	janeiro/ 2023	setembro/ 2023
Creatinina	0.6 - 1.4 (mg/dL)	0.65	0.67	1.01
ALT	17 - 95 (U/L)	25	57	53.2
Ureia	19.3 - 55.6 (mg/dL)	-	-	26.1

O hemograma apresentou apenas eosinopenia, de $0.02 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 0.1 – 1.3] (Tabela 21).

Tabela 21. Resultados dos hemogramas e leucogramas realizados ao Rocky ao longo do tempo (INNO, 2022; 2023).

Parâmetro	Intervalo de Referência	Unidades	Resultado		
			novembro/ 2022	janeiro/ 2023	setembro/ 2023
Leucócitos totais	6.0 - 17.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	9.36	9.06	10.0
Neutrófilos	60.0 - 80.0	%	87.5	69.0	68.80
Linfócitos	12.0 - 30.0	%	6.2	27.0	25.0
Monócitos	3.0 - 14.0	%	6.1	3.7	5.20
Eosinófilos	2.0 - 10.0	%	0.2	0.2	0.90
Basófilos	0.0 - 2.5	%	0.0	0.1	0.10
Neutrófilos	3.0 - 11.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	8.19	6.25	6.88
Linfócitos	1.0 - 4.8	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.58	2.45	2.50
Monócitos	0.2 - 2.0	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.57	0.33	0.52
Eosinófilos	0.1 - 1.3	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.02	0.02	0.09
Basófilos	0.0 - 0.5	$\times 10^3/\mu\text{L}$	0.0	0.01	0.01
Eritrócitos totais	5.50 - 8.50	$\times 10^6/\mu\text{L}$	5.89	7.64	8.04
Hemoglobina	12.0 - 18.0	g/dL	13.9	16.7	19.2
Hematócrito	37.0 - 55.0	%	40.1	49.6	55.9
MCV	60.0 - 74.0	fL	68.2	65.0	69.5
MCH	19.5 - 24.5	pg	23.6	21.8	23.9
MCHC	31.0 - 36.0	g/dL	34.6	33.6	34.3
RDW	12.0 - 18.0	%	14.5	13.8	19.3
Plaquetas totais	200 - 500	$\times 10^3/\mu\text{L}$	161	299	189
MPV	5.0 - 15.0	fL	9.7	8.9	10.1
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído	MCV: Volume corpuscular médio; MCH: Hemoglobina Corpuscular Média; MCHC: Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média; RDW: Distribuição dos eritrócitos; MPV: Volume Plaquetário Médio.		

O proteinograma realizado em janeiro após o tratamento apresentou apenas uma hipergamaglobulinemia Gama, de 1.24 g/dL [IR: 0.26 – 1.17] (Tabela 22).

A urianálise e UPC não foram realizados na altura inicialmente prevista, assim como o Leiscan®. Em agosto, compareceu em consulta para reforço anual da vacinação *core* e os tutores informaram que pararam de dar a medicação receitada, nomeadamente o alopurinol, por autocriação em junho.

Foi, por isso, aconselhado realizar novamente Leiscan®, onde foi possível observar uma diminuição dos níveis de anticorpos relativamente à análise anterior, tendo o resultado sido positivo (Rz=1.69) [Positivo (IR: 1,5<Rz=<2)] (Tabela 18); análises bioquímicas a creatinina, ALT e ureia, cujos valores se encontravam dentro dos IR (Tabela 20); hemograma, que revelou eosinopenia de $0.09 \times 10^3/\mu\text{L}$ [IR: 0.1 – 1.3] e aumento dos valores de hemoglobina, hematócrito e distribuição dos eritrócitos (RDW), a 19.2 g/dL [IR: 12.0 – 18.0], 55.9% [IR: 37.0 – 55.0] e 19.3% [IR: 12.0 – 18.0], respetivamente (Tabela 21). No proteinograma, o Rocky manteve a única alteração verificada no anterior proteinograma realizado, a hipergamaglobulinemia Gama, a 1.27 g/dL [IR: 0.26 – 1.17] (Tabela 22).

Tabela 22. Resultados dos proteinogramas realizados ao Rocky ao longo do tempo (INNO, 2022; 2023).

Análise	Unidades	Intervalo de referência	Resultados		
			novembro/ 2022	janeiro/ 2023	setembro/ 2023
Proteínas Totais	g/dL	5.5 - 7.2	10.5	6.8	7.1
Albumina	%	2.44 - 4.96	25	53.6	52.4
	g/dL		2.63	3.62	3.73
Alfa 1	%	0.17 - 0.45	2.9	3.7	4.1
	g/dL		0.31	0.25	0.29
Alfa 2	%	0.38 - 1.02	7.8	9.2	8.8
	g/dL		0.82	0.62	0.63
Beta 1	%	0.16 - 0.78	28.3	7	7.6
	g/dL		2.98	0.47	0.54
Beta 2	%	0.37 - 1.62	5	8.1	9.2
	g/dL		0.53	0.55	0.65
Gama	%	0.26 - 1.17	31	18.4	17.9
	g/dL		3.26	1.24	1.27
Rácio Albumina/Globulina		0.86 - 1.93	0.33	1.16	1.10
Legenda:	Valor aumentado	Valor diminuído			

13. Discussão

Relativamente à idade, o Pablito tinha 2 anos e o Junior, 11 anos. Estes dados corroboram o que foi descrito por Solano-Gallego *et al.* (2011), que relatou que a maior prevalência da infecção por LCan se verifica em cães com menos de 3 anos e com mais de 8 anos. Por outro lado, mais recentemente Almeida *et al.* (2022) afirmou que cães apresentarem idade igual ou superior a 2 anos constitui um dos principais fatores de risco para a infecção por LCan, o que foi o caso de todos os animais apresentados, desde o Pablito, com 2 anos, o Rocky, com 5 anos e o Junior, com 11 anos. A LCan trata-se de uma doença com um período de incubação que pode variar entre os 3 meses e vários anos e de carácter crónico, o que pode justificar as idades mais avançadas que se verificaram nos animais deste trabalho. É possível que os animais estivessem infetados há algum tempo, mas se tenham mantido assintomáticos, pois o fim da infecção subclínica depende da resposta do sistema imunitário dos animais acometidos.

Todos os animais apresentados neste trabalho eram machos, o que vai de acordo com os estudos realizados por Maia *et al.* (2016), que verificaram que a deteção de DNA de *L. infantum* foi superior em machos do que em fêmeas. O facto dos machos serem mais territoriais que as fêmeas pode justificar estes resultados, dado estarem mais tempo no ambiente exterior, o que os torna mais suscetíveis ao vetor. Outros autores, porém, referem que em áreas endémicas não se observam diferenças na prevalência da infecção entre ambos os sexos (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

O Pablito não tinha raça definida, o que vai de acordo com o estudo realizado por Tamponi *et al.* (2021), que considerou que estes animais são menos suscetíveis à infecção por LCan em comparação com raças puras exóticas. Por outro lado, o Rocky era cruzado de Yorkshire Terrier, o que uma vez mais contraria o que alguns estudos relatam, que esta raça é menos suscetível à doença do que outras, como Boxers ou Pastores Alemães, por exemplo (Miranda *et al.*, 2008). Já o Junior era um cão de raça Epagneul Breton, e esta é uma raça de cães de caça e, por isso, de maior permanência no exterior, o que o torna mais exposto ao vetor e com maior probabilidade de contrair a infecção. Foi relatado por Solano-Gallego *et al.* (2000) que todas as raças são potencialmente suscetíveis à infecção por *L. infantum* embora as raças autóctones e sem raça definida de áreas endémicas desenvolvam níveis variáveis de resistência, originando uma resposta imune celular e, portanto, raramente desenvolverem doença clínica.

Os três animais possuíam pêlo de tamanho médio a longo, o que não está em concordância com Cortes *et al.* (2012), que relatou que cães de pêlo curto/médio apresentavam

maior risco de adquirir LCan do que cães com pêlo longo. Pelo contrário, o estudo realizado por Almeida *et al.* (2022) revelou que o tamanho do pelo pareceu não afetar a positividade da infecção dos cães. Este dado reforça a informação de que o vetor infeta cães com pelagem de todos os tamanhos, dado que os locais de picada preferenciais são o nariz e orelhas, que normalmente estão desprotegidos de pêlo.

O Junior era de porte médio e o Pablito e o Rocky de porte pequeno, o que não vai de acordo com os estudos realizados por Gálvez *et al.* (2010) e Miró *et al.* (2012), que relataram uma associação entre um maior tamanho e peso da raça com o aumento da seroprevalência da LCan, devido a uma maior área de superfície corporal suscetível às picas de flebótomos.

O Junior tinha acesso livre ao exterior, sendo que este é um dos principais fatores de risco relacionados com a exposição aos vetores que se verifica nas áreas endémicas (ESCCAP, 2023). Isto verifica-se, provavelmente, devido à existência de um maior número de casas com zona exterior, o que aumenta a exposição destes animais ao vetor.

A região de habitação dos animais estudados neste relatório era comum aos três, nomeadamente, no concelho do Seixal no distrito de Setúbal, região suburbana de Lisboa, zona onde se situa o HVS. Almeida *et al.* (2022) verificou que a região de Setúbal constitui uma área endémica para a LCan com registos de seroprevalência entre os 20 a 25%, tal como Cortes *et al.* (2007) relatou verificar-se uma maior prevalência de infecção por *L. infantum* nos animais que habitam nesta zona do país.

Quanto à época do ano em que ocorreram os diagnósticos de LCan, não se verificou um padrão semelhante nos animais, tendo havido diagnósticos ao longo de todo o ano, nomeadamente em fevereiro, julho e novembro. Estes dados corroboram os estudos que referem que devido às alterações climáticas, a época favorável de ação dos flebótomos se está a alargar, o que faz com que a doença perca a típica sazonalidade (Campino & Maia, 2010). As mudanças climáticas globais associadas a uma maior densidade e atividade de flebótomos ao longo de um período mais extenso, podem aumentar o número de dias propícios para a transmissão deste parasita para humanos e animais, resultando num aumento concomitante na incidência.

Tanto o Pablito como o Rocky tinham um plano profilático em dia, mas o Junior, para além de não ser vacinado nem desparasitado com regularidade, também não fazia qualquer tipo de prevenção contra flebótomos. A falta de utilização de repelentes é outro dos fatores de risco associados à infecção por *L. infantum* descrito na literatura (Almeida *et al.*, 2022). Porém, há estudos que relatam que entre os cães estudados e infetados com LCan em Portugal, 75% tinham sido sujeitos a alguma medida profilática com repelentes de flebótomos (ONLeish, 2011).

Desconhece-se se os produtos inseticidas repelentes foram aplicados de forma correta e durante toda a época de maior atividade de flebótomos, mas estes resultados sugerem que é necessário realizar mais trabalho na área da prevenção em Portugal, para melhorar o controlo desta doença.

Ao Pablito, aquando do diagnóstico, foi aplicado uma pipeta mensal com ação contra flebótomos à base de permetrina, dinotefurano e piriproxifeno. Mais tarde, começou a usar uma coleira impregnada com deltametrina, que tem efeito contra flebótomos e uma duração de atuação de 12 meses, que requer menos controlo por parte dos tutores relativamente a uma eventual reaplicação do produto, como aconteceria com a pipeta. Por outro lado, o Rocky antes do diagnóstico de LCan, não fazia uso de nenhum tipo de coleira repelente, sendo a única desparasitação externa realizada com recurso a um comprimido mastigável que contém fluralaner mas que não tem efeito contra flebótomos. Depois do diagnóstico, foi aconselhado aplicar uma pipeta de ação mensal com ação contra flebótomos, à base de fipronil e permetrina. Estes produtos, dado exigirem uma renovação ao fim de um menor período, nomeadamente 3 a 4 semanas, são mais propensas ao esquecimento por parte dos tutores, para além de não conceder proteção total contra todos os vetores de doenças. É fundamental haver uma maior sensibilização dos tutores por parte dos MVs relativamente aos diferentes tipos de desparasitantes externos, da duração dos mesmos e dos diferentes tipos de vetores em que cada produto atua.

Relativamente à vacinação contra a LCan, nenhum dos animais se apresentava vacinado aquando do diagnóstico. Depois de serem diagnosticados com a doença, não é aconselhado proceder à vacinação com a LetiFend®, única vacina disponível na Europa à data, pois só pode ser administrada em cães saudáveis seronegativos quantitativamente com, pelo menos, seis meses de idade (Leishvet, 2022). Esta vacina não impede a infeção, mas altera a progressão da doença e a probabilidade de evolução para uma doença clinicamente evidente.

A perda de peso acentuada, alteração que tanto o Pablito como o Junior evidenciaram, vai de acordo com Solano-Gallego *et al.* (2011) que refere que a sintomatologia associada à LCan pode ser bastante variada e inespecífica. Relativamente ao sinal clínico mais evidente com que o Pablito compareceu inicialmente em consulta, nomeadamente, a linfadenomegalia dos poplíteos e pré-escapulares, este vai de acordo com Ribeiro *et al.* (2018), que afirmou que este representa um dos sinais mais comuns e precoces associados à forma clássica da LCan. O aumento acentuado dos linfonodos na LCan é causado pelo aumento do número e tamanho dos folículos linfóides, assim como pela acentuada hipertrofia e hiperplasia dos macrófagos nos

cordões e seios medulares. Frequentemente, a carga parasitária nos linfonodos aumentados não está correlacionada com o tipo e gravidade das lesões nos outros órgãos (Lima *et al.*, 2004).

No Rocky foram detetadas crostas de descamação, algum prurido, borbulhas e pele espessada sem feridas e no Pablito verificaram-se lesões dérmicas focais na região das orelhas. Estes dados vão de acordo com Baneth *et al.* (2008), que relata que alterações dermatológicas são frequentes e variáveis na sua caracterização e extensão, estando descrito que até 89% destes cães apresentam lesões cutâneas.

Já o Junior não apresentava qualquer alteração dermatológica visível. Porém, segundo Solano-Gallego *et al.* (2004), as lesões dérmicas na LCan não são necessariamente provocadas por uma resposta inflamatória à presença física de parasitas na pele, pois a pele com aparência normal também abriga um grande número de parasitas em cães sintomáticos.

A alteração ocular que acabou por se verificar no Pablito aquando da confirmação do diagnóstico, mais concretamente, conjuntivite, está também relatada na bibliografia como uma das lesões presentes em 16 a 81% dos animais com LCan sintomática (Naranjo *et al.*, 2005). Peña *et al.* (2000) sugeriram que a inflamação conjuntival é secundária à presença do parasita, em vez de a uma resposta imune alterada após a infeção. No entanto, Brito *et al.* (2010) consideraram a hipótese da conjuntivite por *Leishmania spp.* se dever à presença de complexos imunes que desencadeariam perivasculite, acompanhada ou não, por congestão vascular.

A diarreia foi outro sinal clínico que tanto o Pablito como o Junior manifestaram. Esta alteração não está tão comumente associada à LCan, dado apresentar uma prevalência de apenas 3 a 30%, pelo que esta ocorrência em cães está maioritariamente associada a doença renal ou hepática crónica (López *et al.*, 2022). Por outro lado, o Junior revelava um aumento dos níveis de ureia aquando do diagnóstico e da presença de diarreia, o que vai de acordo com Baneth *et al.* (2008), que relata que o aumento dos níveis de ureia provoca o aparecimento de ulcerações gastrointestinais, o que pode levar, consoante a zona das mesmas, a diarreia hemorrágica e melena. Os valores de ureia do Pablito não foram analisados quando apresentava diarreia, o que impossibilita a sua correlação com os estudos.

Relativamente ao diagnóstico, o Leiscan® foi sempre o método escolhido, em todos os animais e em todas as monitorizações realizadas ao longo do tempo, não tendo sido nunca realizado qualquer outro teste de diagnóstico laboratorial. Contudo, antes do recurso a técnicas serológicas, ocorreu sempre uma suspeita clínica baseada na sintomatologia e alterações laboratoriais, característicos em quadros de LCan. Segundo Paltrinieri *et al.* (2016), em cães com forte suspeita clínica de LCan é aconselhável o uso de serologia quantitativa, pois pode ser

conclusiva para o diagnóstico quando estão presentes altos títulos de anticorpos. O Leiscan® é um teste serológico ELISA que semi-quantifica os anticorpos *Leishmania* e apresenta uma sensibilidade e especificidade reais de, aproximadamente, 95,3% e 99,8%, respetivamente (Solano-Gallego *et al.*, 2014). A técnica mais sensível e específica é a PCR, mas como a sensibilidade diagnóstica depende consideravelmente do tipo e número de diferentes tecidos avaliados, e a medula óssea, linfonodos, baço e lesões cutâneas são considerados melhores alvos para a deteção de *Leishmania* do que o sangue total, que não revela ser uma técnica tão acessível como a técnica serológica ELISA, não tendo sido por isso escolhida pelos MVs do hospital de forma rotineira como primeira abordagem, para além de apresentar custos mais elevados.

Aquando do diagnóstico, tanto o Pablito como o Rocky encontravam-se no estadio II e subestadio A segundo o estadiamento da Leishvet (Leishvet, 2022), dado apresentarem um nível de anticorpos positivo alto e sinais clínicos e alterações laboratoriais compatíveis. No caso do Junior, este encontrava-se no estadio III, dado revelar DRC no estadio I da IRIS, para além do nível de anticorpos e das alterações laboratoriais. O estadiamento deve ser realizado em todos os cães diagnosticados com infeção por *L. infantum* com alterações físicas e/ou laboratoriais, para facilitar a implementação do tratamento adequado e monitorização do paciente (Solano-Gallego *et al.*, 2017). Estes, podem ser estadiados e sub-estadiados conforme as diretrizes da Leishvet, nomeadamente de acordo com as concentrações plasmáticas de creatinina e o grau de proteinúria. Dado não ter sido avaliado o SDMA, a PAS, nem o UPC em todos os animais, não foi possível proceder ao estadiamento e sub-estadiamento com base nesses parâmetros.

No caso do Pablito, a repetição dos hemogramas, análises bioquímicas e proteinograma apresentaram intervalos que variaram entre os 3, 7 e 2 meses, não havendo propriamente uma periodicidade constante ou de acordo com a literatura. Já as urianálises realizadas foram com 3 e 4 meses de intervalo, respetivamente. No caso do Junior, tanto o hemograma como as análises bioquímicas que se repetiram, foram apenas com 3 meses de intervalo. O Rocky repetiu o hemograma, perfil bioquímico e proteinograma com intervalo de 2 meses e mesmo sendo esta uma diferença de tempo mais aproximada à aconselhada, não era ainda a ideal. Está descrito que a periodicidade de monitorização do hemograma, perfil bioquímico, proteinograma, urianálise completa e UPC em cães doentes em tratamento deve ser depois do primeiro mês de tratamento e em diante, a cada 3 a 4 meses durante o primeiro ano (LeishVet, 2022). Esta falta de periodicidade constante em cada caso e entre casos pode também dever-se ao facto de que nenhum animal ter apenas um MV a seguir o seu caso. Como

vários MVs do hospital fizeram consultas com os diversos animais e dado não haver um protocolo no hospital estabelecido, torna-se difícil manter uma forma de atuação constante e consistente, tanto no controlo das datas de repetição de cada análise mais adequadas, como do ajuste de doses e tratamentos implementados.

É, também, importante informar os tutores sobre a importância do cumprimento da periodicidade aconselhada da repetição das análises, como monitorização da eficácia do tratamento, para que ocorram melhorias clínicas efetivas, sendo que a *compliance* dos tutores é também um importante fator que contribui para o incumprimento da periodicidade aconselhada.

Em relação ao Pablito, os testes serológicos foram realizados com intervalos temporais que variaram entre os 5 meses, numa fase inicial, e 4, 3 e 2 meses, de seguida, respetivamente. No caso do Rocky, as serologias realizadas tiveram um intervalo de 10 meses, sendo que o que estaria previsto pelo hospital seria um intervalo de apenas 3, tal como no caso do Junior. No entanto, as recomendações da LeishVet (2022) são mais precisas e referem que a serologia quantitativa em cães doentes deve ser realizada não antes de 3 meses após o tratamento inicial, e de seguida a cada 6 a 12 meses. Alguns autores referem ainda que os cães que se encontram em tratamento médico devem repetir monitorização serológica a cada 6 meses (Paltrinieri *et al.*, 2016), o que também não se verificou.

Em nenhum dos três casos se procedeu à medição do SDMA, provavelmente devido ao facto dos clínicos quando confrontados com a hipótese de realizar mais exames complementares, terem optado por outros que forneciam mais informação relevante e de menor custo, como a urianálise e medição do UPC. Apesar do SDMA ser considerado pela IRIS (2019a) um marcador sensível para a DRC, estudos recentes não demonstraram vantagens na sua realização como marcador precoce para deteção de DRC em cães com LCan, em comparação com a medição do UPC (Giapitzoglou *et al.*, 2020; Torrent *et al.*, 2018).

Entre as alterações laboratoriais observadas não só no diagnóstico, mas também em cada monitorização, nomeadamente, no hemograma do Pablito realizado em dezembro de 2022, encontrava-se a anemia. Este é um dos principais achados no hemograma de cães com LCan, estando descrito que entre 50 a 70% dos animais apresentam uma anemia não regenerativa normocítica normocrómica (Ribeiro *et al.*, 2013), o que sugere, no mínimo, a participação de doença inflamatória crónica e/ou comprometimento da eritropoiese devido a alterações induzidas pela infeção na medula óssea e/ou rins.

Outra alteração frequentemente verificada no Pablito, mas que também ocorreu no Rocky, foi a trombocitopenia. O mecanismo mais provável responsável pela trombocitopenia,

que se revela bastante frequente de forma leve a moderada em cães com LCan, é uma destruição periférica mediada pelo sistema imunológico das plaquetas circulantes, uma vez que foram demonstrados anticorpos antiplaquetas em cães com esta doença (Cortese *et al.*, 2009). No entanto, esta trombocitopenia também pode ser devido a uma supressão na produção de plaquetas na medula óssea (Paltrinieri *et al.*, 2016).

Foram verificadas alterações nos leucogramas dos três animais, em diferentes alturas. O Junior e o Rocky revelaram neutrofilia com ligeira linfopenia, o que vai de acordo com que afirma Baixarias *et al.* (2023), que as alterações no leucograma são consideradas pouco frequentes e têm mostrado uma grande variabilidade entre os estudos previamente publicados, onde um padrão de leucograma normal é a observação mais comum, e a linfopenia sozinha ou com leve leucopenia ou neutrofilia concorrente foi a segunda alteração mais comum no leucograma e a terceira alteração clinicopatológica mais comum. Essas alterações no leucograma sugerem uma resposta ao *stress* devido ao aumento de glicocorticóides endógenos, geralmente presentes em animais doentes (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018).

Nos leucogramas realizados ao Pablito, foi possível verificar a presença de leucopenia, com neutropenia e linfocitose e monocitopenia. Estes resultados estão em concordância com o estudo realizado por Nicolato *et al.* (2013), que observou linfocitose no leucograma de cães assintomáticos e leucopenia em cães com doença sintomática, caracterizada por monocitopenia, linfocitopenia e eosinopenia. No entanto, da Costa-Val *et al.* (2007) não observaram correlação entre os valores de leucócitos e os sinais clínicos na LCan, exceto para linfócitos em cães assintomáticos comparados com outros grupos.

Foram encontradas alterações na eletroforese de proteínas séricas, mais comumente designada proteinograma, de todos os animais estudados. Esta análise foi frequentemente requisitada como exame de monitorização dos pacientes à doença e terapia instituída. Verificaram-se rápidas alterações nos proteinogramas depois dos diagnósticos, o que corrobora o que Patrineri *et al.* (2016) descreveu, que a análise de proteínas séricas, incluindo a eletroforese, pode revelar anormalidades muito cedo durante o curso da doença. De acordo com Ribeiro *et al.* (2013), a disproteinemia é considerada uma das alterações mais importantes na LCan. O desequilíbrio proteico é representado pelo aumento das proteínas séricas totais (hiperproteinemia), hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, o que também determina a inversão na razão A/G, e a diminuição desta razão é tão frequente que foi considerada para alguns autores como um dos testes mais sensíveis para a LCan.

A hiperglobulinemia presente no Pablito e no Rocky é resultado do discreto ou escasso aumento das frações α e β , acompanhado por um aumento significativo das γ -globulinas, que determina a hipergamaglobulinemia. Este aumento das frações gama e beta sugere estimulação antigénica persistente, como inflamação, neoplasia ou doença imunomediada, sendo que em cães, entre as causas mais comuns encontra-se a LCan (Giordano & Paltrinieri, 2010).

Verificou-se hipoalbuminemia nas análises do Pablito e Junior. A redução dos níveis de albumina é, em parte, resultado da excreção renal devido a danos glomerulares produzidos durante o curso da doença e da baixa produção pelo fígado em casos de insuficiência hepática (Ribeiro *et al.*, 2018). Outros autores, porém, afirmam que a simples avaliação de proteínas totais, albumina ou da razão A/G pode não ser útil, pois é muito provável que, apesar da diminuição nas concentrações de globulinas em resposta ao tratamento, as concentrações de albumina permaneçam baixas em cães com dano glomerular persistente e proteinúria, levando a mudanças apenas menores na razão A/G (Paltrinieri *et al.*, 2016). Este achado é considerado um fator prognóstico negativo em cães com LCan (Almeida *et al.*, 2005).

Não foram verificadas melhorias em nenhum dos proteinogramas realizados do Pablito, tendo inclusivamente sido registados no último proteinograma o maior número de resultados fora dos parâmetros de referência. Em todas as análises realizadas, verificou-se hiperproteinemia, hipergamaglobulinemia e diminuição do rácio A/G. Já o Junior realizou apenas um proteinograma, não sendo por isso possível verificar se ocorreram melhorias. Por outro lado, o Rocky demonstrou melhorias nos proteinogramas realizados após o início do tratamento, tendo sido o primeiro realizado 2 meses depois da implementação do mesmo, em que houve normalização da hiperproteinemia, da hiperglobulinemia Beta-1 e do rácio A/G. Estes dados vão de acordo com o que Baixarias *et al.* (2023) relata, que a eletroforese de proteínas séricas pode ser usada para monitorizar a diminuição progressiva de alfa e gama-globulinas com um tratamento bem sucedido, sendo que essas mudanças começam a tornar-se evidentes após duas a três semanas e quatro a seis semanas, respetivamente, após o tratamento com compostos antimoniais. Portanto, o primeiro proteinograma útil para monitorizar a eficácia do tratamento deve ser realizado não antes de 1 mês após o início do tratamento.

No caso do Pablito, não se verificou uma normalização completa do proteinograma como seria de esperar ao fim de, pelo menos, 90 a 120 dias. Tratamentos com miltefosina ou com outros medicamentos podem exigir mais tempo para serem benéficos (mais de 2 meses para observar uma diminuição em gama-globulinas) e também são caracterizados por recidivas mais frequentes após a normalização transitória dos perfis laboratoriais (Baixarias *et al.*, 2023).

O tratamento instituído ao Pablito e ao Junior constituiu em alopurinol e miltefosina numa fase inicial, e no caso do Rocky em antimoniato de meglumina e alopurinol, tendo estes sido implementados de acordo com os protocolos mais atuais. Segundo Roura *et al.* (2021) e Solano-Gallego *et al.* (2011), o tratamento mais amplamente descrito e eficaz para a LCan consiste na combinação de antimoniato de meglumina, na dose 50 a 100 mg/kg BID ou SID SC por um mês e alopurinol, na dose 10 mg/kg PO BID, por pelo menos 12 meses. Se esse esquema de tratamento não for possível, uma alternativa é a combinação de miltefosina na dose 2 mg/kg PO SID por 28 dias e alopurinol.

13.1 Discussão do caso clínico 1

O Pablito tomou domperidona em setembro de 2021, janeiro, junho e novembro de 2022, tendo sido duas vezes em simultâneo com o alopurinol e uma vez isoladamente em novembro de 2022, depois de um Leiscan® em que o resultado foi positivo ($R_z = 1.62$). Este protocolo foi semelhante ao sugerido pelo fabricante, que relata que em áreas de alta prevalência ou em climas com uma longa temporada infecciosa, deve ser administrado um tratamento a cada 4 meses e na região do Mediterrâneo, seria aconselhável tratar em junho, outubro e fevereiro, devido a uma maior atividade dos vetores nesta época.

A domperidona é um medicamento imunoestimulante cada vez mais utilizado como agente profilático ou imunoterapêutico (Travi & Miro, 2018). Cavalera *et al.* (2021) relatou que os tratamentos imunoterapêuticos se têm mostrado promissores contra a LCan com o principal objetivo de restabelecer a imunidade do cão e, portanto, promover a redução do parasita e melhorar os sinais clínicos. A domperidona potencializa a resposta imune mediada por células, potencializando as funções fagocíticas e oxidativas dos neutrófilos, auxiliando o sistema imunológico dos cães doentes para controlar a infeção e a prevenir o desenvolvimento de doenças clínicas em cães não infetados. Este estudo forneceu também resultados preliminares sobre a capacidade da domperidona de melhorar a concentração sérica de creatinina e reduzir os títulos de anticorpos anti- *L. infantum*, globulinas, globulinas gama e proteína C-reativa em cães com LCan e DRC. Noutro estudo realizado por Cavalera *et al.* (2022), a administração de domperidona com dieta renal reduziu a progressão da doença renal em cães com LCan afetados com DRC.

Cerca de 9 meses após o início do tratamento da LCan e tendo em conta que o Pablito continuou a tomar alopurinol de forma interruptível, foi realizada uma primeira urianálise em abril de 2022, onde foram detetados cristais compatíveis com cristais de urato de amónia ou

xantina. Nos animais que se encontram em tratamento com leishmaniostáticos, nomeadamente o alopurinol, é expectável verificar-se a presença de cristais de xantina. No entanto, sinais clínicos associados à presença de cristais de xantina e a formação de urólitos não são comuns, assim como a suspensão do tratamento. Portanto, quando o alopurinol é administrado por longos períodos, a análise do sedimento urinário deve sempre ser incluída no banco de dados laboratorial e incluída nas monitorizações, assim como ultrassonografias para visualização dos cálculos (Jesus *et al.*, 2022) que neste caso, porém, não foram realizadas.

A alimentação do Pablito foi alterada para uma ração terapêutica veterinária com baixo teor de purinas quando foram detetados cristais compatíveis com cristais de urato de amónia ou xantina no resultado da urianálise em abril. Na urianálise seguinte realizada a julho, já não foi detetada presença de cristais. Este tipo de dieta terapêutica ajuda a reduzir a formação de cálculos de urato. Estudos indicam que quando é detetada presença de xantinúria, se deve reduzir a dose de alopurinol, aumentar o consumo de água e fornecer uma dieta com baixo teor de purina para garantir que a concentração de xantina se mantém abaixo do seu ponto de saturação na urina (Manna *et al.*, 2015; Segarra *et al.*, 2017). A xantina é um produto do metabolismo das purinas que é convertida em ácido úrico pela ação da enzima xantina oxidase. Por outro lado, a formação de cálculos de xantina é um processo irreversível com potenciais graves consequências e não há tratamento médico eficaz para dissolver esse tipo de cálculo (Torres *et al.*, 2016).

A presença de cristais de oxalato de cálcio di-hidratado foi também detetada na urianálise realizada em dezembro desse ano. O Pablito era um cão macho e de raça de pequeno porte, o que estava em concordância com o que relatam alguns estudos, que estes cálculos representam o tipo de urólito mais frequente nos cães, que são mais frequentes em machos e em raças de porte pequeno (Roe *et al.*, 2012).

Como não se verificou melhoria clínica após um curso de tratamento, examinou-se a hipótese do Pablito apresentar outra doença transmitida por vetores concomitante. Foram realizadas análises a hemoparasitas, tendo sido detetada uma infeção por *Rickettsia conorii*, vulgarmente denominada Febre da Carraça. Vários estudos demonstraram que cães com LCan podem ser coinfectados por outros agentes infecciosos ou parasitários, que podem afetar a resposta imunológica ao tratamento (Pessoa-e-Silva *et al.*, 2019; Roura *et al.*, 2005). Devido às semelhanças clinicopatológicas entre as doenças, é aconselhável adotar uma abordagem cautelosa para evitar conclusões erradas e realizar falhas terapêuticas subsequentes em cães com LCan com baixos títulos de anticorpos anti-*Leishmania* (Koutinas & Koutinas, 2014), o

que, no entanto, não se verificou neste caso, dado que o Leiscan® realizado nesse mesmo mês teve como resultado positivo alto ($R_z=2.01$).

Estas análises realizadas ao Pablito em julho de 2022 vão de acordo com o estudo realizado em Espanha por Espejo *et al.* (1993), que constatou que a frequência de animais seropositivos para *R. conorii* era superior nos meses de verão, provavelmente devido a uma maior exposição ao vetor da doença, carraça, secundária ao aumento de temperatura.

Verificou-se um aumento do resultado do Leiscan® de positivo ($R_z=1.62$) em outubro de 2022, para positivo alto ($R_z=2.72$) em dezembro de 2022, no espaço de 2 meses. O alopurinol tinha sido suspenso em julho e segundo Roura *et al.* (2021), as recidivas podem ocorrer quando há suspensão do tratamento com o alopurinol. De acordo com o ESCCAP (2023), um dos indicadores de recidiva é um aumento significativo nas reações específicas de anticorpos por ELISA quando examinado pelo mesmo laboratório e dado que a infeção por *Leishmania* não é eliminada pelo tratamento com os compostos atualmente disponíveis, as recidivas são comuns.

13.2 Discussão do caso clínico 2

O valor de creatinina e ureia séricas do Junior encontravam-se aumentados na altura do diagnóstico de LCan, revelando uma azotemia. Tendo em conta que o valor de creatinina se encontrava acima dos valores de referência com 1.66 mg/dL, segundo as *guidelines* da IRIS (IRIS, 2023a), o Junior encontrava-se no estadio II da DRC. Dado não se ter procedido à medição do SDMA, PAS e UPC, não foi possível proceder-se ao estadiamento e subestadiamento da DRC conforme esses parâmetros. No entanto, a IRIS afirma que todos os animais diagnosticados com LCan e com doença renal concomitante devem ser estadiados e tratados de acordo com as suas recomendações (IRIS, 2023a; 2023b).

No caso do Junior, o diagnóstico de DRC foi baseado exclusivamente na presença de azotemia, e está relatado que a prevalência de doença renal nestes casos varia entre 5,9% e 38,1% (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018), enquanto que se a proteinúria renal patológica fosse o critério, então a prevalência seria de aproximadamente 50% (Cortadellas *et al.*, 2006).

Neste caso e em quase todos os casos de DRC, o diagnóstico inicial é baseado exclusivamente nos resultados obtidos após uma única avaliação dos marcadores laboratoriais rotineiros da função renal e, portanto, a verdadeira gravidade e irreversibilidade da doença renal não podem ser estimadas quando a doença é diagnosticada. Segundo Roura *et al.* (2021), a suposição geral de muitos veterinários é que todos os cães com LCan e doença renal têm DRC.

Apenas foi instituído o tratamento específico para a LCan individualmente com alopurinol e miltefosina sem ser implementado nenhum tratamento para a doença renal,

provavelmente porque tinha sido o primeiro diagnóstico da doença deste animal e os valores de creatinina e ureia não estavam excessivamente aumentados. De acordo com a literatura, quando se deteta doença renal induzida pela LCan, e independentemente da concentração de creatinina, o tratamento específico para a LCan deve ser começado imediatamente, seja individualmente ou em conjunto com o tratamento *standard* recomendado pela IRIS (Daza González *et al.*, 2019; IRIS, 2023b; Torres *et al.*, 2011).

O tratamento do agente etiológico e a terapia de suporte aos rins podem reduzir a gravidade das lesões ou até mesmo curar completamente a doença, especialmente quando o diagnóstico é feito precocemente. Infelizmente, isso não é o caso para todos os cães, e alguns podem progredir para DRC, exigindo terapia renal ao longo da vida e ajustes no tratamento (IRIS, 2023). Esse facto destaca a importância de monitorizar periodicamente a função renal, pois os requisitos de tratamento podem alterar-se com o tempo.

A ocorrência de poliúria e polidipsia (PU/PD) não foi descrita pelos tutores, sinal clínico que se destaca frequentemente quando DRC está presente. Isto pode ser justificado com o facto do Junior ter acesso livre ao exterior da habitação, o que dificulta o controlo da frequência de micção e ingestão de água.

O Junior não compareceu em consulta de acompanhamento na altura aconselhada pelo MV para monitorizar o estado de saúde após o tratamento que realizou, que teria sido 1 mês após o início do mesmo e nem foram realizados todos os exames que tinham sido inicialmente aconselhados. Porém, passados 3 meses do início do tratamento instituído para a LCan foram repetidas as análises bioquímicas, que revelaram melhorias nos valores de creatinina e ALT, não tendo a ureia sido reavaliada. Como refere a IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.* (2013b), estes animais também devem ser monitorizados com frequência para determinar a eficácia do tratamento. Estes resultados vão de acordo com o que vários estudos demonstram, que os medicamentos direcionados ao tratamento da LCan podem melhorar e prevenir a progressão da doença renal em cães com LCan (Daza González *et al.*, 2019; Paltrinieri *et al.*, 2018; Proverbio *et al.*, 2016).

13.3 Discussão do caso clínico 3

O Rocky apesar de revelar proteinúria *borderline* no UPC realizado, nunca revelou alterações nos valores de creatinina e ureia sérica. Segundo Baxarias *et al.* (2023), os níveis de proteinúria e de creatinina sérica são os dois parâmetros mais importantes para estadiar a doença renal em cães com LCan. A recomendação atual é considerar que um cão é não proteinúrico

quando o UPC $< 0,2$, enquanto cães com $0,2 \leq \text{UPC} \leq 0,5$ são considerados *borderline* proteinúricos e precisam de ser reavaliados dentro de 2 meses, e cães com um UPC $> 0,5$ são considerados proteinúricos (IRIS, 2019; Roura *et al.*, 2017). No caso de proteinúria *borderline*, antes de iniciar terapia adaptada, o paciente deve demonstrar persistência reavaliando num prazo de duas semanas a dois meses; no caso de proteinúria, deve demonstrar persistência reavaliando num prazo de duas a quatro semanas e para UPCs superiores a 2 (proteinúria severa) não é necessário demonstrar persistência antes de iniciar terapia (Roura *et al.*, 2021).

Apesar da proteinúria inicialmente verificada, não foi instituído tratamento específico para a mesma, apenas terapia para a LCan. Isto de vai de acordo com a bibliografia, que refere que em cães como o Rocky, com $\text{UPC} \leq 3,0$, LCan ativa e doentes, deve ser administrada terapia leishmanicida e posteriormente reavaliar os parâmetros renais (IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.*, 2013b; Roura *et al.*, 2013). Se, no acompanhamento e independentemente da concentração de creatinina sérica, o animal ainda estiver proteinúrico ($\text{UPC} > 0,5$), a terapia para proteinúria deve ser administrada (IRIS, 2023; IRIS Canine Glomerular Disease Study Group *et al.*, 2013b), sendo que a proteinúria associada à LCan requer abordagens terapêuticas diferentes, dependendo da condição clínica do cão e do estadio da doença (Daza González *et al.*, 2019).

Não foi possível confirmar se a proteinúria *borderline* do Rocky se manteve, melhorou ou agravou, dado não ter sido repetido o UPC, apesar da recomendação dos MVs do hospital. De acordo com Paltrinieri *et al.* (2016), após o tratamento leishmanicida convencional, o grau de proteinúria diminui em 4 a 8 semanas, portanto, tratamentos farmacológicos adicionais para a proteinúria devem ser decididos posteriormente.

Idealmente, as causas pré-renais e pós-renais da proteinúria devem ser excluídas antes de medir o UPC, porém, isso nem sempre é possível em cães com LCan, pois tanto a hiperproteinemia grave que causa proteinúria de sobrecarga, quanto a proteinúria renal, podem frequentemente coexistir (IRIS, 2023). Nesse sentido, a proteinúria deve ser reavaliada após a terapia leishmanicida, algo que não se verificou neste caso.

14. Conclusão

Atualmente, ainda se verificam bastantes alterações renais nos animais diagnosticados com LCan que podem ser secundárias à doença ou a um dos fármacos mais comumente instituídos no tratamento, o alopurinol. Neste trabalho, as alterações presentes incluíram a presença de cálculos de xantina, DRC e proteinúria.

A LCan não possui um tratamento uniformizado, exigindo abordagens individualizadas para os pacientes que desenvolvem nefropatias. Foi evidente que a resposta clínica ao tratamento instituído variou entre os casos, dependendo do estado clínico inicial e da especificidade da terapia. Embora não exista cura e a eliminação total do parasita não seja possível, seguir um plano terapêutico rigoroso pode resultar em melhoria clínica e redução temporária da capacidade infetante dos flebótomos. É importante comunicar aos tutores a importância da monitorização regular dos animais afetados, especialmente aqueles com problemas renais, para se estar preparado para intervir rapidamente em caso de recidivas.

Porém, a condição sócio-económica dos tutores dos animais constitui uma limitação na atuação dos MVs, dado não lhes ser permitido realizar todos os exames complementares de diagnóstico que considerem necessários na altura mais adequada e, inclusive, instituir a terapêutica mais adaptada a cada animal, no devido tempo.

De futuro, revela-se crucial sensibilizar eficazmente os tutores para o facto de que a LCan é uma doença endémica em Portugal e de carácter zoonótico que requer a aplicação de métodos profiláticos frequentes e alertar para a alta prevalência das variadas alterações renais que se verificam em cães com LCan.

Neste sentido, é importante realizar mais estudos para descobrir um fármaco que elimine o parasita dos órgãos-alvo e simultaneamente limite a transmissão para os flebótomos, sem os efeitos colaterais dos anti-leishmanicidas atuais.

15. Referências Bibliográficas

- Acierno, M. J., Brown, S., Coleman, A. E., Jepson, R. E., Papich, M., Stepien, R. L., & Syme, H. M. (2018). ACVIM consensus statement: Guidelines for the identification, evaluation, and management of systemic hypertension in dogs and cats. *Journal of veterinary internal medicine*, 32(6), 1803–1822.
- Almeida, M. A., Jesus, E. E., Sousa-Atta, M. L., Alves, L. C., Berne, M. E., & Atta, A. M. (2005). Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. *Veterinary parasitology*, 127(3-4), 227–232.
- Almeida, M., Maia, C., Cristóvão, J. M., Morgado, C., Barbosa, I., Ibars, R. F., Campino, L., Gonçalves, L., & Cortes, S. (2022). Seroprevalence and Risk Factors Associated with *Leishmania* Infection in Dogs from Portugal. *Microorganisms*, 10(11), 2262.
- Alvar, J., Vélez, I. D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., den Boer, M., & WHO Leishmaniasis Control Team. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PloS one*, 7(5), e35671.
- Alves, E. B., Figueiredo, F. B., Rocha, M. F., Castro, M. C., & Werneck, G. L. (2020). Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. *Preventive veterinary medicine*, 182, 105104.
- Antoniou, M., Gramiccia, M., Molina, R., Dvorak, V., & Volf, P. (2013). The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. *Euro surveillance: bulletin Europeen sur les maladies transmissibles = European communicable disease bulletin*, 18(30), 20540.
- Apostolidis, K. N., Chatzis, M. K., Kasabalis, D., Mataragka, A., Ikononopoulos, J., Skampardonis, V., Athanasiou, L. V., Mylonakis, M. E., Leontides, L. S., & Saridomichelakis, M. N. (2023). Investigation of comorbidities in dogs with

leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 39 (February), 100844.

Ayele, A., & Seyoum, Z. (2016). A Review on Canine Leishmaniasis: Etiology, Clinical Signs, Pathogenesis, Treatment and Control Methods. *Global Veterinaria*, 17(4), 343– 352.

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 in parasitology*, 24(7), 324–330.

Baneth, G., Segev, G., Mazaki-Tovi, M., Chen, H., & Kuzi, S. (2018). Renal dialysis and long-term treatment of a dog with kidney disease associated with canine leishmaniosis. *Parasites & vectors*, 11(1), 151.

Baneth, G., & Solano-Gallego, L. (2022). Leishmaniasis. *The Veterinary clinics of North America. Small animal practice*, 52(6), 1359–1375.

Braga, E. T., Leite, J. H., Rosa, F. A., *et al.* (2015). Hypertension and its correlation with renal lesions in dogs with leishmaniosis. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 24, 45-51.

Brianti, E., Napoli, E., Gaglio, G., Falsone, L., Giannetto, S., Solari Basano, F., Nazzari, R., Latrofa, M. S., Annoscia, G., Tarallo, V. D., Stanneck, D., Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2016). Field Evaluation of Two Different Treatment Approaches and Their Ability to Control Fleas and Prevent Canine Leishmaniosis in a Highly Endemic Area. *PLoS neglected tropical diseases*, 10(9), e0004987.

Baxarias, M., Martínez-Orellana, P., Baneth, G., & Solano-Gallego, L. (2019). Immunotherapy in clinical canine leishmaniosis: a comparative update. *Research in veterinary science*, 125, 218–226.

Baxarias, M., Jornet-Rius, O., Donato, G., Mateu, C., Alcover, M. M., Pennisi, M. G., & Solano-Gallego, L. (2023). Signalment, Immunological and Parasitological Status and

Clinicopathological Findings of Leishmania-Seropositive Apparently Healthy Dogs. *Animals: an open access journal from MDPI*, 13(10), 1649.

- Brito, F. L. da C., Laus, J. L., Tafuri, W. L., Figueiredo, M. M., Silva Júnior, V. A., Maia, F. C. L., & Alves, L. C. (2010). Histopathological findings and detection of parasites in the eyes of dogs infected naturally with *Leishmania chagasi*. *Ciência Rural*, 40(5), 1141–1147.
- Burza, S., Croft, S. L., & Boelaert, M. (2018). Leishmaniasis. *Lancet (London, England)*, 392(10151), 951–970.
- Cacheiro-Llaguno, C., Parody, N., Renshaw-Calderón, A., Osuna, C., Alonso, C., & Carnés, J. (2020). Vaccination with LetiFend® reduces circulating immune complexes in dogs experimentally infected with *L. infantum*. *Vaccine*, 38(4), 890–896.
- Campino, L., & Maia, C. (2010). Epidemiologia das leishmanioses em Portugal [Epidemiology of leishmaniasis in Portugal]. *Acta médica portuguesa*, 23(5), 859–864.
- Cavalera, M. A., 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. *Parasites & vectors*, 14(1), 525.
- Cavalera, M.A., Gernone, F., Uva, A., Donghia R., Zizzadoro C., Zatelli A. (2022). Efficacy of domperidone plus renal diet in slowing the progression of chronic kidney disease in dogs with leishmaniosis. *Parasites Vectors* 15, 397.
- 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*, 14(1), 196.

- Coelho, E.A.F. & Christodoulides, M. (2023). Vaccines for Canine Leishmaniasis. *Vaccines for Neglected Pathogens: Strategies, Achievements and Challenges*.
- Cortadellas, O., del Palacio, M. J., Bayón, A., Albert, A., & Talavera, J. (2006). Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. *Journal of veterinary internal medicine*, 20(4), 941–947.
- Cortadellas, O., Fernández-del Palacio, M. J., Talavera, J., & Bayón, A. (2012). Serum phosphorus concentrations in dogs with leishmaniosis at different stages of chronic kidney disease. *The Veterinary record*, 164(16), 487–490.
- Cortadellas, O., Talavera, J., & Fernández del Palacio, M. J. (2014). Evaluation of the effects of a therapeutic renal diet to control proteinuria in proteinuric non-azotemic dogs treated with benazepril. *Journal of veterinary internal medicine*, 28(1), 30–37.
- Cortes, S., Afonso, M. O., Alves-Pires, C., & Campino, L. (2007). Stray dogs and leishmaniasis in urban areas, Portugal. *Emerging infectious diseases*, 13(9), 1431–1432.
- Cortes, S., Vaz, Y., Neves, R., Maia, C., Cardoso, L., & Campino, L. (2012). Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Veterinary parasitology*, 189(2-4), 189–196.
- Cortese, L., Sica, M., Piantedosi, D., Ruggiero, G., Pero, M. E., Terrazzano, G., Mastellone, V., & Ciaramella, P. (2009). Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary record*, 164(25), 778–782.
- Costa, F. A. L., Goto, H., Saldanha, L. C. B., Silva, S. M. M. S., Sinhorini, I. L., Silva, T. C., & Guerra, J. L. (2003). Histopathologic Patterns of Nephropathy in Naturally Acquired Canine Visceral Leishmaniasis. *Veterinary Pathology*, 40(6), 677–684.
- da Costa-Val, A. P., Cavalcanti, R. R., de Figueiredo Gontijo, N., Michalick, M. S., Alexander, B., Williams, P., & Melo, M. N. (2007). Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia*

(*Lutzomyia*) *longipalpis* infectivity. *Veterinary journal* (London, England: 1997), 174(3), 636–643.

da Justa Neves, D. B., Caldas, E. D., & Sampaio, R. N. R. (2009). Antimony in plasma and skin of patients with cutaneous leishmaniasis - relationship with side effects after treatment with meglumine antimoniate. *Tropical Medicine & International Health*, 14(12), 1515–1522.

Dantas-Torres, F., Miró, G., Baneth, G., Bourdeau, P., Breitschwerdt, E., Capelli, G., Cardoso, L., Day, M. J., Dobler, G., Ferrer, L., Irwin, P., Jongejan, F., Kempf, V. A. J., Kohn, B., Lappin, M., Little, S., Madder, M., Maggi, R., Maia, C., Marcondes, M., ... Otranto, D. (2019). Canine Leishmaniasis Control in the Context of One Health. *Emerging infectious diseases*, 25(12), 1–4.

Dantas-Torres, F., Nogueira, F. D. S., Menz, I., Tabanez, P., da Silva, S. M., Ribeiro, V. M., Miró, G., Cardoso, L., Petersen, C., Baneth, G., Oliva, G., Solano-Gallego, L., Ferrer, L., Pennisi, M. G., Bourdeau, P., Maia, C., Otranto, D., Gradoni, L., Courtenay, O., & Costa, C. H. N. (2020). Vaccination against canine leishmaniasis in Brazil. *International journal for parasitology*, 50(3), 171–176.

da Fonseca Júnior, J., Mazzinghy, C., França, E., Silva, A. C. & Almeida, K. (2021). Leishmaniose visceral canina: Revisão. *Pubvet*, 15, 1-8.

de Freitas, E., Melo, M. N., da Costa-Val, A. P., & Michalick, M. S. (2006). Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Veterinary parasitology*, 137(1-2), 159–167.

Daza González, M. A., Miró, G., Fermín Rodríguez, M., Rupérez Nogueira, C., & Fragío Arnold, C. (2019). Short term impacts of meglumine antimoniate treatment on kidney function in dogs with clinical leishmaniasis. *Research in veterinary science*, 126, 131–138.

Dos-Santos, W. L., Jesus, E. E., Paranhos-Silva, M., *et al.* (2008) Associations among immunological, parasitological and clinical parameters in canine visceral leishmaniasis:

emaciation, spleen parasitism, specific antibodies and leishmanin skin test reaction. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 123, 251-259.

ESCCAP (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites). 2023. GL5: Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats. Acedido a 7 de novembro de 2023, disponível em: https://www.esccap.org/uploads/docs/5y4xn3fr_0775_ESCCAP_Guideline_GL5_2_0221228_1p.pdf

Espejo, E., Alegre, M. D., Font, B., Font, A., Segura, F., & Bella, F. (1993). Antibodies to *Rickettsia conorii* in dogs: seasonal differences. *European journal of epidemiology*, 9(3), 344–346.

Fernandes, C. B., Junior, J. T., de Jesus, C., Souza, B. M., Larangeira, D. F., Fraga, D. B., Tavares Veras, P. S., & Barrouin-Melo, S. M. (2014). Comparison of two commercial vaccines against visceral leishmaniasis in dogs from endemic areas: IgG, and subclasses, parasitism, and parasite transmission by xenodiagnosis. *Vaccine*, 32(11), 1287–1295.

Fernández Cotrina, J., Iniesta, V., Monroy, I., Baz, V., Hugnet, C., Marañón, F., ... Alonso, C. (2018). A large-scale field randomized trial demonstrates safety and efficacy of the vaccine LetiFend® against canine leishmaniosis. *Vaccine*, 36(15), 1972–1982.

França-Silva, J. C., da Costa, R. T., Siqueira, A. M., Machado-Coelho, G. L., da Costa, C. A., Mayrink, W., Vieira, E. P., Costa, J. S., Genaro, O., & Nascimento, E. (2003). Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary parasitology*, 111(2-3), 161–173.

Gálvez, R., Miró, G., Descalzo, M. A., Nieto, J., Dado, D., Martín, O., Cubero, E., & Molina, R. (2010). Emerging trends in the seroprevalence of canine leishmaniasis in the Madrid region (central Spain). *Veterinary parasitology*, 169(3-4), 327–334.

Gálvez, R., Montoya, A., Fontal, F., Martínez De Murguía, L., & Miró, G. (2018). Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: A case of knowing your enemy. *Research in Veterinary Science*, 121, 94–103.

- Giapitzoglou, S., Saridomichelakis, M. N., Leontides, L. S., Kasabalis, D., Chatzis, M., Apostolidis, K., Theodorou, K., Roumpeas, E., & Mylonakis, M. E. (2020). Evaluation of serum symmetric dimethylarginine as a biomarker of kidney disease in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. *Veterinary parasitology*, 277, 109015.
- Giordano, A., & Paltrinieri, S. (2010). Interpretation of capillary zone electrophoresis compared with cellulose acetate and agarose gel electrophoresis: reference intervals and diagnostic efficiency in dogs and cats. *Veterinary Clinical Pathology*, 39(4), 464-473.
- Gizzarelli, M., Fiorentino, E., Ben Fayala, N. E. H., Montagnaro, S., Torras, R., Gradoni, L., Oliva, G., & Foglia Manzillo, V. (2020). Assessment of Circulating Immune Complexes During Natural and Experimental Canine Leishmaniasis. *Frontiers in veterinary science*, 7, 273.
- Gramiccia, M., & Gradoni, L. (2005). The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *International journal for parasitology*, 35(11-12), 1169–1180.
- Greene, C.E. (2006). Leishmaniasis. *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd edition). (pp. 685-698). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Hosein, S., Blake, D. P., & Solano-Gallego, L. (2017). Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. *Parasitology*, 144(1), 95–115.
- Ibiapina, A. B., Batista, F. M. A., Aguiar, B. G. A., Mendonça, V. J., Costa, D. L., Costa, C. H. N., & Abdala, C. V. M. (2022). Evidence map of diagnosis, treatment, prognosis, prevention, and control in visceral leishmaniasis. *Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health*, 46, e89.
- IRIS (International Renal Interest Society). (2019a) Utility of Creatinine, UPC, and SDMA in the Early Diagnosis of CKD in dogs and cats. Acedido a 5 de junho de 2023, disponível

em: http://www.iris-kidney.com/education/education/utility_creatine_early_diagnosis_ckd.html

IRIS (International Renal Interest Society). (2022). Hypertension. Acedido a 8 de junho de 2023, disponível em <http://www.iris-kidney.com/education/education/hypertension.html>

IRIS (International Renal Interest Society). (2023a). IRIS Staging of CKD. Acedido a 22 de abril de 2023, disponível em: <http://www.iris-kidney.com/>

IRIS (International Renal Interest Society). (2023b). IRIS Treatment Recommendations for CKD in Dogs. Acedido a 22 de abril de 2023, disponível em: <http://www.iris-kidney.com/>

IRIS Canine GN Study Group Standard Therapy Subgroup, Brown, S., Elliott, J., Francey, T., Polzin, D., & Vaden, S. (2013a). Consensus recommendations for standard therapy of glomerular disease in dogs. *Journal of veterinary internal medicine*, 27 Suppl 1, S27–S43.

IRIS Glomerular Disease Study Group, Goldstein, R. E., Brovida, C., Fernández-Del Palacio, M. J., Littman, M. P., Polzin, D. J., Zatelli, A., & Cowgill, L. D. (2013b). Consensus recommendations for treatment for dogs with serology positive glomerular disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 27 Suppl 1, S60–S66.

Jesus, L., Arenas, C., Domínguez-Ruiz, M., Silvestrini, P., Englar, R. E., Roura, X., & Leal, R. O. (2022). Xanthinuria secondary to allopurinol treatment in dogs with leishmaniosis: Current perspectives of the Iberian veterinary community. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, 83(January), 101783.

Kaempfle, M., Bergmann, M., Koelle, P., & Hartmann, K. (2023). High Performance Liquid Chromatography Analysis and Description of Purine Content of Diets Suitable for Dogs with *Leishmania* Infection during Allopurinol Treatment-A Pilot Trial. *Animals: an open access journal from MDPI*, 13(19), 3060.

- Kasabalis, D., Chatzis, M. K., Apostolidis, K., Xenoulis, P. G., Buono, A., Petanides, T., Leontides, L. S., Polizopoulou, Z. S., Steiner, J. M., Suchodolski, J. S., & Saridomichelakis, M. N. (2019). Evaluation of nephrotoxicity and ototoxicity of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination in dogs with leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: A randomized, blinded, controlled study. *Experimental parasitology*, 206, 107768.
- Koutinas, A. F., & Koutinas, C. K. (2014). Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Veterinary pathology*, 51(2), 527–538.
- LeishVet. (2022). *Canine and Feline Leishmaniosis: A Brief for the practicing Veterinarian*. 5th Edition March 2022. Acedido a 10 de junho de 2023, disponível em: <https://www.leishvet.org>
- Lima, W. G., Michalick, M. S., de Melo, M. N., Luiz Tafuri, W., & Luiz Tafuri, W. (2004). Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta tropica*, 92(1), 43–53.
- López, M. C., Bertolani, C., Sainz, A., Tabar, M. D., & Roura, X. (2022). Chronic diarrhea secondary to canine leishmaniosis: Case series. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*, 90-91, 101897.
- Maia, C., Dionísio, L., Afonso, M. O., Neto, L., Cristóvão, J. M., & Campino, L. (2013). Leishmania infection and host-blood feeding preferences of phlebotomine sandflies and canine leishmaniasis in an endemic European area, the Algarve Region in Portugal. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 108(4), 481–487.
- Maia, C., Altet, L., Serrano, L., Cristóvão, J. M., Tabar, M. D., Francino, O., Cardoso, L., Campino, L., & Roura, X. (2016). Molecular detection of *Leishmania infantum*, *filariae* and *Wolbachia spp.* in dogs from southern Portugal. *Parasites & vectors*, 9(1), 170.

- Maia, C., & Campino, L. (2018). Biomarkers Associated With *Leishmania infantum* Exposure, Infection, and Disease in Dogs. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 8, 302.
- Manna, L., Reale, S., Vitale, F., Picillo, E., Pavone, L. M., & Gravino, A. E. (2008). Real-time PCR assay in *Leishmania*-infected dogs treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 177(2), 279–282.
- Manna, L., Corso, R., Galiero, G., Cerrone, A., Muzj, P., & Gravino, A. E. (2015). Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasites & vectors*, 8, 289.
- 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. *Research in veterinary science*, 117, 18–27.
- 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. *Research in veterinary science*, 85(1), 35–38.
- Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Oliva, G., & Baneth, G. (2008). Canine leishmaniosis--new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. *Trends in parasitology*, 24(8), 371–377.
- Miró, G., Checa, R., Montoya, A., Hernández, L., Dado, D., & Gálvez, R. (2012). Current situation of *Leishmania infantum* infection in shelter dogs in northern Spain. *Parasites & vectors*, 5, 60.
- Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., Solano-Gallego, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., & Oliva, G. (2017). Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniosis. *Trends in parasitology*, 33(9), 718–730.

- Monteiro, M., Prata, S., Cardoso, L., Pereira da Fonseca, I., & Leal, R. O. (2022). Dogs with leishmaniosis: how are we managing proteinuria in daily practice? A Portuguese questionnaire-based study. *Parasites & vectors*, 15(1), 125.
- 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. *Parasites & vectors*, 14(1), 306.
- Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., & Corpas-Lopez, V. (2022). Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Veterinary sciences*, 9(8), 387.
- Moreno, J., & Alvar, J. (2002). Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. *Trends in parasitology*, 18(9), 399–405.
- Moreno J. (2019). Assessment of Vaccine-Induced Immunity Against Canine Visceral Leishmaniasis. *Frontiers in veterinary science*, 6, 168.
- Naranjo, C., Fondevila, D., Leiva, M., Roura, X., & Peña, T. (2005). Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, 133(1), 37–47.
- Nicolato, R. de C., de Abreu, R. T., Roatt, B. M., Aguiar-Soares, R. D., Reis, L. E., Carvalho, M.d, Carneiro, C. M., Giunchetti, R. C., Bouillet, L. E., Lemos, D. S., Coura-Vital, W., & Reis, A. B. (2013). Clinical forms of canine visceral Leishmaniasis in naturally *Leishmania infantum*-infected dogs and related myelogram and hemogram changes. *PloS one*, 8(12), e82947.
- Observatório Nacional das Leishmanioses (2011). Primeiro relatório regular da LEISHnet. *Veterinary Medicine*, Vol.13, nº 73, 31-36.
- Oliva, G., Scalone, A., Foglia Manzillo, V., Gramiccia, M., Pagano, A., Di Muccio, T., & Gradoni, L. (2006). Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections

examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *Journal of clinical microbiology*, 44(4), 1318–1322.

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. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(11), 1192–1198.

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., & Canine Leishmaniasis Working Group, Italian Society of Veterinarians of Companion Animals. (2010). Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236(11), 1184–1191.

Paltrinieri, S., Gradoni, L., Roura, X., Zatelli, A., & Zini, E. (2016). Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. *Veterinary clinical pathology*, 45(4), 552–578.

Paltrinieri, S., Mangiagalli, G., & Ibba, F. (2018). Use of urinary γ -glutamyl transferase (GGT) to monitor the pattern of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with N-methylglucamine antimoniate. *Research in veterinary science*, 119, 52–55.

Parody, N., Cacheiro-Llaguno, C., Osuna, C., Renshaw-Calderón, A., Alonso, C., & Carnés, J. (2019). Circulating immune complexes levels correlate with the progression of canine leishmaniosis in naturally infected dogs. *Veterinary parasitology*, 274, 108921.

Paulin, S., Carrapato, C., & Santos, L. (2018). Comparative efficacy assessment of a long-lasting insecticidal net and of a collar based on deltamethrin and pyriproxyfen to control leishmaniosis in a highly endemic canine area. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 13, 111-115.

Peña, M. T., Roura, X., & Davidson, M. G. (2000). Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). *Veterinary ophthalmology*, 3(1), 35–41.

- Pessoa-e-Silva, R., Vaitkevicius-Antão, V., Andrade, T. A. S., Silva, A. C. O., Oliveira, G. A., TrajanoSilva, L. A. M., Nakasone, E. K. N., & Paiva-Cavalcanti, M. (2019). The diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: Confronting old problems. *Experimental Parasitology*, 199, 9–16.
- Peters, N., & Sacks, D. (2006). Immune privilege in sites of chronic infection: *Leishmania* and regulatory T cells. *Immunological reviews*, 213, 159–179.
- Pineda, C., Aguilera-Tejero, E., Morales, M. C., Belinchon-Lorenzo, S., Gomez-Nieto, L. C., Garcia, P., Martinez-Moreno, J. M., Rodriguez-Ortiz, M. E., & Lopez, I. (2017). Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PloS one*, 12(10), e0185981.
- Pires, H., Martins, M., Matos, A. C., Cardoso, L., Monteiro, F., Roque, N., Nunes, T., Gottstein, B., & Cortes, H. (2019). Geospatial analysis applied to seroepidemiological survey of canine leishmaniosis in east-central Portugal. *Veterinary parasitology*, 274, 108930.
- Planellas, Marta & Roura, Xavier & Lloret, Albert. (2009). Presence of renal disease in dogs with patent leishmaniasis. *Parasitologia*. 51. 65-68.
- Plevraki, K., Koutinas, A. F., Kaldrymidou, H., *et al.* (2006). Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 20, 228-233.
- Proverbio, D., Spada, E., de Giorgi, G. B., & Perego, A. R. (2016). Proteinuria reduction after treatment with miltefosine and allopurinol in dogs naturally infected with leishmaniasis. *Veterinary world*, 9(8), 904–908.
- Reis, A. B., Teixeira-Carvalho, A., Vale, A. M., Marques, M. J., Giunchetti, R. C., Mayrink, W., Guerra, L. L., Andrade, R. A., Corrêa-Oliveira, R., & Martins-Filho, O. A. (2006). Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite

density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*. *Veterinary immunology and immunopathology*, 112(3-4), 102–116.

Ribeiro, R. R., da Silva, S. M., Fulgêncio, G.deO., Michalick, M. S., & Frézard, F. J. (2013). Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. *Revista brasileira de parasitologia veterinaria: Órgão Oficial do Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária*, 22(3), 373–378.

Ribeiro, R. R., Michalick, M. S. M., da Silva, M. E., Dos Santos, C. C. P., Frézard, F. J. G., & da Silva, S. M. (2018). Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. *BioMed research international*, 2018, 3296893.

Rodríguez-Cortés, A., Carrillo, E., Martorell, S., Todolí, F., Ojeda, A., Martínez-Flórez, A., Urniza, A., Moreno, J., & Alberola, J. (2016). Compartmentalized Immune Response in Leishmaniasis: Changing Patterns throughout the Disease. *PloS one*, 11(5), e0155224.

Roe, K., Pratt, A., Lulich, J., Osborne, C., & Syme, H. M. (2012). Analysis of 14,008 uroliths from dogs in the UK over a 10-year period. *Journal of Small Animal Practice*, 53(11), 634–640.

Roura, X., Breitschwerdt, E. & Hegarty, B. (2005). Serological Evidence of Exposure to *Rickettsia*, *Bartonella*, and *Ehrlichia* Species in Healthy or *Leishmania infantum*-Infected Dogs from Barcelona, Spain. *J Appl Res Vet Med*. 3.

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. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 198(1), 43–47.

Roura, X., Cortadellas, O., Day, M. J., Benali, S. L., Canine Leishmaniosis Working Group, & Zatelli, A. (2021). Canine leishmaniosis and kidney disease: Q&A for an overall management in clinical practice. *The Journal of small animal practice*, 62(1), E1–E19.

- Santos, M. F., Alexandre-Pires, G., Pereira, M. A., Marques, C. S., Gomes, J., Correia, J., Duarte, A., Gomes, L., Rodrigues, A. V., Basso, A., Reisinho, A., Meireles, J., Santos-Mateus, D., Brito, M. T. V., Tavares, L., Santos-Gomes, G. M., & da Fonseca, I. P. (2019). Meglumine Antimoniate and Miltefosine Combined With Allopurinol Sustain Pro-inflammatory Immune Environments During Canine Leishmaniosis Treatment. *Frontiers in veterinary science*, 6, 362.
- Santos, M. F., Alexandre-Pires, G., Pereira, M. A., Gomes, L., Rodrigues, A. V., Basso, A., Reisinho, A., Meireles, J., Santos-Gomes, G. M., & Pereira da Fonseca, I. (2020). Immunophenotyping of Peripheral Blood, Lymph Node, and Bone Marrow T Lymphocytes During Canine Leishmaniosis and the Impact of Antileishmanial Chemotherapy. *Frontiers in veterinary science*, 7, 375.
- Segarra, S., Miró, G., Montoya, A., Pardo-Marín, L., Boqué, N., Ferrer, L., & Cerón, J. (2017). Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, 239, 50–56.
- Serafim, T. D., Iniguez, E., & Oliveira, F. (2020). *Leishmania infantum*. *Trends in parasitology*, 36(1), 80–81.
- Shaw, S. E., Langton, D. A., & Hillman, T. J. (2009). Canine leishmaniosis in the United Kingdom: a zoonotic disease waiting for a vector?. *Veterinary parasitology*, 163(4), 281–285.
- Silva, J. L., Oliveira, V. V. G., Silva, L. A. M. T., E Silva, R. P., Alves, L. C., Cavalcanti, M. P., & Júnior, V. A. S. (2019). Evaluation of Serum Biochemical Parameters, Structural Changes, Immunohistochemistry and Parasite Load in the Urinary System of Dogs Infected Naturally by *Leishmania infantum*. *Journal of comparative pathology*, 167, 26–31.

- Solano-Gallego, L., Llull, J., Ramos, G., Riera, C., Arboix, M., Alberola, J., & Ferrer, L. (2000). The Ibizaian hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Veterinary parasitology*, 90(1-2), 37–45.
- Solano-Gallego, L., Morell, P., Arboix, M., Alberola, J., & Ferrer, L. (2001). Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and serology. *Journal of clinical microbiology*, 39(2), 560–563.
- Solano-Gallego, L., Fernández-Bellón, H., Morell, P., Fondevila, D., Alberola, J., Ramis, A., & Ferrer, L. (2004). Histological and immunohistochemical study of clinically normal skin of *Leishmania infantum*-infected dogs. *Journal of comparative pathology*, 130(1), 7–12.
- Solano-Gallego, L., Rodríguez-Cortés, A., Trotta, M., Zampieron, C., Razia, L., Furlanello, T., Caldin, M., Roura, X., & Alberola, J. (2007). Detection of *Leishmania infantum* DNA by fret-based real-time PCR in urine from dogs with natural clinical leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, 147(3-4), 315–319.
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., & Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, 165(1-2), 1–18.
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G., & The LeishVet Group (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & vectors*, 4, 86.
- Solano-Gallego, L., Villanueva-Saz, S., Carbonell, M., Trotta, M., Furlanello, T., & Natale, A. (2014). 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. *Parasites & vectors*, 7, 111.

- Solano-Gallego, L., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Petersen, C., Bourdeau, P., Oliva, G., Miró, G., Ferrer, L., & Baneth, G. (2017). Diagnostic Challenges in the Era of Canine *Leishmania infantum* Vaccines. *Trends in parasitology*, 33(9), 706–717.
- 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. *Parasitology research*, 120(1), 289–300.
- Toepp, A. J., & Petersen, C. A. (2020). The balancing act: Immunology of leishmaniosis. *Research in veterinary science*, 130, 19–25.
- Torrent, E., Planellas, M., Ordeix, L., Pastor, J., Rodon, J., & Solano-Gallego, L. (2018). Serum Symmetric Dimethylarginine as an Early Marker of Excretory Dysfunction in Canine Leishmaniosis (*L. infantum*) Induced Nephropathy. *Veterinary medicine international*, 2018, 7517359.
- Torres, M., Bardagí, M., Roura, X., Zanna, G., Ravera, I., & Ferrer, L. (2011). Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniosis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Veterinary journal (London, England: 1997)*, 188(3), 346–351.
- Torres, M., Pastor, J., Roura, X., Tabar, M. D., Espada, Y., Font, A., Balasch, J., & Planellas, M. (2016). Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis. *The Journal of small animal practice*, 57(6), 299–304.
- Travi, B. L., & Miró, G. (2018). Use of domperidone in canine visceral leishmaniasis: gaps in veterinary knowledge and epidemiological implications. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 113(11), e180301.
- Velez, R., & Gállego, M. (2020). Commercially approved vaccines for canine leishmaniosis: a review of available data on their safety and efficacy. *Tropical medicine & international health: TM & IH*, 25(5), 540–557.

Werneck, G. L., Costa, C. H., Walker, M., David, J. R., Wand, M., & Maguire, J. H. (2007). Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Epidemiology and infection*, 135(2), 195–201.

WHO, 2023. Leishmaniasis. Acedido a 2 de outubro de 2023 em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>.

Wilson, T. M., Magalhaes, L. F., Souza, R. R., Medeiros-Ronchi, A. A. & Limongi, J. E. (2017). Renal lesions in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Bioscience Journal* 33, 990-995.