

JOANA FILIPA BARRELA REBELO

**CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA LEISHMANIOSE
CANINA E A SUA IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA**

Orientadora: Professora Doutora Ana Maria Duque de Araújo Munhoz

**Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias
Faculdade de Medicina Veterinária**

**Lisboa
2021**

JOANA FILIPA BARRELA REBELO

**CONTRIBUIÇÃO PARA O ESTUDO DA LEISHMANIOSE
CANINA E A SUA IMPORTÂNCIA EM SAÚDE PÚBLICA**

Dissertação defendida em provas públicas para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Veterinária no Curso de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, perante o Despacho de Nomeação n.º 93/2021 no dia 9 de Abril de 2021, com a seguinte composição de júri:

Presidente: Professora Doutora Maria Margarida Alves

Arguente: Professor Doutor Luís Miguel Martins
Lucas Cardoso

Orientador: Professora Doutora Ana Maria Munhoz

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Faculdade de Medicina Veterinária

Lisboa

2021

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora Professora Doutora Ana Maria Araújo Munhoz por me ter ajudado, estar sempre disponível e por ter aceite a orientação da minha dissertação de mestrado.

À instituição da Universidade Lusófona e todo o corpo docente. Os inquiridos, que participaram neste estudo e tornaram possível a realização deste trabalho.

À Dra. Ana Ribeiro, Dra. Eunice Gonçalves e Andreia Ribeiro por me terem aceite na clínica, estarem serem disponíveis para esclareceram as minhas dúvidas e por me fazerem sentir parte da equipa.

Agradeço aos meus pais, por me apoiarem sempre, graças a eles consegui realizar o meu sonho, por me tentarem dar sempre tudo para me fazerem feliz. À minha irmã gémea Daniela, apesar de estarmos em faculdades diferentes tirámos o mesmo curso, esteve sempre a meu lado e por ter puxado por mim.

Aos meus avós que são muito importantes na minha vida, posso agradecer a eles a pessoa que sou hoje. Ao meu primo João por estar sempre presente.

Agradeço ao meu namorado por estar sempre a meu lado, e nos momentos mais difíceis deu-me sempre força para alcançar a meta.

A todos os amigas que a faculdade me deu: Cláudia Velho, Raquel Miranda, Inês Vieira, Clara Frade, Ana Fonseca, Pedro Viera, Ana Pires, Ana Clara Pinto, Priscila Bessa, tenho a certeza que sem eles teria sido bastante mais difícil acabar esta etapa da minha vida.

RESUMO

As leishmanioses são causadas pelo protozoário *Leishmania* sendo uma das principais zoonoses causadoras de doenças graves em todo o mundo. É uma doença endêmica em 98 países, e a sua distribuição está relacionada à presença dos vetores que são insetos pertencentes à subfamília Phlebotominae. Os insetos flebotomíneos são extremamente dependentes das condições de temperatura e humidade e a sua distribuição está relacionada aos locais propícios ao seu desenvolvimento. Por também possuírem características antropofílicas e a sua distribuição ser coincidente com a presença de hospedeiros infetados, torna-se um problema de saúde pública muito relevante. A leishmaniose é transmitida pela picada de fêmeas de flebotomíneos infetadas com o protozoário *Leishmania*. No meio urbano, o cão doméstico é o principal hospedeiro reservatório da doença.

Neste estudo realizou-se um inquérito direcionado a setenta Médicos Veterinários e a duzentos e vinte e três tutores de cães com o objetivo de obter o grau de informação que os tutores possuem relativamente à leishmaniose e o diagnóstico, tratamento e profilaxia mais frequentemente realizados pelos médicos veterinários.

Como respostas aos inquéritos, 4,04% dos tutores não sabiam o que é a leishmaniose e mais de metade (52,34%) não sabiam que a leishmaniose é uma zoonose.

Relativamente aos médicos veterinários verifica-se que 44,29% não recomendam o teste de animais saudáveis. Apesar de ser uma pequena parte ainda há médicos veterinários que não informam os tutores que se trata de uma zoonose.

Conclui-se que a população ainda não sabe muito sobre a doença e que se devia apostar mais na divulgação, sendo que os médicos veterinários têm um papel fundamental tanto na divulgação como na prevenção da mesma.

Palavras-chave: Cães, desparasitação, Leishmaniose, médicos veterinários, tutores.

ABSTRACT

Leishmaniosis is caused by the protozoan *Leishmania* and is one of the main zoonoses that cause serious diseases worldwide. It is an endemic disease in 98 countries, and its distribution is related to the presence of vectors that are insects belonging to the subfamily Phlebotominae. Phlebotomine insects depend extremely on temperature and humidity conditions and their distribution is related to the places favorable to their development. As they also have anthropophilic characteristics and their distribution coincides with the presence of infected hosts, it becomes a very relevant public health problem. Leishmaniosis is transmitted by the stinging of sandflies infected with the protozoan *Leishmania*. In the urban environment, the domestic dog is the main reservoir host of the disease.

In this study, research was carried out to define veterinarians and two hundred and twenty-three dog tutors in order to obtain the level of information that tutors have about leishmaniosis and the diagnosis, treatment and prophylaxis most frequently carried out by veterinary doctors.

In response to the inquiries, 4,04% of the tutors did not know what leishmaniosis is and more than half (52,34%) did not know that leishmaniosis is a zoonosis.

Regarding veterinarians, 44,29% do not recommend testing healthy animals. Despite being a small part, there are still veterinarians who do not inform tutors that they are dealing with a zoonosis.

It is concluded that a population still does not know much about the disease and that more should be invested in dissemination, and veterinarians have a fundamental role both in dissemination and in the same prevention of.

Keywords: Dogs, Leishmaniosis, deworming, guardians, veterinarians.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

ALT- Alanina aminotransferase
AMB- Anfotericina B
AST- Aspartato aminotransferase
BID- Bis in die (Duas vezes ao dia)
DC- Depois de cristo
DGS- Direção geral de saúde
ELISA- Enzyme-linked immunosorbent assay
EMA- European Medicines Agency
ESCCAP: European Scientific Counsel Companion Parasites
FAS- Fosfatase alcalina
FeLV- Feline Leukemia Virus
FIV- Feline Immnodefciency virus
HIV- Vírus da imunodeficiência humana
ICT- imunocromatografia
IFAT- Indirect immunofluorescent antibody test
IRIS- International Renal Interest Society
KG- Kilograma
LC- Leishmaniose cutânea
MAPA- Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
MCL- Leishmaniose mucocutânea
MG- Miligramas
NA- Não respondeu
OMS- Organização mundial de saúde
ONLeish: Observatório Nacional das Leishmanioses
OVH- Ovariohisterectomia
PAAF- Punção aspirativa de agulha fina
PCR- Polymerase chain reaction
PO- Por via oral (per os)
SC- Subcutâneo
SDMA- Dimetilargina simétrica
SID- Administração de 24 em 24 horas
UPC- Rácio proteína: creatinina na urina
WHO- World Health Organization

ÍNDICE GERAL

Capítulo I	12
1. Descrição do estágio curricular	12
Capítulo II	15
1. Introdução.....	15
1.1 História da Leishmaniose	15
1.2. Importância zoonótica.....	15
1.3. O género Leishmania	16
1.3.1 Taxonomia	16
1.3.2. Vetor	17
1.3.3. Ciclo de vida	18
1.4 Epidemiologia.....	20
1.5. Fatores de risco.....	22
1.6. Sinais clínicos cães	23
1.6.1. Atrofia muscular	23
1.6.2. Alterações cutâneas	24
1.6.3. Alterações oculares	24
1.6.4. Linfadenomegalia e esplenomegalia	25
1.6.5. Alterações hematológicas	25
1.7. Alterações laboratoriais:	26
1.8. Controle de vetores	27
1.9. Vacinas.....	28
1.10. Métodos de diagnóstico.....	29
1.10.1. Citologia.....	29
1.10.2. Avaliação histológica	30
1.10.3. Diagnóstico molecular.....	30
1.10.4. Cultura	31
1.10.5. Técnicas sorológicas.....	31
1.11. Tratamento	32
1.11.1. Antimoniato de meglumina.....	33
1.11.2. Alopurinol.....	34
1.11.3. Combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol	34
1.11.4. Dieta	34
1.11.5. Domperidona (Leisguard®).....	35
1.11.6. Miltefosina.....	35

1.11.7. Anfotericina B	35
1.11.8. Marbofloxacin	36
1.11.9. <i>Coriolus versicolor</i> (Corpet®).....	36
1.12. Recomendações para a monitorização durante e após o tratamento	36
1.13 Eutanásia	37
2. Objetivos do estudo	38
2.1. Materiais e Métodos.....	38
3. Resultados.....	39
3.1. Questionário destinado aos tutores	39
3.2. Questionário destinado aos médicos veterinários.....	46
4. Discussão	52
4.1. Dados relativos aos tutores	52
4.2. Dados relativos aos médicos veterinários.....	54
5. Conclusão.....	60
6. Referências bibliográficas	61

Lista de tabelas

Tabela 1- Vacinas anti- <i>Leishmania</i>	29
Tabela 2- recomendações para a monitorização durante e após o tratamento da leishmaniose canina	37
Tabela 3- Frequência relativa e absoluta da desparasitação externa realizada pelos tutores.	40
Tabela 4- Frequência relativa e absoluta à sintomatologia dos cães com Leishmaniose relatado pelos tutores	42
Tabela 5- Frequência do tratamento recomendado pelos médicos veterinários segundo os proprietários.....	43
Tabela 6- Frequência absoluta e relativa do tratamento optado pelos tutores.....	43
Tabela 7- Tratamento que o tutor optou que difere ao recomendado pelo médico veterinário.	44
Tabela 8- Método de diagnóstico mais utilizado pelos médicos veterinários.	48
Tabela 9- Frequência relativa das associações de fármacos usadas pelos médicos veterinários no tratamento da leishmaniose	50

Lista de figuras

Figura 1- Consulta de primovacinação.....	12
Figura 2- Raio-x abdominal com um corpo estranho no estômago.....	13
Figura 3 - Ovariohisterectomia (para remoção de piometra)	13
Figura 4 - Corpo estranho retirado do estômago de um cão	13
Figura 5- Amamentação de recém-nascido após cesariana.....	14
Figura 6- Cesariana realizada de bulldog francês.	14
Figura 7 - <i>Leishmania infantum</i> amastigotas em macrófagos aspirados de linfonodos poplíteos de cães (coloração de May-Grunwald-Giemsa, × 500).	17
Figura 8 - Flebótomo fêmea adulto a alimentar-se do hospedeiro.....	18
Figura 9- Ciclo de vida da <i>Leishmania</i>	19
Figura 10: Distribuição aproximada da leishmaniose canina na Europa.....	20
Figura 11- Onicogribose em cão com leishmaniose	24
Figura 12 - úlcera em nariz de cão com Leishmaniose	24
Figura 13- Lesão ocular (uveíte e conjuntivite) em cão com leishmaniose	25
Figura 14- Cão com caquexia, atrofia muscular e descamação excessiva	25
Figura 15- Cão com epistaxis.....	26
Figura 16- Fluxograma para a abordagem diagnóstica a cães não vacinados contra a leishmaniose canina	32

Lista de gráficos

Gráfico 1- Número de casos notificados de Leishmaniose Visceral por ano, de 1950-2016..	22
Gráfico 2- Frequências absoluta aos grupos etários de acordo com o gênero dos tutores. .	39
Gráfico 3- Frequências absoluta dos distritos de residência dos tutores.	39
Gráfico 4- Frequências absoluta do conhecimento dos tutores sobre a Leishmaniose.....	41
Gráfico 5- Frequências absoluta sobre se o cão tem Leishmaniose.....	41
Gráfico 6- Frequência absoluta ao conhecimento da existência de uma vacina contra a Leishmaniose	44
Gráfico 7- Frequência absoluta ao conhecimento dos tutores sobre ter que se testar o cão antes de administrar a vacina	45
Gráfico 8- Frequência absoluta ao conhecimento dos tutores sobre a continuidade do tratamento contra ectoparasitas em cães infetados com leishmaniose	45
Gráfico 9- Frequência absoluta ao interesse dos tutores em saber mais informações sobre a leishmaniose.....	46
Gráfico 10- Frequência absoluta do número de respostas a que cães era recomendado fazer o diagnóstico (com sintomatologia ou a todos)	47
Gráfico 11- Frequência absoluta das manifestações clínicas mais comuns (cutânea, mista ou visceral/sistêmica)	48
Gráfico 12- Frequência relativa dos sinais clínicos mais comuns verificados pelos médicos veterinários.	49
Gráfico 13- Frequência absoluta da recomendação de eutanásia quando o tutor não tinha possibilidade de realizar o tratamento	51

Capítulo I

1. Descrição do estágio curricular

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, foi realizado na área clínica de pequenos animais. Este estágio decorreu no Espaço Saúde Animal (ESA) na Pontinha. Teve início em Fevereiro de 2020 e terminou a Julho de 2020, correspondendo ao 2º semestre do ano letivo 2019/2020.

Durante o estágio foi possível assistir a consultas de oftalmologia, ortopedia, cardiologia e dermatologia. Nessas consultas foram realizados exames físicos (medição da temperatura retal, frequência cardíaca e respiratória, pulso, medição do tempo de repleção capilar) que era confirmado pelo médico veterinário, realização de contenção dos animais e auxílio na realização de exames complementares. Uma grande parte das consultas eram de vacinação e desparasitação. Nas consultas era recomendado fazer o teste FIV/FELV aos gatos e o teste da leishmaniose aos cães (se desse negativo era recomendado a vacina Letifend®).



Figura 1- Consulta de primovacinação. Original da autora.

Nas consultas de oftalmologia foi possível realizar o exame oftalmológico, onde se realizou o teste de Schirmer, examinou o fundo do olho, e ainda se realizou o teste de fluoresceína. A cirurgia observada foi uma enucleação, onde foi possível ajudar na preparação pré cirúrgica e monitorização anestésica.

Na radiologia foi possível auxiliar no posicionamento, contenção dos animais e quando necessário ajudar na sedação de animais agressivos.



Figura 2- Raio-x abdominal com um corpo estranho no estômago. Original da autora.

Nas consultas de dermatologia foi possível realizar tricogramas e raspagens de pele profundas e superficiais, com posterior observação ao microscópio ótico; pesquisa de dermatófitos com a lâmpada de Wood e realização de otoscopias (citologias auriculares).

Foi possível auxiliar nas cirurgias realizadas, tais como as cirurgias para remoção de corpo estranho, para resolução de hérnias, para remoção de massas tumorais, cesarianas e cirurgias ortopédicas. Foi também possível colocar cateteres intravenosos, realizar a tricotomia, administrar a medicação pré cirúrgica, verificar os sinais vitais, preparar o material cirúrgico e realizar a assepsia. Foi possível realizar a monitorização pós-cirúrgica dos animais, e prestar os cuidados pós-cirúrgicos. As cirurgias mais observadas durante o estágio foram as ovariectomias (OVH) e as orquiectomias e com o auxílio e supervisão do médico veterinário, foi possível realizar as mesmas, principalmente as orquiectomias.



Figura 3 - Ovariohisterectomia (para remoção de piometra) Original da autora



Figura 4 - Corpo estranho retirado do estômago de um cão. Original da autora

As urgências mais frequentes durante o estágio foram socorrer animais que sofreram traumatismos, realização de cesarianas de urgência em cadelas e gatas, atuar em reações alérgicas graves, em casos de dispneia e de obstrução urinária por cálculos presentes na bexiga.

Nas ecografias foi possível assistir a ecografias abdominais (confirmação de gestação, cistocentese para colher urina de forma assética, visualização cálculos na bexiga, ascite, renomegalia, atrofia renal entre outras alterações), ecocardiografias com doppler; punção aspirativa por agulha fina (PAAF) ecoguiada a massas e drenagem em casos de ascite e de derrame pleural, com a colheita do líquido de derrame e posterior análise citológica.

No internamento foi possível realizar os exames físicos, a monitorização pós cirúrgica, alimentar os animais, administrar a medicação (via oral, endovenosa, subcutânea ou tópica), medir a glicemia, medir a pressão arterial, realizar a colheita de sangue para hemograma e bioquímicas, preparar os sistemas e calcular as taxas de fluidoterapia e as doses de cada medicação.



Figura 5- Amamentação de recém-nascido após cesariana. Original da autora



Figura 6- Cesariana realizada de bulldog francês. Original da autora

Capítulo II- contribuição para o estudo da leishmaniose canina e a sua importância em saúde pública

1. Introdução

1.1 História da Leishmaniose

No primeiro século DC na cerâmica pré-inca do Equador e do Peru, podia-se observar imagens de lesões de pele e deformidades faciais, típicas da leishmaniose cutânea e mucocutânea (Lainson, 2010). A doença só ficou conhecida como Leishmaniose em 1900 por ser descrita por William Leishman, um médico que trabalhava no Exército Britânico na Índia, perto de Calcutá, em Dum Dum onde um soldado britânico apresentou febre, anemia, atrofia muscular e esplenomegalia. A partir deste doente, Leishman observou corpos ovóides em esfregaços do baço, publicando em 1903 os seus achados descrevendo-os como corpos ovóides provenientes de formas degeneradas de tripanossomas (Lainson, 2010).

Algumas semanas mais tarde, o médico irlandês Charles Donovan (1863–1951) publicou um artigo onde relatava a observação de corpos semelhantes em amostras esplênicas, na autópsia de índios nativos que morreram devido a febre e esplenomegalia (Steverding, 2017). Em 1908 foi descrito pelo bacteriologista Francês Charles Jules Henry Nicolle (1866–1936), as espécies que causavam a leishmaniose visceral, sendo estas denominadas *Leishmania infantum*, por terem sido observadas em crianças com anemia e alteração esplênica (Steverding, 2017). Quanto à descrição da leishmaniose animal, foi descrito por Nicolle e Compté em 1908, o primeiro caso de leishmaniose canina na Tunísia (Bettini & Gradoni, 1986).

1.2. Importância zoonótica

A leishmaniose é uma das doenças de maior impacto na saúde humana. É uma das principais zoonoses causadoras de doenças graves em todo o mundo (Martins-Sanchez *et al.*, 2007).

A distribuição dos vetores e as alterações climáticas podem ter efeitos importantes nos ecossistemas. Neste contexto as deficientes condições de vidas das populações e as alterações climáticas, podem agravar ainda mais as populações sob risco de contraírem a doença (Rangel *et al.*, 2014).

A leishmaniose ocorre em países de climas subtropicais ou tropicais e em ciclos antroponóticos e zoonóticos (Ashford, 2000).

A leishmaniose é causada por 21 espécies de *Leishmania* e na sua epidemiologia podem estar envolvidas várias espécies de mamíferos, que atuam como reservatórios, e

várias espécies de flebotomíneos que atuam como vetores desses protozoários, por este motivo são considerados o mais complexo conjunto de doenças transmitidas por vetores (Lainson & Shaw, 1979).

A epidemiologia da leishmaniose é apenas compreendida por meio do conhecimento dos elos que compõem o seu ciclo de transmissão, como os vetores, os reservatórios envolvidos e as suas relações ecológicas (Ferreira *et al.*, 2015).

Em Portugal a Leishmaniose é um problema de saúde pública porque afeta tanto os Humanos como os cães. Para o controlo e prevenção desta doença, deve ser aplicado o conceito “One Health” para que especialistas nas áreas de medicina humana, medicina veterinária, ciência ambiental e conservação da vida selvagem trabalhem juntos para o seu controlo (Sousa & Day, 2011).

1.3. O género *Leishmania*

1.3.1 Taxonomia

O género *Leishmania* pertence ao Reino Protista, à Classe Kinetoplastea, à subclasse Metakinetoplastina, à Ordem Trypanosomatida, à Família Trypanosomatidae, à Subfamília Leishmaniinae (Akhoundi *et al.*, 2016).

Existem aproximadamente 30 espécies de *Leishmania* que afetam os seres humanos e animais, mas nem todas as espécies têm importância médica, cerca de 20 são considerados patogénicas para o homem e 10 para os cães, incluindo: *L. infantum* (*L. chagasi*), *L. donovani*, *L. tropica*, *L. major*, *L. arabica*, *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. braziliensis*, *L. peruviana* e *L. colombiensi*s (Tuon *et al.*, 2008).

Leishmania infantum é a mais importante espécie no “Velho Mundo”, existindo no Sul da Ásia, no Irão, na Armênia, no Afeganistão, na Ásia Central e na China. *Leishmania chagasi* é a mesma espécie, mas no “Novo Mundo”, está presente na América Central e do Sul. Alguns autores referem que *L. infantum* tenha sido importada para a América, pelos cães dos colonizadores europeus, durante a colonização da América do Sul (Tuon *et al.*, 2008).

Embora *L. infantum* seja a única espécie disseminada na Europa que causa doença, casos em humanos devido a espécies não autóctones de *Leishmania* são cada vez mais relatados (Dujardin *et al.*, 2008).

A leishmaniose humana tem diferentes manifestações clínicas. A Leishmaniose visceral (LV), causada por *Leishmania donovani* no “Velho Mundo”, *Leishmania infantum* (*Leishmania chagasi*) no “Novo Mundo”, sendo esta a forma mais grave e se não for tratada, leva à morte. Existem várias espécies diferentes de *Leishmania* que causam leishmaniose cutânea (CL) ou mucocutânea (MCL), que apesar de serem fatais são responsáveis por uma

morbidade considerável, entre um grande número de pessoas em focos endêmicos (World Health Organization, 2019).

Em Portugal, as formas visceral e cutânea são causadas por *Leishmania infantum* (Campino & Abranches, 2002; Campino *et al.*, 2006).

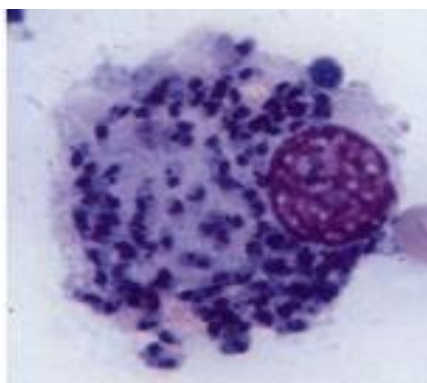


Figura 7 - *Leishmania infantum* amastigotas em macrófagos aspirados de linfonodos poplíteos de cães (coloração de May-Grunwald-Giemsa, × 500). (Greene, 2012).

1.3.2. Vetor

Os insetos flebótomos pertencem à ordem Diptera, à Família Psychodidae, e à Subfamília Phlebotominae (Galati, 2003). No mundo estão descritas mais de 900 espécies de flebótomos (Shimabukuro & Galati, 2010), e são os únicos animais invertebrados que transmitem o protozoário do género *Leishmania* (Volf *et al.*, 2008). O comprimento dos flebótomos é raramente superior a 3 mm, apresentam uma maior atividade crepuscular e noturna. Na Ásia e na região do Mediterrâneo são mais ativos na Primavera e no final do Outono, contudo algumas espécies na América Latina são ativas durante todo o ano. Alguns estudos demonstraram, que raramente se distanciam mais de 1 km dos locais de reprodução (Greene, 2012).

Os flebótomos machos e fêmeas alimentam-se de fontes naturais de açúcar, por exemplo a partir de plantas (Schlein & Warburg, 1986), sendo que apenas as fêmeas das várias espécies do género *Phlebotomus* se alimentam de uma mistura de sangue e linfa (telmofagia), e transmitem a leishmaniose enquanto se alimentam dos hospedeiros (European Scientific Counsel Companion Animal Parasites, 2019).

Os insetos têm duas formas de se alimentarem de sangue, a solenofagia e telmofagia. Na solenofagia, como por exemplo, os mosquitos da Família Culicidae e os Hemipteros da Família Reduviidae, utilizam uma probóscide longa e flexível para retirarem sangue diretamente dos vasos sanguíneos e alguns do sangue extravascular. Na telmofagia, os insetos geralmente possuem uma probóscide curta e rompem os pequenos vasos, originando uma espécie de microhemorragia, onde sugam o sangue (Gordon *et al.*, 1952).



Figura 8 - Flebótomo fêmea adulto a alimentar-se do hospedeiro. Fonte: <https://pt.wikipedia.org/wiki/Phlebotominae>.

1.3.3. Ciclo de vida

O género *Leishmania* para completar o seu ciclo de vida necessita de dois hospedeiros, um artrópode vetor flebotômíneo onde se encontra a forma promastigota extracelular flagelada, e um hospedeiro vertebrado, mais frequentemente um mamífero onde a forma amastigota intracelular se forma (Killick-Kendrick, 1999). A transmissão de *L. infantum* ocorre pela ingestão de eritrócitos e células do sistema mononuclear fagocitário pelo inseto, contendo formas amastigotas de *Leishmania* no seu intestino, o parasita passa por diversas fases até chegar a forma flagelada infetante promastigota metacíclica. A forma promastigota final e é aquela que é transmitida para um novo hospedeiro vertebrado, completando o ciclo de vida. O parasita é transmitido ao hospedeiro vertebrado pela picada dos flebotomos fêmeas, que durante o seu repasto sanguíneo, injetam promastigotas metacíclicas na pele do hospedeiro, havendo a transmissão e início de um novo ciclo biológico (Killick-Kendrick, 1999, Kamhawi, 2006). Uma fêmea de flebotomíneo infetada com *Leishmania*, regurgita sob a pele do hospedeiro cerca de 100 a 1000 promastigotas metacíclicas no momento da picada (Rogers *et al.*, 2004).

A transformação em amastigotas ocorre após a primeira interação com a pele e são transportados para os linfonodos regionais através de macrófagos infetados (Saridomichelakis, 2009).

Em áreas da pele com pouco pêlo são aquelas onde os flebotomos alimentam-se, nestes locais ocorre a fagocitose por macrófagos quando o parasita tem acesso à derme do hospedeiro vertebrado. O macrófago envolve o parasita em um vacúolo de fagocitose e tenta eliminá-lo, contudo o parasita tenta fugir a essas defesas para conseguir sobreviver e para se multiplicar nos macrófagos. A infeção depende da eficiência da resposta do sistema imunitário do hospedeiro (Alvar *et al.*, 2004).

Após ocorrer a multiplicação do parasita nas células dendríticas e nos macrófagos da

pele, a disseminação ocorre através do sistema linfático e circulatório. O parasita pode ser encontrado na pele, nos nódulos linfáticos, no baço, no fígado, na medula óssea, no intestino, na saliva, no sêmen, na conjuntiva e na urina (ESCCAP, 2019).

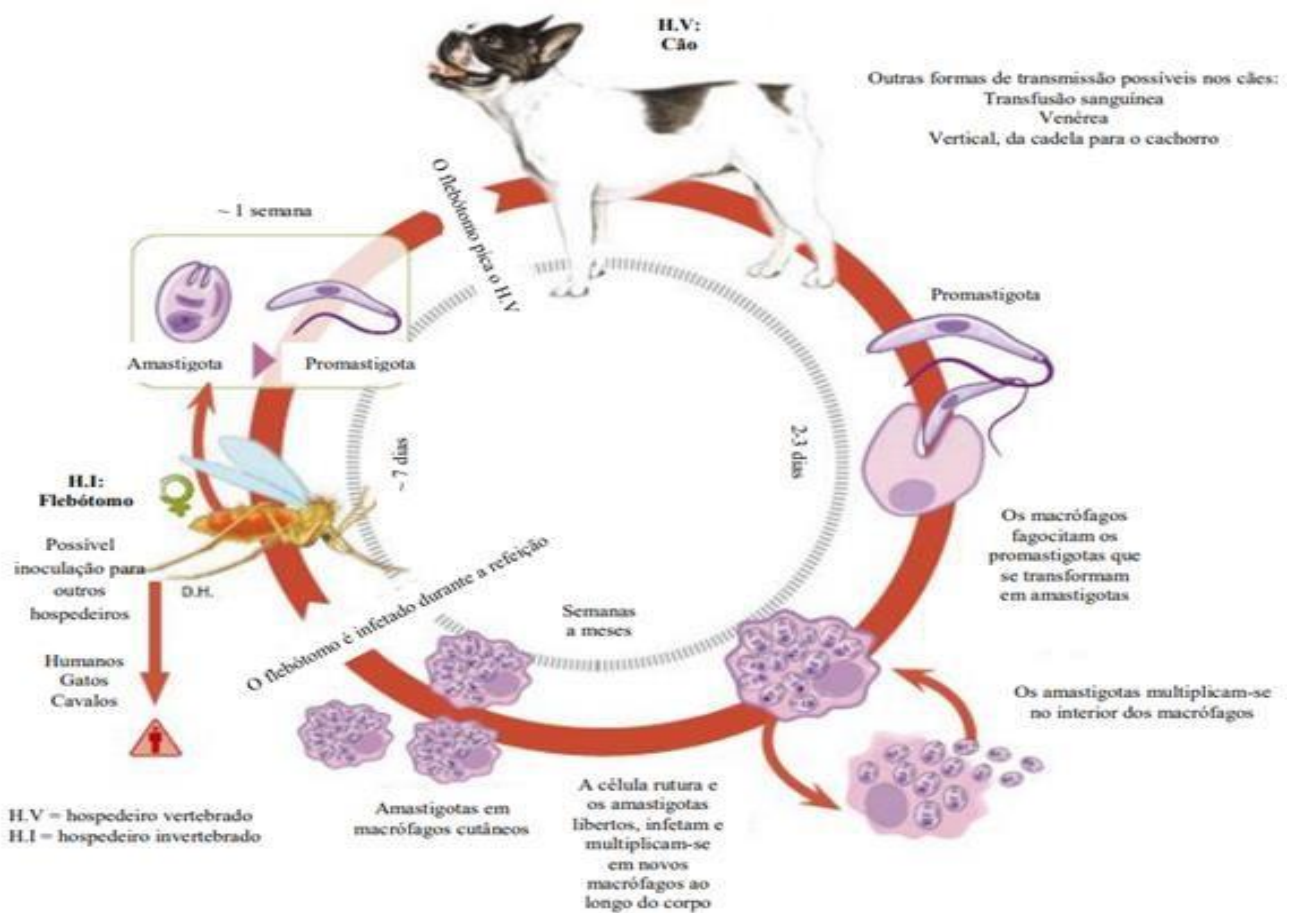


Figura 9- Ciclo de vida da *Leishmania* (adaptado de Beugnet *et al.*, 2018).

Os casos que se verificaram em locais onde não existe a presença de flebótomos, apontam para a existência de outras formas de transmissão em cães, como a transmissão por via sexual ou venérea, por via transplacentária, e através de transfusões sanguíneas ou de órgãos. Segundo Karkamo (2014), a via sexual é possível devido as formas parasitárias de *Leishmania* poderem ser excretadas intermitentemente através do sêmen e transmitida de machos infectados para fêmeas, com uma taxa variável durante o acasalamento.

O contágio direto entre cães, ou de cão para humano, é muito raro, e se ocorrer é porque existiu contato de uma ferida com um exsudado rico em *Leishmania* com outra ferida. (Beugnet *et al.*, 2018). O período de incubação depende da resposta imunológica dos cães que pode variar de três meses a vários anos (ESCCAP, 2019).

1.4 Epidemiologia

A Leishmaniose é uma doença endêmica em 98 países, sendo provocada por protozoários e transmitida por fêmeas de espécies pertencentes à subfamília Phlebotominae (WHO, 2010). O cão doméstico é o principal hospedeiro reservatório da doença (Cortes *et al.*, 2012).

No sul da Europa a leishmaniose canina é endêmica, e em populações expostas a prevalência da infecção pode ser de até 60%. Na Figura 10 pode ser observada as principais áreas endêmicas (ESCCAP 2019).

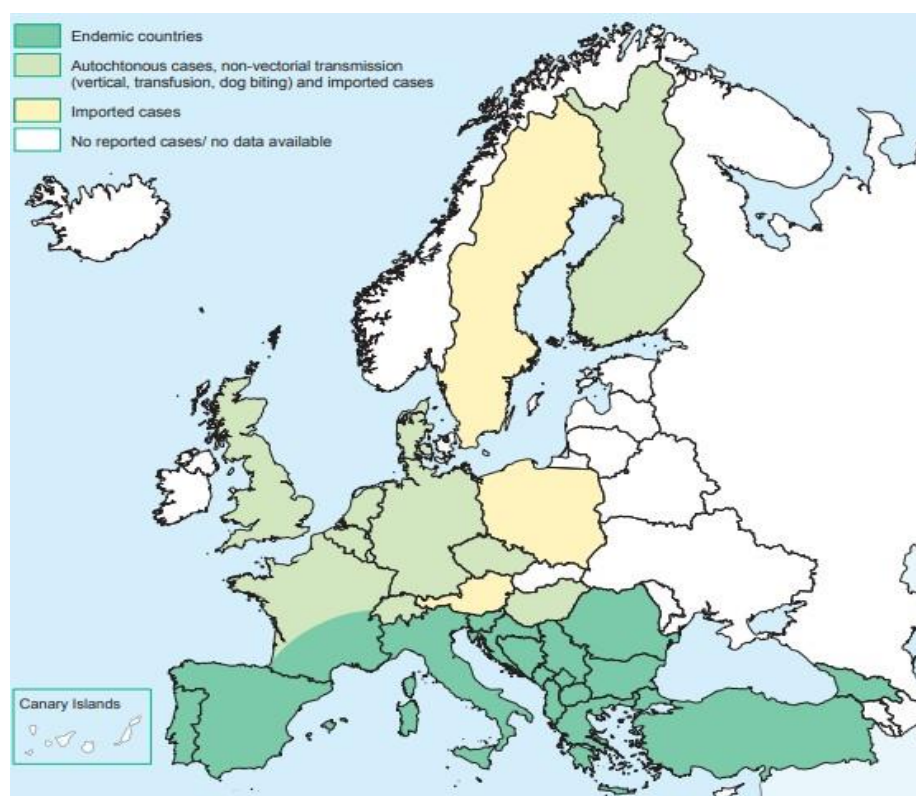


Figura 10: Distribuição aproximada da leishmaniose canina na Europa (ESCCAP 2012–2019).

A leishmaniose canina é endêmica na bacia do Mediterrâneo, incluindo os países europeus como Chipre, Grécia, Albânia, Croácia, Itália, Malta, França, Espanha e Portugal (Maia & Cardoso, 2015). No sudoeste da Europa, pelo menos 2,5 milhões dos cães estão infectados, estando-se a espalhar para o norte no sopé dos Alpes e dos Pirenéus. Na América do Sul também existem milhões de casos de cães infectados com Leishmaniose,

principalmente em algumas áreas da Venezuela e do Brasil, onde existe um alto risco de os humanos desenvolverem a doença, devido a uma alta prevalência da doença nos cães (Baneth *et al.*, 2008).

Em Portugal a leishmaniose é endêmica, segundo estudos realizados entre 1986 a 2006, que indicaram que o nível de seropositividade era de 4% a 21% (ONLeish, 2011). A doença foi registada em cães no ano de 1911, na área Metropolitana de Lisboa (Pereira, 2008).

Num estudo realizado na área metropolitana de Lisboa, através do diagnóstico por métodos sorológicos entre 1 de dezembro de 2002 a 31 de dezembro 2003, em 374 cães, mostrou que 19,2% testaram positivos. Dos 374 cães, 277 cães tinham tutores e 97 encontravam-se em canis públicos, a prevalência de cães positivos com tutores foi de 18.4% (51/277) e de cães de canil de 21.6% (21/97) (Cortes *et al.* 2007).

Em Janeiro de 2009 outro estudo foi realizado em todos os distritos de Portugal continental (Beja, Bragança, Castelo Branco, Évora, Guarda, Portalegre, Santarém, Vila Real, Viseu, Aveiro, Braga, Coimbra, Faro, Leiria, Lisboa, Porto, Setúbal e Viana do Castelo) dos 3974 cães testados, 233 (5.6%) dos cães tiveram resultado positivo. Os distritos com maior prevalência de Leishmaniose foram Castelo Branco (17,4%), Portalegre (12,5%) e Beja (12,1%). Os distritos com menor prevalência foram Viana do Castelo (0,94%), Aveiro (1,39%) e Braga (2,14%). Neste estudo foi observado que nos distritos com as temperaturas mais altas foi verificada uma maior prevalência, o que pode ser explicado por favorecer a maior atividade do flebótomo, e por isso a existência de mais casos (Cortes *et al.* 2012).

O primeiro caso de leishmaniose humana em Portugal, foi detetado numa criança de Lisboa, com nove anos por Dionísio Alvares em 1910 (Alvares, 1910). Em 1911 Alvares & Silva realizaram um estudo em cães da região de Lisboa onde oito dos trezentos cães estavam positivos para leishmaniose (Alvares & Silva, 1911). Desde 1950 que a leishmaniose passou a ser uma doença de declaração obrigatória em Portugal (Abranches e Pires, 1980).

A leishmaniose visceral (LV) humana, também conhecida como kala-azar, em 95% dos casos quando não é realizado o tratamento, é uma doença fatal. O Brasil, a África Oriental e a Índia são regiões onde ocorrem maior número dos casos. Apesar de ser uma doença endêmica, apenas 25 a 45% dos casos são notificados à OMS, mas estima-se que ocorram 50.000 a 90.000 novos casos anualmente em todo o mundo, sendo uma das principais doenças parasitárias com a ocorrência de surtos e com potencial de mortalidade (WHO, 2020).

Em 2018 foi notificado pela OMS que mais de 95% dos novos casos descritos, ocorreram em 10 países: No Brasil, na China, na Etiópia, na Índia, no Iraque, no Quênia, no

Nepal, na Somália, no Sudão do Sul e no Sudão. A leishmaniose cutânea (LC) é a forma mais comum de leishmaniose nos Humanos (WHO, 2020).

As pessoas infetadas com *Leishmania* e HIV têm maior probabilidade de desenvolver sintomatologia, e as taxas de recidiva e de mortalidade são também mais altas. O tratamento antirretroviral reduz o desenvolvimento da doença, retarda as recidivas e aumenta a sobrevida dos pacientes coinfectados (WHO, 2020).

Entre 2013 e 2016, segundo o relatório das Doenças de Declaração da Direção Geral da Saúde (DGS), foram notificados 35 casos de leishmaniose (30 confirmados e 5 prováveis), sendo a maioria adultos com idades entre os 55-64 anos.



Gráfico 1- Número de casos notificados de Leishmaniose Visceral por ano, de 1950-2016 (Direção Mundial de Saúde (DGS): doenças de declaração obrigatória 2013-2016 volume I- Portugal)

1.5. Fatores de risco

Segundo alguns autores o risco de infeção aumenta com a idade, visto que à medida que os animais envelhecem, o período de potencial exposição ao parasita é maior (Beugnet *et al.*, 2018). O estilo de vida do cão tem uma grande importância sobre o risco de infeção, pois cães que vivem no exterior como por exemplo os cães de guarda e os cães pastores, são mais suscetíveis à picada do mosquito (Beugnet *et al.*, 2018). Um estudo realizado por Cortes *et al* (2012), mostrou que cães que vivem no exterior ou que tem acesso ao exterior têm maior risco de ficarem infetados com Leishmaniose. Neste estudo observou-se que, em que 2,83 % dos cães positivos tinham um estilo de vida exclusivamente no interior e 8,94% dos cães positivos um estilo de vida exclusivamente no exterior.

Relativamente à idade, a maior prevalência foi em cães com 3 anos de idade e com 7-8 anos, segundo o estudo de Moreno & Alvar (2002). Segundo Cortes *et al.* (2012) não houve diferenças significativas na prevalência em relação ao género dos cães (machos e fêmeas).

Segundo um estudo realizado por França-Silva *et al.* (2003), os animais de pêlo curto tinham um risco aumentado de serem infetados (número de casos positivos com pêlo comprido 389/824 e número de cães positivos com pêlo curto 435/824), embora os flebotomíneos prefiram alimentar-se do focinho dos cães, que está sempre descoberto, independente do tamanho do pêlo (Killick-Kendrick, 1999). Segundo o estudo realizado por Miranda *et al.* (2008) as raças mais afetadas foram o Pastor Alemão, Rottweiler e Boxer.

1.6. Sinais clínicos cães

Os sinais clínicos aparecem após um período de incubação muito variável, normalmente entre três meses a um ano após a infeção, de modo que a Leishmaniose pode ser observada em cães que vieram de áreas enzoóticas, há vários meses e até mesmo vários anos antes. Como o período de incubação é longo, a sorologia é muitas vezes positiva, quando os sinais clínicos começam a aparecer (Beugnet *et al.*, 2018). Como a Leishmaniose é uma doença sistémica, manifesta-se por sinais clínicos inespecíficos e pode envolver qualquer órgão, tecido ou fluido corporal (Solano-Gallego *et al.* 2011).

Num estudo realizado por Cortes (2012) dos 227 cães positivos, 122 cães não tinham sinais clínicos de Leishmaniose.

Os principais sinais clínicos encontrados no exame físico incluem: lesões cutâneas, linfadenomegalia generalizada, perda progressiva de peso, atrofia muscular, intolerância ao exercício, diminuição do apetite, letargia, esplenomegalia, poliúria e polidipsia, assim como lesões oculares, epistáxis, vômitos e diarreia (Ciaramella *et al.*, 1997; Koutinas *et al.*, 1999; Baneth *et al.*, 2008).

1.6.1. Atrofia muscular

No exame físico é possível detetar perda muscular, que afeta primeiro a cabeça, especialmente os músculos temporais e da mandíbula, e mais tarde os membros ficam também mais finos. A perda de peso acompanha a perda muscular, e verifica-se a presença de hipertermia inconstante, encontrada principalmente em cães jovens com menos de 2 anos de idade (Beugnet *et al.*, 2018). Isto ocorre pela deposição de imunocomplexos no músculo mastigatório e esquelético, ou pode ser causada pelo parasita ao provocar danos musculares, visto que em biópsias musculares encontrou-se formas amastigotas de *Leishmania infantum* (Vamvakidis *et al.*, 2000).

1.6.2. Alterações cutâneas

As lesões cutâneas são as manifestações mais comuns em cães internados para o tratamento devido à doença (Ciaramella *et al.*, 1997; Koutinas *et al.*, 1999). Os sinais dermatológicos mais comuns observados em cães com leishmaniose são: dermatite esfoliativa, dermatite ulcerativa e onicogribose (Ordeix *et al.*, 2017).

A onicogribose ocorre devido a multiplicação da *Leishmania* na matriz das unhas, levando ao rápido e constante crescimento destas (Beugnet *et al.*, 2018).

Na dermatite ulcerativa ocorrem danos na pele e nas mucosas, provocando o aparecimento de úlceras, com um fluido seroso rico em *Leishmania*. Os locais mais comuns para o seu aparecimento são o ouvido interno, as patas (causando dor e claudicação), a mucosa pituitária (causando epistáxis), e a mucosa oral e digestiva. Relativamente à dermatite esfoliativa, pode estar associada à hiperqueratose, em que a epiderme engrossa e torna-se pigmentada (melanose), geralmente no nariz e nos ouvidos. Também pode haver a formação de nódulos subcutâneos, devido à proliferação de macrófagos, sendo estes nódulos palpáveis e indolores; a raça que mais apresenta estes nódulos são os Boxers. A alopecia difusa é mais pronunciada nos membros e cabeça, incluindo a área à volta dos olhos, dos ouvidos e da cauda (Beugnet *et al.*, 2018).

As manifestações cutâneas menos comuns são: despigmentação, paniculite, hiperqueratose digital e nasal e erupção pustular (Blavier *et al.*, 2001; Papadogiannakis *et al.*, 2005).



Figura 11- Onicogribose em cão com leishmaniose (Baneth *et al.*, 2008).



Figura 12 - úlcera em nariz de cão com Leishmaniose (Baneth *et al.*, 2008).

1.6.3. Alterações oculares

As lesões oculares estão presentes em 16% a 80,5% dos cães com leishmaniose, e consistem na uveíte anterior, na conjuntivite, na queratoconjuntivite seca, na blefarite ou

numa combinação destas (Baneth *et al.*, 2008). Todos os tecidos do globo ocular podem ser afetados, e na fase mais avançada da doença é comum ocorrer atrofia da íris, deslocamento da retina, úlceras da córnea, glaucoma, cataratas e exoftalmia. Pode surgir também a perda de visão em 10% dos cães afetados (Alexandre-Pires & Correia, 2008). Apenas 5,7% dos cães com leishmaniose e com hipertensão, tinham consequências oculares de hipertensão, como o descolamento da retina e hifema (Cortadellas *et al.*, 2006).

1.6.4. Linfadenomegalia e esplenomegalia

Em cães com Leishmaniose, pode ocorrer a linfadenomegalia, onde os linfonodos podem estar aumentados duas a seis vezes mais, e também é frequente ocorrer a esplenomegalia (Greene, 2012). Os linfonodos mais afetados são os pré-escapulares e menos frequentemente os poplíteos (Ciaramella *et al.*, 1997). Nos cães sintomáticos, a esplenomegalia é detetada em 10% a 53%, isto ocorre porque na estrutura esplênica existem modificações com a ocorrência da proliferação de monócitos e macrófagos (Baneth *et al.*, 2008). Para se detetar a esplenomegalia, deve-se realizar exames complementares de diagnóstico como o raio-x e a ecografia (Koutinas *et al.*, 1999).



Figura 13- Lesão ocular (uveíte e conjuntivite) em cão com leishmaniose (Greene, 2012).



Figura 14- Cão com caquexia, atrofia muscular e descamação excessiva (Greene, 2012).

1.6.5. Alterações hematológicas

Na leishmaniose pode ocorrer epistáxis (sangramento nasal), diarreia hemorrágica e hematúria. Estes sinais clínicos ocorrem quando existem alterações na hemostasia primária e secundária e ulceração do tecido (Baneth *et al.* 2008).

As alterações sanguíneas e bioquímicas geralmente encontradas são: a anemia, a leucopenia e trombocitopenia. A leucopenia é normalmente acompanhada de monocitose e de hiperproteinemia. As globulinas aumentam, resultando em uma reversão da relação albumina/globulina de 1 a 0,3-0,1. (Beugnet *et al.*, 2018). Em cães com doença renal crônica

ou com uma diminuição da eritropoiese, a anemia está também presente (Baneth *et al.*, 2008).

A anemia normalmente é não regenerativa, normocítica e normocrômica, e pode também ocorrer quando o cão apresenta hemorragias (epistáxis, diarreia hemorrágica) (Koutinas,1999). Quando estão presentes distúrbios hemostáticos, devido ao baixo número de plaquetas, ocorre uma diminuição dos fatores de coagulação e do fibrinogénio (Baneth *et al.*, 2008).



Figura 15- Cão com epistaxis (Greene, 2012).

1.7. Alterações laboratoriais:

Em cães com leishmaniose é muito importante avaliar a função renal, uma vez que a leishmaniose está associada a uma alta prevalência de doença renal crónica (Costa *et al.*, 2003). Para o estadiamento da doença renal crónica, segundo as *guidelines* da International Renal Interest Society (IRIS), existem 4 estadios, que são definidos com base na medição sanguínea da creatinina ou da dimetilarginina simétrica (SDMA) preferencialmente de ambas, com o animal em jejum, e devem ser avaliados num paciente hidratado e estável. De acordo com a IRIS, para o subestadiamento deve-se aferir se o cão tem proteinúria, e medir a pressão arterial sistémica (IRIS 2019). O diagnóstico precoce da doença renal é muito importante, de forma a instituir o tratamento o mais rapidamente possível, e assim tentar prolongar a vida do animal. A doença renal pode ser a única manifestação clínica, e pode progredir desde uma proteinúria leve a uma síndrome nefrótica ou doença renal em estadio terminal. A insuficiência renal crónica (IRC) é uma manifestação grave da progressão da doença e é a principal causa de morte em cães com leishmaniose (Costa *et al.*, 2003; Zatelli *et al.*, 2003).

A lesão hepática tende a normalizar com o tratamento (Ciaramella & Corona, 2003). Os valores que podem estar aumentados a nível hepático são: a alanina amino-transferase

(ALT), a fosfatase alcalina (FAS) e a amino-transferase (AST) (Fayet, 1999; Trotz-Williams & Gradoni, 2003).

A densidade urinária em cães com leishmaniose tende a diminuir, por isso, é importante realizar uma urianálise; É também importante avaliar o sedimento, o pH e a presença de proteínas na urina, de forma a verificar se o animal tem proteinúria, sendo este um fator de risco para a progressão da nefropatia. A colheita de urina deve ser feita de forma asséptica, por cistocentese. O rácio proteína creatinina urinária (UPC) serve para classificar a proteinúria e ao longo do tratamento e deve ser avaliada, para verificar se é necessário fazer alguma alteração na terapêutica (Paltrinieri *et al.*, 2016).

1.8. Controle de vetores

Para o controle da infeção, devem ser implementadas medidas profiláticas, através do uso de inseticidas e repelentes, que impeçam a proliferação dos vetores ou a picada dos mesmos. A maioria dos inseticidas contém piretróides, normalmente em combinação com outros inseticidas, que aumentam a eficácia. A prevenção da picada dos flebótomos, deve ser feita através do uso de repelentes e de inseticidas, através das formulações existentes no mercado (os spot-on, os sprays ou as coleiras impregnadas), sendo este o melhor método para evitar a infeção por *L. infantum* em cães, e assim reduzir o risco de infeção humana (Brianti *et al.*, 2016). Manter o cão dentro de casa, desde o anoitecer até ao amanhecer, e a redução de habitats favoráveis aos flebótomos são outras medidas para a prevenção da picada (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

Nas soluções tópicas de spot-on de permetrina / imidacloprida, a administração deve ser feita a cada 3 semanas (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Uma das fórmulas disponíveis comercialmente, mais eficazes na prevenção da leishmaniose, é a combinação de 10% de imidaclopride e 50% de permetrina (Advantix®, Bayer), contudo o seu efeito é menos duradouro que o das coleiras de deltametrina (Reguera, 2016). O efeito repelente é eficaz por até 21 dias, e em áreas endémicas os cães devem ser tratados a cada 3 semanas, para reduzir o risco da picada do flebótomo (Reguera, 2016).

As coleiras impregnadas com 4% de deltametrina, impedem a alimentação de flebótomos por um período de 5-6 meses, e devem ser aplicadas pelo menos 1-2 semanas antes de viajar para locais endémicos (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Existe também uma coleira, que contém uma combinação de 10% de imidaclopride e 4,5% de flumetrina, que em quase 100% dos casos mostrou um alto efeito profilático contra *L. infantum* (Otranto *et al.*, 2013). Esta coleira (Seresto®, Bayer Animal Health) liberta lentamente os princípios ativos, que conferem proteção eficaz de até 8 meses (Brianti *et al.*, 2016).

1.9. Vacinas

Em 2011 foi licenciada na Europa, a primeira vacina contra a leishmaniose CaniLeish® (European Medicines Agency, 2011), com um protocolo de vacinação inicial de 3 doses, sendo a primeira dose administrada a partir dos 6 meses de idade, a segunda dose 3 semanas depois, a terceira dose 3 semanas após a 2ª injeção, e após a terceira injeção, repetir anualmente. Após a administração, pode ocorrer reações locais como tumefação, nódulos, dor à palpação ou eritema, que desaparecem espontaneamente em 2 a 15 dias. Embora seja raro, pode ocorrer uma reação mais grave no local de injeção, com necrose ou vasculite, podendo ocorrer também hipertermia, apatia, e alterações digestivas durante 1 a 6 dias após a vacinação (EMA, 2011).

Segundo o estudo realizado por Oliva em 2014, a vacina foi bem tolerada e o efeito adverso mais observado foi edema no local da injeção, que se resolveu espontaneamente dentro de 2 a 8 dias e não foi registada a presença de nódulos.

Em 2017, a vacina Letifend® ficou disponível para uso na Europa, podendo ser administrada a partir dos 6 meses, em cães não infetados, de forma a reduzir o risco de desenvolvimento de uma infeção ativa e/ou doença clínica, após a exposição a *Leishmania infantum*. Só podem ser vacinados apenas os animais saudáveis e não infetados. Após a vacinação, observa-se que os cães coçam o local de injeção (Laboratorios LETI, Espanha).

Num estudo realizado para verificar a eficácia e segurança com 549 cães saudáveis e soronegativos (309 em Espanha e 240 em França), durante 2 anos foram expostos de forma natural à leishmaniose e não foi usado nenhum antiparasitário tópico ou sistémico contra flebótomos, mas foi possível utilizar medicação para doenças concomitantes. Os animais foram divididos em dois grupos, um que recebeu a vacina e outro grupo controlo. No grupo controlo verificou-se que 10,2% desenvolveram a doença e apenas 4,7% dos cães vacinados desenvolveram a doença. A eficácia da vacina está avaliada em 72% na prevenção de casos clínicos de leishmaniose canina em zonas endémicas (Cotrina *et al.*, 2018).

Tabela 1- Vacinas anti-*Leishmania* (Adaptado de Leishvet, 2018)

Nome comercial (fabricante)	Protocolo de vacinação	Eficácia vacinal	Interferência no diagnóstico
CaniLeish® (Virbac Santé Animale)	Primovacinação com três doses (SC*), com intervalos de 21 dias; revacinação anual (uma dose)	68.4%	Deteção de anticorpos vacinais com testes quantitativos (ELISA, IFAT). Deteção rara de anticorpos vacinais com Speed Leish K™
Letifend® (Laboratorios Leti)	Primovacinação com uma dose (SC*); revacinação anual	72%	Não deteta anticorpos vacinais através de testes quantitativos (IFAT, ELISA) ou de testes rápidos

ELISA-ensaio imunoenzimático; IFAT- teste de imunofluorescência indireta; SC- subcutâneo

1.10. Métodos de diagnóstico

O diagnóstico é realizado: quando o cão tem sinais clínicos compatíveis com a doença e pretende-se confirmar a presença da doença, ou então na ausência de sinais clínicos, de forma a evitar a transmissão a partir de portadores assintomáticos, através de transfusões de sangue, e da importação de cães positivos para países não endêmicos, e podendo também ser utilizado para monitorizar a resposta ao tratamento (Miró *et al.*, 2008).

Os testes de diagnóstico podem ser classificados como diretos ou indiretos. Os testes diretos, são os que confirmam a presença do parasita ou dos seus componentes e estes são realizados através da citologia, da histologia, da imunohistoquímica, do PCR e da cultura e demonstram que o cão está realmente infetado com *Leishmania* spp. Os testes indiretos dependem da resposta do sistema imunitário do hospedeiro ao parasita e são os testes sorológicos (Paltrinieri *et al.*, 2016).

1.10.1. Citologia

A citologia é indicada quando existem lesões cutâneas papulares ou nodulares e aumento dos linfonodos. É realizada através de uma punção aspirativa por agulha fina (Paltrinieri *et al.*, 2010), para detetar a presença de formas amastigotas em esfregaços citológicos de aspirados de lesões cutâneas, nódulos linfáticos, medula óssea e baço, em cães com sinais clínicos e/ou clínico-patológicos compatíveis com leishmaniose (Alvar *et al.*, 2004; Saridomichelakis *et al.*, 2005). Se houver um baixo número de parasitas, pode ser

difícil encontrar amastigotas na citologia, mesmo em cães com doença clínica desenvolvida (Moreira *et al.*, 2007). A citologia é um método pouco invasivo, de baixo custo e fácil de executar, e segundo Noli e Saridomichelakis (2014) deve se considerado como primeira abordagem em cães suspeitos de infecção, devendo-se realizar uma punção aspirativa por agulha fina dos linfonodos.

1.10.2. Avaliação histológica

A histologia pode demonstrar a presença de *Leishmania* em tecidos afetados, através da coloração com hematoxilina e eosina (Maia & Campino, 2008). As desvantagens da histologia em comparação com o PCR e a citologia são o facto de ser mais demorada para se obter o resultado e mais trabalhosa. Comparativamente com a citologia, a visualização de formas parasitárias é mais difícil, o custo é mais elevado e é um método invasivo (Noli *et al.*, 2014).

1.10.3. Diagnóstico molecular

A tecnologia de reação em cadeia da polimerase (PCR), é baseada na amplificação *in vitro* de sequências de nucleotídeos específicos, que estão presentes no parasita (Gomes *et al.*, 2008).

A sensibilidade da PCR em aspirados de medula óssea e gânglios linfáticos em cães infetados sintomáticos ou assintomáticos, segundo vários estudos é menor do que a apresentada pela serologia, mas tem uma sensibilidade superior comparativamente com os esfregaços corados e a cultura de parasitas (Solano-Gallego *et al.*, 2001, Alvar *et al.*, 2002, Moreira *et al.*, 2007).

Em cães sem sintomatologia, que vivam em áreas endémicas e que na PCR apresentem DNA de *Leishmania*, estão infetados (Solano Gallego *et al.*, 2001) mas podem não desenvolver a doença (Oliva *et al.*, 2006).

Não é recomendado fazer medicação anti-leishmania em cães clinicamente saudáveis, baseado apenas num resultado de PCR positivo. Em cães que estão clinicamente saudáveis, deve-se associar a PCR à testes sorológicos quantitativos, com o objetivo de obter o diagnóstico correto. Este teste serve também para evitar a importação de cães infetados para áreas não endémicas e para prevenir a infecção por transfusões sanguíneas (Solano Gallego, 2009).

Quando se faz a interpretação dos resultados, deve-se ter atenção quando se tem um cão clinicamente suspeito de leishmaniose e o resultado da PCR apresenta-se negativo, neste caso não se podendo excluir que o cão esteja infetado, e deve-se por isso, através da PCR avaliar outros tecidos (Baneth e Aroch, 2008).

1.10.4. Cultura

A carga parasitária dos diferentes tecidos e órgãos do mesmo cão não é a mesma, por isso, para aumentar a sensibilidade do teste, deve-se fazer cultura in vitro de diferentes tecidos para detetar o parasita (Evans, 1989). As culturas são 100% específicas, mas são pouco usadas porque o resultado é demorado, há suscetibilidade de contaminação microbiológica e depende da carga parasitária (Maia e Campino, 2008).

1.10.5. Técnicas sorológicas

As técnicas sorológicas mais comuns na deteção de anticorpos anti-leishmania são o teste de imunofluorescência indireta (IFAT), ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*) e a imunocromatografia (ICT) (Maia e Campino, 2008).

A imunocromatografia deve ser usada em cães clinicamente e laboratorialmente suspeitos. É um teste rápido, mas que fornece apenas um resultado qualitativo. Se o resultado for positivo deve ser realizado um teste quantitativo (ELISA ou IFAT). Como o ICT é um teste com baixa sensibilidade, se o resultado for negativo e o cão apresentar sintomatologia muito compatível com leishmaniose, deve-se considerar realizar um método quantitativo. A vantagem dos métodos sorológicos IFAT e ELISA é que pode-se quantificar e detetar anticorpos (Paltrinieri *et al.*, 2016).

O método de referência “*gold standard*” é o IFAT, por ter uma alta sensibilidade e especificidade (perto de 100% para ambos) (Rosypal *et al.*, 2003). Pode ocorrer a possibilidade de reações cruzadas com *Trypanosoma cruzi*, principalmente em países da América do Sul e Central, onde o parasita é endémico e afeta principalmente canídeos (Baneth e Aroch, 2008).

Os anticorpos estão presentes no soro e plasma, e são detetados e quantificados pelos testes sorológicos. Após a infeção, nem todos os cães fazem a soroconversão, e o tempo médio para que esta ocorra, é cerca de 5 meses em condições naturais e 3 meses em estudos experimentais, que usaram infeções artificiais (Moreno & Alvar 2002).

Quando o cão apresenta sinais clínicos compatíveis com leishmaniose, e não existem lesões para se fazer a citologia ou a histologia, devem ser feitos os testes sorológicos (Paltrinieri *et al.*, 2016).

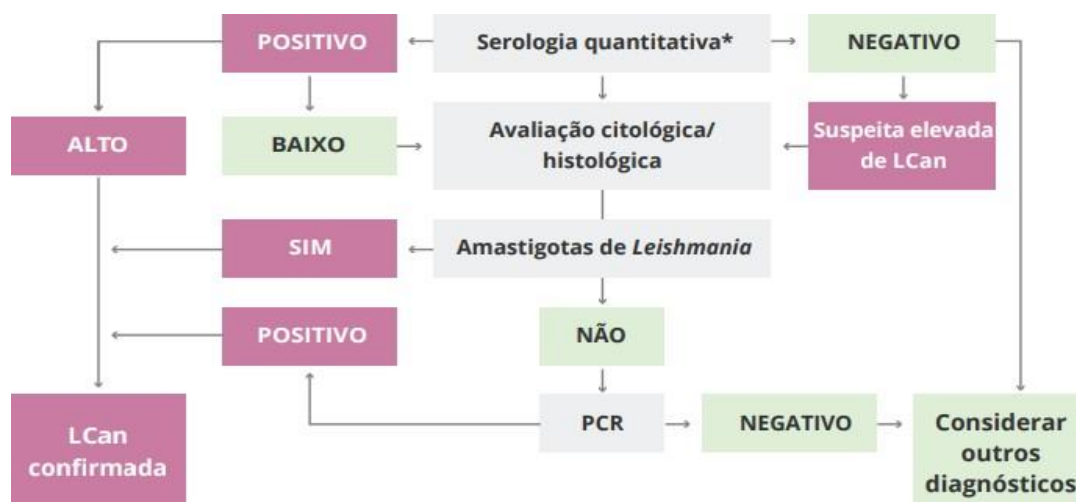


Figura 16- Fluxograma para a abordagem diagnóstica a cães não vacinados contra a leishmaniose canina (Leishvet, 2018).

1.11. Tratamento

O tratamento utilizado para a leishmaniose, pode levar à remissão permanente dos sinais clínicos, mas não consegue eliminar a infecção (Oliva *et al.*, 2010). O tratamento deve ser ponderado pelo médico veterinário e pelo proprietário, considerando o estado do animal, e se o proprietário consegue realizar o tratamento, mesmo que este seja dispendioso e prolongado (Fayet, 2000; Baneth & Shaw, 2002). Antes de se iniciar a terapêutica, deve-se ter em atenção o funcionamento renal, porque alguns fármacos são nefrotóxicos (Fayet, 2000).

Para classificar os cães infetados existem quatro estadios, criados com base em sinais clínicos, achados laboratoriais, e estado sorológico. Consoante o estadio, é possível estabelecer o prognóstico e a terapêutica (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

No estadio I, os cães apresentam anticorpos baixos ou negativos, que devem ser confirmados por outras técnicas de diagnóstico como a citologia, histologia, imunohistoquímica ou pela PCR. Os sinais clínicos são leves tais como a linfadenomegalia periférica ou a dermatite, e quanto às análises do perfil renal, estas encontram-se normais (creatinina < 1,4 mg / dl e não proteinúrico UPC <0,5). Neste caso a terapêutica a ser administrada deve ser menos prolongada ou com um ou dois fármacos combinados como o alopurinol, antimoniato de meglumina, a miltefosina / alopurinol + antimoniato de meglumina ou alopurinol + miltefosina, pode-se também não efetuar nenhum tratamento e fazer monitorização. (Solano-Gallego *et al.*, 2011, Leishvet, 2018).

No estadio II, os animais apresentam níveis de anticorpos baixos para altos, e para além dos sinais clínicos do estadio I, podem apresentar lesões cutâneas difusas ou

simétricas, dermatite, onicogrifose, anorexia, perda de peso, febre e epistaxis. Como alterações laboratoriais, podem apresentar uma leve anemia não regenerativa e hipoalbuminemia. De acordo com a função renal existem dois subestádios: no subestádio I o perfil renal é normal (creatinina <1.4 mg/dl) e não proteinúrico (UPC $< 0,5$), e no subestádio II a creatinina apresenta-se normal, mas observa-se proteinúria e o prognóstico é reservado (Solano-Gallego *et al.*, 2011, Leishvet, 2018).

No estágio III, os animais apresentam níveis de anticorpos médios a altos, para além dos sinais clínicos do estágio I e II podendo apresentar vasculite, artrite, uveíte e glomerulonefrite. As alterações laboratoriais são as mesmas do estágio II, exceto a creatinina sérica que pode ser observada entre os 1,4 - 2 mg/dl e o rácio UPC > 1 . O tratamento neste caso deve ser com alopurinol associado com antimoniato de meglumina ou com miltefosina. O tratamento renal deve ser aplicado de acordo com a IRIS. O prognóstico varia de reservado a desfavorável, dependendo da função renal (Solano-Gallego *et al.*, 2011, Leishvet 2018).

No estágio IV os animais apresentam níveis de anticorpos médios a altos, além dos sinais clínicos referidos anteriormente podem também apresentar tromboembolismo, síndrome nefrótica (proteinúria com um rácio UPC > 5) ou doença renal terminal. A creatinina corresponde ao estágio 3 da IRIS (2-5 mg/dl) ou ao estágio 4 (> 5 mg/dl). O alopurinol é recomendado neste caso, e para a doença renal deve-se seguir as recomendações da IRIS, sendo que o prognóstico é desfavorável (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Leishvet 2018).

1.11.1. Antimoniato de meglumina

Para o tratamento da leishmaniose considera-se este fármaco como primeira opção, associado ao alopurinol em monoterapia, porém existe uma grande possibilidade de haver recidiva. As desvantagens deste fármaco é por ser de administração realizada somente por um médico veterinário (via parenteral), ser caro, os efeitos secundários observados podem ser a nefrotoxicidade, distúrbios gastrointestinais, hiperproteinémia esporádica, recidivas e abscessos cutâneos (Solano-Gallego *et al.*, 2011, Reguera *et al.*, 2016).

O antimoniato de meglumina deve ser administrado por via subcutânea, durante 30 dias, na dose de 100mg/Kg. Na primeira semana, podem ser observados outros sinais clínicos, e devido à libertação de antígenos no corpo. Pode ser necessário utilizar protetores hepáticos e diuréticos, principalmente em cães com insuficiência renal, porque pode afetar os rins e o fígado (Beugnet *et al.*, 2018).

1.11.2. Alopurinol

O alopurinol pode ser utilizado no tratamento da leishmaniose isoladamente ou combinado com outros medicamentos, que aumentam o seu efeito parasitostático (Baneth & Shaw, 2002). Quando utilizado no mínimo durante 2-3 meses, leva a uma melhoria clínica e laboratorial, contudo quando o tratamento é interrompido, ocorrem recaídas, e por isso deve ser administrado durante vários meses. A dose deve ser de 5 a 20 mg/kg PO, a cada 12 horas, por 2 a 24 meses. Em cães com proteinúria, e sem insuficiência renal, o alopurinol parece retardar a deterioração renal (Oliva et al., 2010). Em quase todos os cães tratados com alopurinol, houve a formação de cristais de xantina e ocasionalmente urólitos, contudo o alopurinol não causou danos hepáticos, nem danificou os glomérulos renais (Torres *et al.*, 2011; Noli & Saridomichelakis, 2014).

1.11.3. Combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol

A combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol, é o tratamento mais comum para leishmaniose em cães, embora não resulte em uma cura parasitológica completa. Os cães tratados com esta combinação, supostamente têm um período de remissão clínica mais longo, do que quando tratados com qualquer um dos medicamentos isoladamente. O protocolo mais utilizado, é o de antimoniato meglumina administrado SC (100 mg / kg), SID, durante 1 a 2 meses, com o alopurinol administrado PO (10 mg / kg), BID, durante vários meses (Oliva *et al.*, 2010).

1.11.4. Dieta

Se o cão não apresentar insuficiência renal, pode ser administrada uma dieta específica para o manejo da leishmaniose - Advance Veterinary Diets Leishmaniasis. Esta dieta potencia a imunidade celular, previne os cálculos de xantina associados ao tratamento e melhora a inflamação e as lesões cutâneas. Se o cão tiver insuficiência renal crônica é recomendado uma dieta renal (Affinity Petcare S.A.)

Num estudo realizado com 21 cães, foi utilizado o tratamento farmacológico com o antimoniato de meglumina (80 mg/kg/dia, durante 45 dias), e o alopurinol (10 mg/kg, BID, durante 90 dias), combinado com um tratamento dietético (Advance Veterinary Diets Leishmaniasis Management), cujas características principais são um elevado teor de antioxidantes (para estimular o sistema imunitário), com níveis de proteínas de elevado valor biológico (para ajudar na recuperação de massa muscular), com alta digestibilidade (para recuperação do peso), e também para prevenir a formação de cálculos de xantina (efeito secundário do tratamento com alopurinol). Após 90 dias, observou-se um aumento da resposta imunitária (aumento da vitamina E, normalização das populações de linfócitos,

diminuição das proteínas totais e das gamaglobulinas e aumento da albumina), a anemia e a trombocitopenia desapareceram quase por completo, ocorreu uma melhoria do índice de massa corporal, e os sinais clínicos cutâneos graves estavam ausentes em todos os animais (Romano, DVM Departamento R&D Affinity Petcare S.A.).

1.11.5. Domperidona (Leisguard®)

A domperidona (Leisguard®) quando administrada em cães infetados, melhora os sinais clínicos e diminui o título de anticorpos, mas não existe remissão completa da doença (Gómez-Ochoa *et al.*, 2012). Deve ser administrado 0,5 mg/kg durante 30 dias consecutivos a cada 4 meses (Sabaté *et al.*, 2014). Neste tratamento os efeitos secundários raramente são observados, tais como apatia, dor abdominal, diarreia e perda de apetite, e isto acontece devido à atividade procinética, mas quando o tratamento é interrompido desaparecem (Sabaté *et al.*, 2014).

1.11.6. Miltefosina

Apesar de a miltefosina não eliminar totalmente o parasita, há uma redução da carga parasitária (Oliva *et al.*, 2010). Quando é administrada, os sinais clínicos diminuem, com uma redução significativa após duas semanas, e melhoraram pelo menos durante 4 semanas com o fim do tratamento. Em cães que tenham insuficiências hepáticas e cardíacas, deve-se avaliar o benefício/risco antes de administrar o tratamento (VIRBAC, 2018).

A miltefosina é recomendada em cães que apresentam efeitos secundários ao antimoníato de meglumina, podendo ser utilizada juntamente com o alopurinol (Beugnet *et al.*, 2018), de forma a melhorar a sua eficácia (Oliva *et al.*, 2010). A dose a administrar, deve ser 2 mg/kg de peso corporal (o que corresponde a 1 ml da solução oral por cada 10 kg), durante 28 dias, colocado sobre a comida (VIRBAC, 2018). Este tratamento pode provocar vômitos e diarreia (Solano-Gallego *et al.*, 2011).

1.11.7. Anfotericina B

A anfotericina B (AMB) é usada principalmente como antifúngico, mas tem também atividade contra alguns protozoários, tendo uma boa eficácia contra a leishmaniose canina, contudo como tem um efeito tóxico a nível renal, ao causar vasoconstrição renal e ao reduzir a taxa de filtração glomerular, o seu uso é limitado. Não deve ser administrada por via oral porque em cerca de 80% dos casos ocorreu vômitos e anorexia, devendo-se administrar pela via parenteral (Noli *et al.*, 2005).

Num estudo realizado por Greene (2012) sobre o uso de AMB, não se conseguiu mostrar que os cães com a eliminação da infecção, tivessem melhorias clínicas de longo prazo.

1.11.8. Marbofloxacin

A marbofloxacin é uma fluoroquinolona sintética de terceira geração, com uma potente atividade contra várias espécies de bactérias, com uma ação que inibe as enzimas bacterianas e de *Leishmania infantum*, que tem uma estrutura genómica semelhante à das bactérias. Foi realizado um estudo em cães com leishmaniose, onde a marbofloxacin foi administrada por via oral, na dosagem de 2 mg / kg, uma vez ao dia, durante 28 dias, e verificou-se uma melhoria dos sinais clínicos (Oliva *et al.*, 2010).

1.11.9. Coriolus versicolor (Corpet®)

É um produto natural que resulta da cultura de um cogumelo que reforça o sistema imunitário. É usado em pequenos animais no Reino Unido desde 1999 e no início de 2000 em cavalos. Nos pequenos animais é utilizado em pré e pós cirúrgico, em problemas virais como a leucemia felina (FeLV), para reforçar o sistema imunitário quando o animal está a realizar quimioterapia e em cuidados paliativos. Pode ser usado como complemento para melhorar o funcionamento do sistema imunitário para o tratamento da leishmaniose, mas não como substituto de tratamento (ANEID, Corpet News vol.1 (2006), vol. 2 (2007), vol. 3 (2008)).

1.12. Recomendações para a monitorização durante e após o tratamento

A frequência com que os cães são avaliados, vai depender do estadio da doença e dos sinais clínicos (Solano-Gallego *et al.*, 2009) como pode ser observado na Tabela 2. Devem ser realizados como exames complementares um hemograma, bioquímicas e urianálise com o rácio proteína/creatinina urinária (em casos com proteinúria detetados anteriormente) (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A sorologia é útil para verificar se o animal teve uma recaída, porque podem estar clinicamente associadas com aumentos nos títulos de anticorpos (Torres *et al.*, 2011).

Tabela 2- recomendações para a monitorização durante e após o tratamento da leishmaniose canina. (Adaptado de LeishVet, 2018).

Parâmetros	Frequência	
	Cães doentes tratados	Cães infectados clinicamente saudáveis
-Anamnese (história clínica) e exame físico -Hemograma, perfil bioquímico ± eletroforese sérica -Análise de urina completa ± UPC	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.	A cada 3-6 meses
PCR em tempo real (opcional)	Ao mesmo tempo que a serologia.	A cada 3-6 meses

1.13 Eutanásia

Como a leishmaniose é uma zoonose e o cão é o reservatório da doença (Beugnet *et al.*, 2018), a eutanásia deve ser realizada quando há risco considerável para a saúde pública, o proprietário recusa realizar o tratamento, ou quando o estado de saúde do animal não permite fazer o tratamento (López, 2007).

No Brasil é recomendado pelo Ministério da Saúde a eutanásia dos cães infectados, sempre que os tutores não realizarem o tratamento, sendo o Milteforan o medicamento aprovado pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e pelo Ministério da Saúde para o tratamento da leishmaniose. É proibido utilizar produtos de uso humano, para o tratamento da leishmaniose em cães, e também aqueles que não estão registados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Apenas os cães que estejam a fazer o tratamento com o Milteforan, não têm que ser submetidos à eutanásia, por isso, o tutor do cão deve ter um comprovativo passado pelo Médico Veterinário que deve conter as informações relativamente ao tratamento e o resultado da sorologia realizada nos últimos 4 meses (Conselho Federal de Medicina Veterinária, 2020).

2. Objetivos do estudo

O principal objetivo deste estudo, foi perceber o grau de informação que os tutores de cães possuem relativamente à leishmaniose, tais como se sabem que esta doença é uma zoonose, que tipo de tratamento antiparasitário fazem e com que frequência, se vacinam os seus cães contra a leishmaniose, e no caso de terem o seu cão diagnosticado com esta parasitose, quais os principais sinais clínicos detetados e terapêutica instituída.

O segundo objetivo foi direcionado aos médicos veterinários e serviu para avaliar se os médicos veterinários que exercem clínica de pequenos animais alertam os tutores relativamente ao modo de transmissão do parasita, quais os diferentes meios de prevenção contra a leishmaniose que indicam e a sua importância, se têm conhecimento que esta é uma zoonose, e quais os meios de diagnóstico e terapêutica que mais utilizam na sua prática clínica.

2.1. Materiais e Métodos

Foram elaborados dois questionários e disponibilizados durante um período de três meses (Agosto, Setembro e Outubro de 2020), um destinado a médicos veterinários e outro a tutores de cães. Os questionários foram realizados no programa Google formulários e partilhados nas redes sociais (grupos do Facebook de tutores de cães) enviados a amigos e a colegas no caso dos questionários para os tutores de cães. Os questionários para médicos veterinários foram partilhados em grupos do Facebook.

O questionário para os tutores (Anexo I), intitulado “Conhecimento da população sobre leishmaniose” foi respondido por 223 participantes. Este questionário foi constituído por 21 questões, distribuídas em dois grupos; o primeiro era relacionado a questões sobre dados gerais do tutor e o segundo relativo a informações sobre o animal e a doença.

O questionário destinado aos médicos veterinários (Anexo II), intitulado “Leishmaniose em Portugal” foi respondido por 70 participantes. Era constituído por um total de 24 questões, cujas informações eram relativas ao ano anterior completo e referiam aos métodos de diagnóstico, à prevenção, às manifestações clínicas observadas, ao tratamento e à evolução da doença.

3. Resultados

3.1. Questionário destinado aos tutores

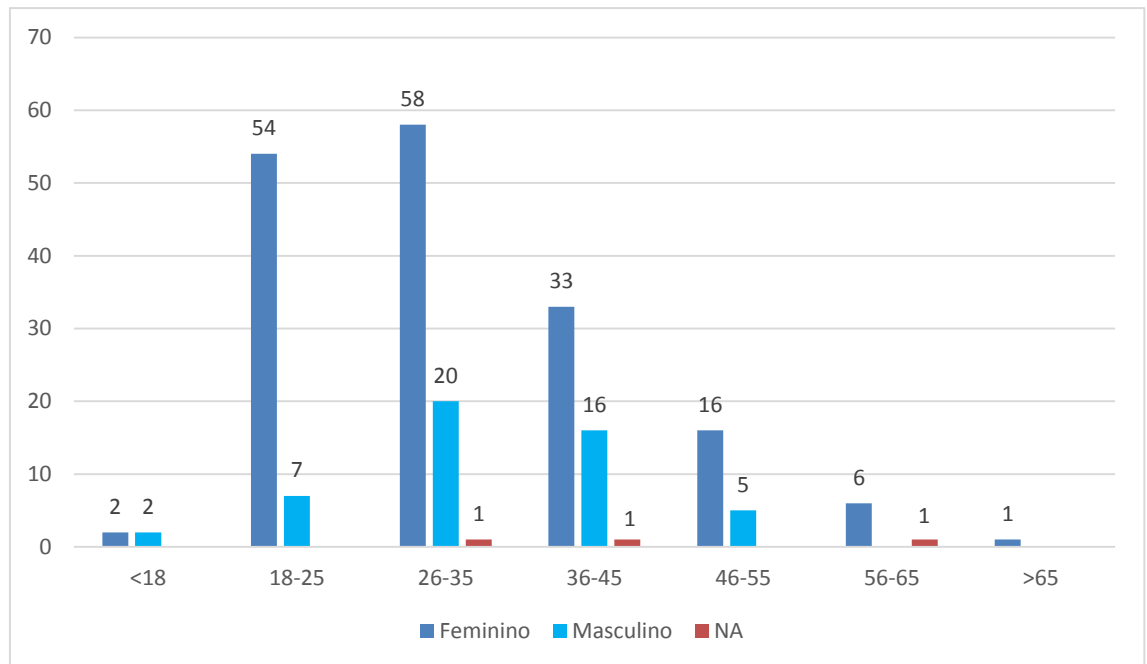


Gráfico 2- Frequência absoluta dos grupos etários de acordo com o género dos tutores.

A amostra de tutores foi constituída por um total de 223 inquiridos, cuja distribuição por faixa etária encontra-se representada no Gráfico 2, dos quais 76,23 % (170/223) eram do género feminino, maioritariamente do grupo etário “25-35” e 3 dos inquiridos não responderam quanto ao género.

Relativamente às habilitações literárias, a maioria dos inquiridos tinha o ensino superior 67,71% (151/223) e o ensino secundário 28,70% (64/223), apenas 2,70% (6/223) e 0,90% (2/223) dos tutores tinham o ensino primário e básico respetivamente.

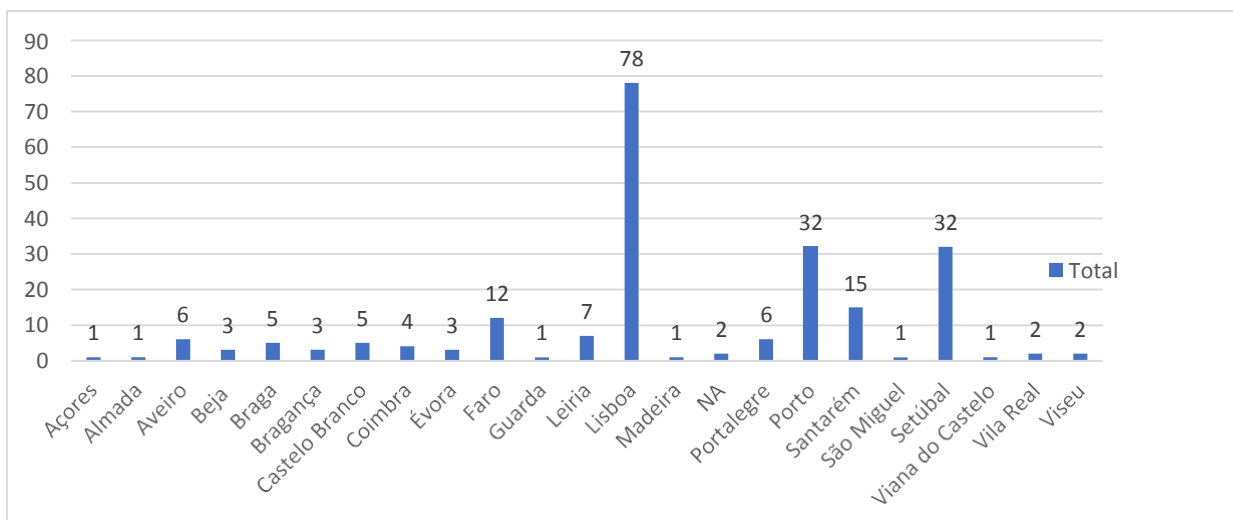


Gráfico 3- Frequência absoluta dos distritos de residência dos tutores.

Relativamente ao distrito de residência (Gráfico 3), “Lisboa” representou a maioria com 34,98 % (78/223) dos inquiridos, seguida do distrito de “Setúbal” e do “Porto”, ambos com um valor de 14,35 % (32/223).

Quanto ao estilo de vida dos seus cães, 57,85% (129/223) dos proprietários responderam que era misto, 24,22% (54/223) indoor e 17,94% (40/223) outdoor.

Relativamente à desparasitação, 92,38% (206/223) dos proprietários realizava desparasitação interna e externa, 4,04% (9/223) apenas desparasitação externa, 1,35% (3/223) realizava apenas desparasitação interna e 2,24% (5/223) não realizava desparasitação.

Quanto à frequência da desparasitação externa, conforme se pode observar na Tabela 3, 31,16% (67/215) dos tutores realizavam tratamentos mensalmente, 30,23% (65/215) de 3 em 3 meses, 20,93% (45/215) de 6 – 6 meses e com maior periodicidade, de 2- 2 meses 8,84% (19/215), anualmente 4,65% (10/215) e 1,86 % (4/215) não sabia.

Relativamente à questão se o tutor ao comprar antiparasitário externo tinha atenção quanto à prevenção contra a leishmaniose, 77,67% (167/215) respondeu que sim, 19,53% (42/215) respondeu que não e os restantes 2,79% (6/215) não responderam.

Quanto ao antiparasitário externo utilizado pelos tutores, verificou-se que 28,84% (62/215) utilizavam Bravecto®, 25,58% (55/215) Advantix®, 20,93% (45/215) Scalibor® e 20,93% (45/215) Seresto®.

Tabela 3- Frequência relativa e absoluta da desparasitação externa realizada pelos tutores.

Frequência de desparasitação externa	Número	%
Mensalmente	67	31,16%
3 em 3 meses	65	30,23%
6 em 6 meses	45	20,93%
2 em 2 meses	19	8,84%
Não respondeu	5	2,32%
Anualmente	10	4,65%
Não sabe	4	1,86%

Em relação à pergunta se sabiam da existência de parasitas nos animais domésticos, que podem ser transmissíveis ao homem (zoonose), 86,1% (192/223) responderam sim, 13,45% (30/223) responderam não e 0,45% (1/223) não responderam.

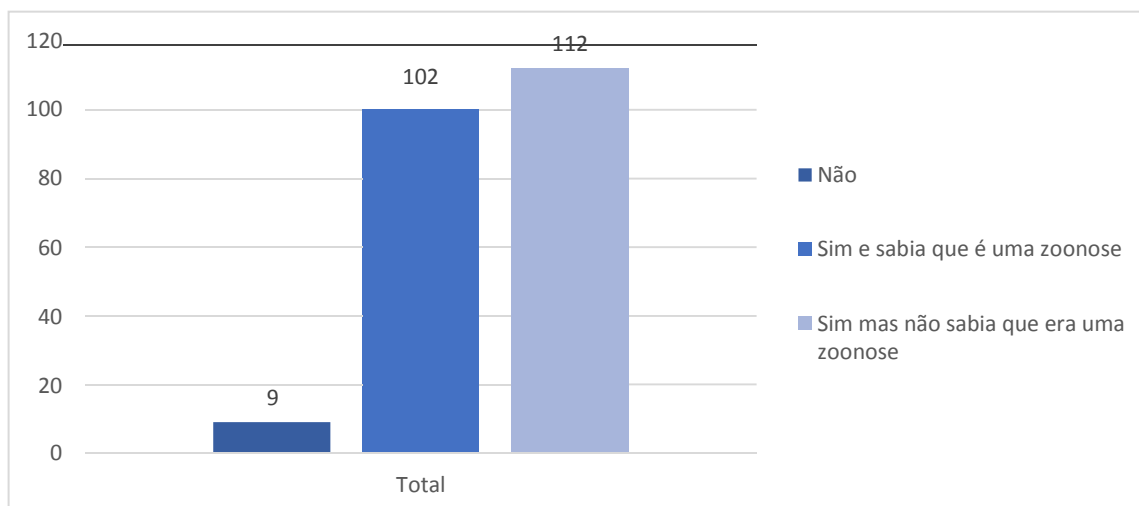


Gráfico 4- Frequências absoluta do conhecimento dos tutores sobre a Leishmaniose.

Relativamente à questão sobre o conhecimento da leishmaniose (Gráfico 4), 95,96% (214/223) dos inquiridos conheciam a parasitose e 47,66 % (102/214) dos que conheciam sabiam que era uma zoonose. Apenas 4,04% (9/223) dos inquiridos não sabiam o que era a leishmaniose.

Em relação à questão em que os tutores afirmavam ter conhecimento sobre a parasitose, 214 responderam que tinham conhecimento.

Relativamente à pergunta como teve conhecimento desta parasitose, 83,18% (178/214) respondeu que foi através do médico veterinário, 18,22% (39/214) através da Internet e 9,35% (20/214) através da televisão.

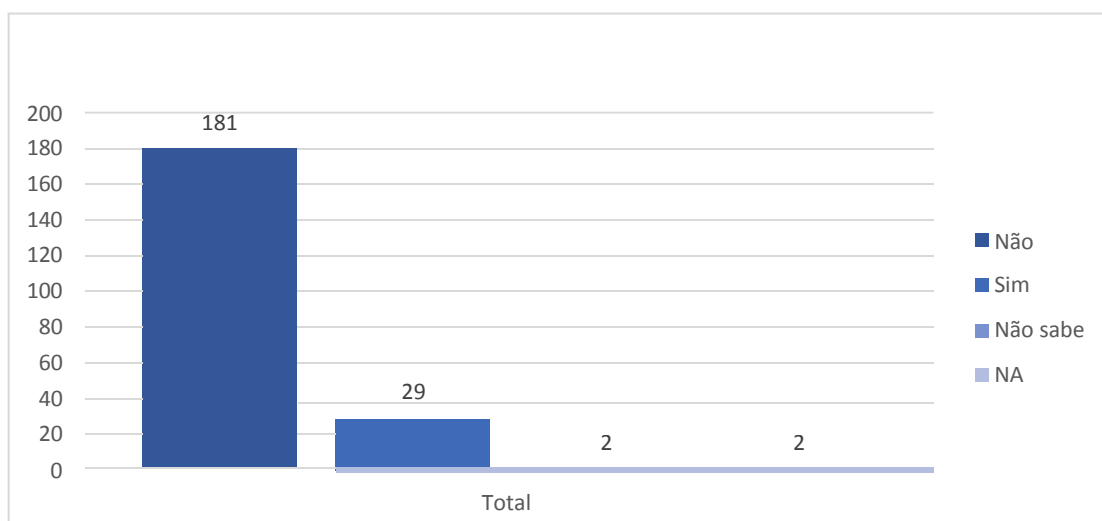


Gráfico 5- Frequências absoluta sobre se o cão tem Leishmaniose.

Dos 214 proprietários inquiridos, 13,55% (29/214) referiram que o seu cão tinha leishmaniose e apenas 0,93% (2/214) não sabiam se o seu cão tinha a doença, sendo que a maior parte dos tutores que responderam, 84,58% (181/214) informaram que os seus cães não tinham sido diagnosticados com leishmaniose, conforme se pode observar no Gráfico 5

As perguntas 2.10, 2.11, 2.12 aplicavam-se aos tutores que responderam sim na pergunta 2.9.

A questão 2.10 referia-se aos sinais clínicos observados (Tabela 4), verificou-se que os mais observados nos cães com leishmaniose foram lesões de pele 68,97% (20/29), emagrecimento 44,82% (13/29) e problemas renais 24,14 % (7/29). As menos observadas foram lesões oculares 10,34 % (3/29), artrite 6,90% (2/29), alterações gastrointestinais 6,90% (2/29) e onicogribose 6,90% (2/29). Por último, com uma frequência mais baixa de apenas 3,45% (1/29), verificou-se a ocorrência de esplenomegalia, icterícia ligeira, epistaxis, linfadenomegalia, nenhum sinal clínico e outro.

Tabela 4- Frequência relativa e absoluta à sintomatologia dos cães com Leishmaniose relatado pelos tutores.

Sintoma	Número	%
Lesões de pele	20	68,97%
Emagrecimento	13	44,82%
Lesões renais	7	24,14%
Lesões oculares	3	10,34%
Artrite	2	6,90%
Lesões gastrointestinais	2	6,90%
Onicogribose	2	6,90%
Esplenomegalia	1	3,45%
Icterícia ligeira	1	3,45%
Epistaxis	1	3,45%
Linfadenomegalia	1	3,45%
Nenhum sinal clínico	1	3,45%

Quanto ao tratamento recomendado pelos médicos veterinários (Tabela 5), o alopurinol foi o tratamento de primeira escolha (27,59%), seguido da associação de Glucantime e Alopurinol (13,79%) e 13,79% recomendaram a eutanásia.

Tabela 5- Frequência do tratamento recomendado pelos médicos veterinários segundo os proprietários.

Tratamento recomendado pelo Medico Veterinário	Número	%
Alopurinol	8	27,59%
Glucantime	2	6,90%
Leishguard	1	3,45%
Eutanásia	4	13,79%
Não sabe	2	6,9%
Nenhum	1	3,45%
Alopurinol + Miltefosina	1	3,45%
Aminosidina	1	3,45%
Leisguard + Alopurinol +Corpet	1	3,45%
Glucantime + Alopurinol	4	13,79%
Leisguard + Alopurinol	2	6,9%
Glucantime + Leishguard + Alopurinol	2	6,9%

Tabela 6- Frequência absoluta e relativa do tratamento optado pelos tutores.

Tratamento optado pelos tutores recomendado pelo Medico Veterinário	Número	%
Alopurinol	6	20,69%
Glucantime	1	3,45%
Leishguard	2	6,9%
Eutanásia	3	10,34%
Não sabe	4	13,79%
Nenhum	1	3,45%
Alopurinol + Miltefosina	1	3,45%
Glucantime + Leishguard	1	3,45%
Leisguard + Alopurinol +Corpet	1	3,45%
Glucantime + Alopurinol	4	13,79%
Leisguard + Alopurinol	3	10,34%
Glucantime + Leishguard + Alopurinol	2	6,90%

Quanto ao tratamento que os médicos veterinários recomendaram e aqueles que os tutores mais optaram foi o alopurinol (20,69%), Glucantime + alopurinol (13,79%) e 13,79% não sabe o tratamento que optou (Tabela 6).

Tabela 7- Tratamento que o tutor optou que difere ao recomendado pelo médico veterinário.

Tratamento recomendado pelo médico veterinário	Tratamento que o tutor optou
Alopurinol	Leishguard
Glucantime	Glucantime + Alopurinol
Alopurinol	Alopurinol + Leishguard
Glucantime + Alopurinol	Glucantime + Leishguard
Aminosidina	Não sabe

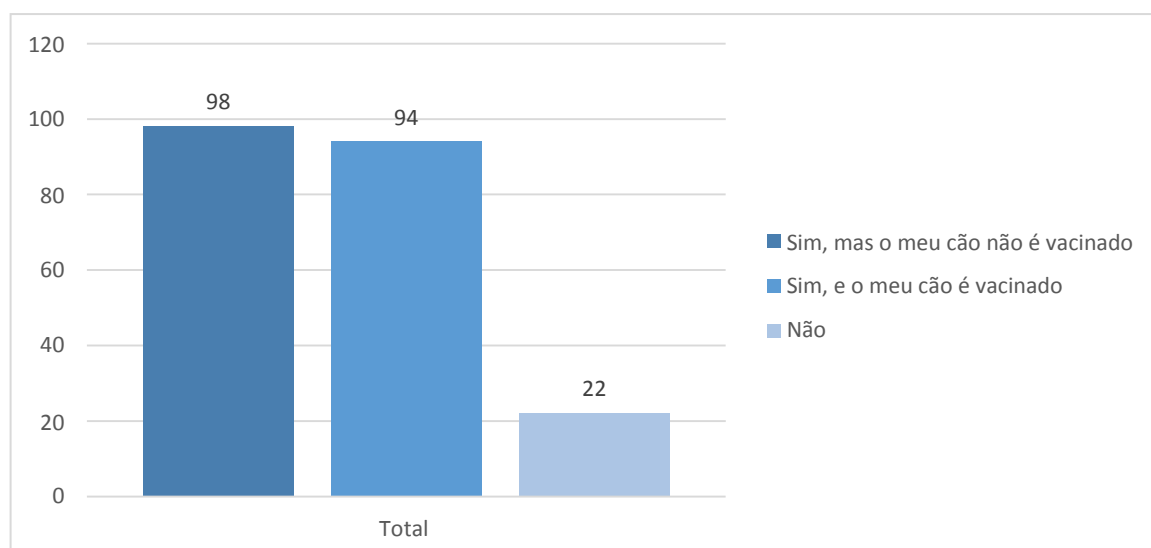


Gráfico 6- Frequência absoluta em relação ao conhecimento dos tutores da existência de uma vacina contra a Leishmaniose.

Relativamente à questão se tinham conhecimento sobre a existência de uma vacina (Gráfico 6), 89,72% (192/214) afirmaram que sabiam da sua existência. Dos tutores que sabiam da existência desta vacina, 51,04% (98/192) afirmaram não vacinar o seu cão contra esta doença. Apenas 10,28% (22/214) dos inquiridos não sabiam que existia vacina contra a leishmaniose.

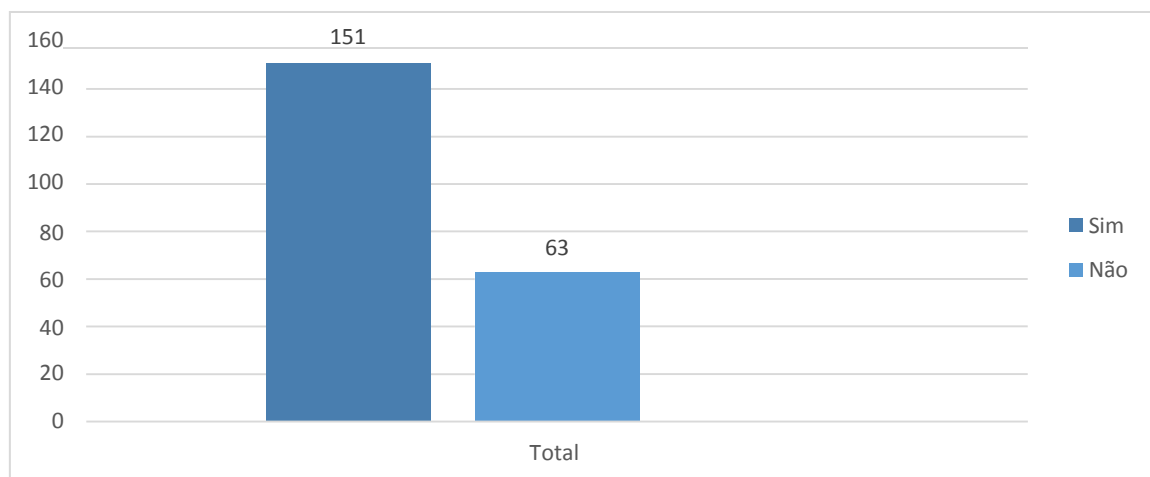


Gráfico 7- Frequência absoluta ao conhecimento dos tutores sobre ter que se testar o cão antes de administrar a vacina.

Quanto à necessidade de testar os cães antes da vacinação (Gráfico 7) a maior parte dos tutores (70,56%) sabia que para a vacinação contra a leishmaniose era necessário realizar um teste para verificar se o animal não estava infectado.

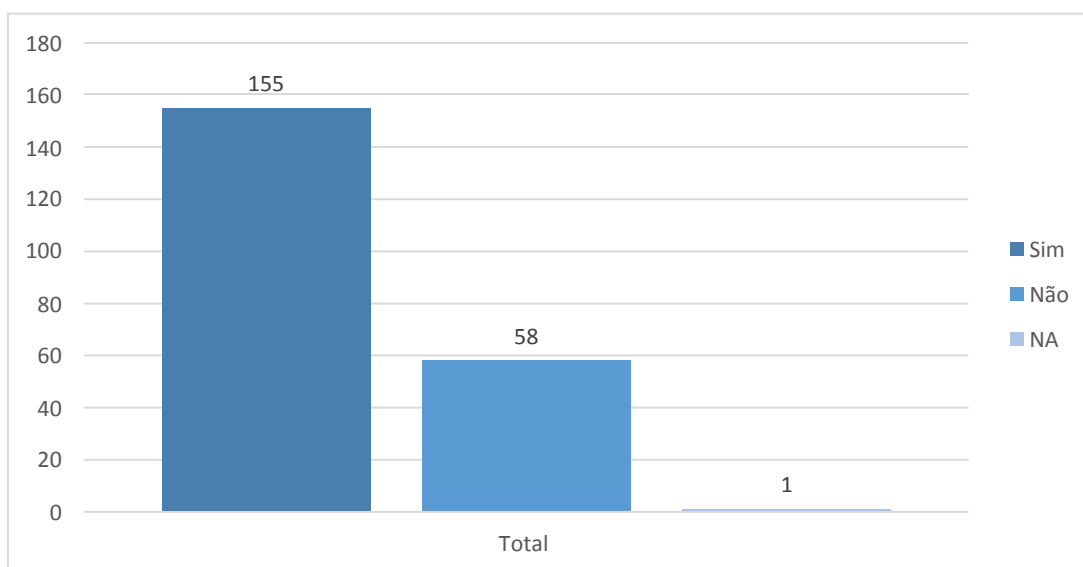


Gráfico 8- Frequência absoluta em relação ao conhecimento dos tutores sobre a continuidade do tratamento contra ectoparasitas em cães infectados com leishmaniose.

Relativamente à pergunta 2.15 (Gráfico 8) sobre o conhecimento dos tutores se sabiam que os cães infectados deveriam continuar a fazer a desparasitação externa, 72,43% (155/214) dos inquiridos afirmaram que sim, 27,1% (58/214) não tinham esse conhecimento e 0,47% (1/214) não responderam à questão.

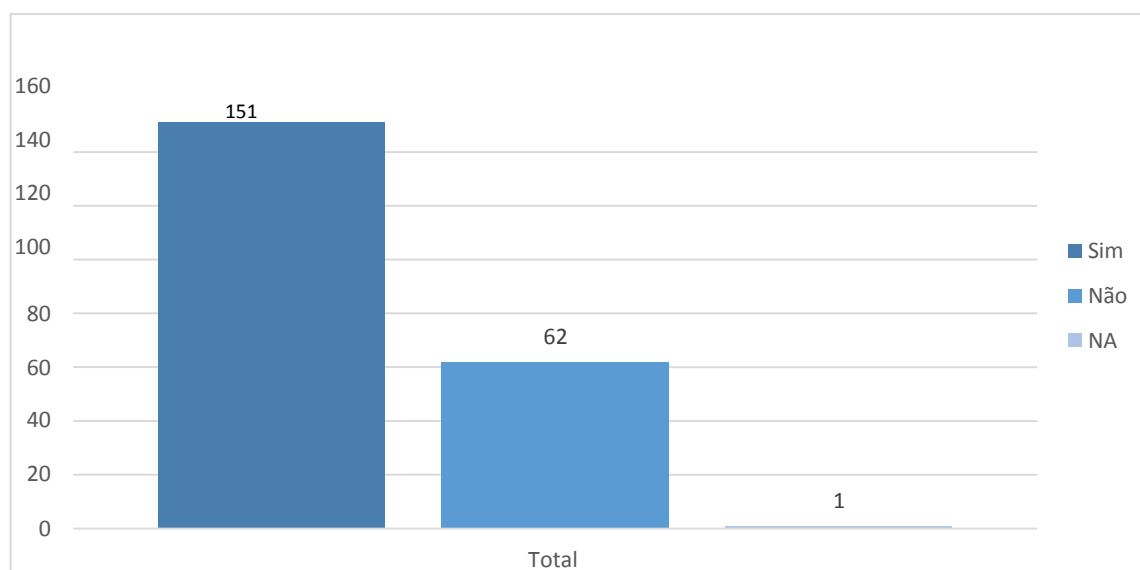


Gráfico 9- Frequência absoluta em relação ao interesse dos tutores em saber mais informações sobre a leishmaniose.

Quando questionados sobre se queriam ter mais informações sobre a leishmaniose através do médico veterinário (Gráfico 9), 70,56% (151/214) respondeu que sim.

3.2. Questionário destinado aos médicos veterinários

Foi realizado um questionário para os médicos veterinários através do Facebook. Foram 70 os questionários respondidos pelos médicos veterinários. Relativamente à faixa etária, verificou-se que estava compreendida entre os 25 e os 56 anos, sendo que a maior parte dos inquiridos estava na faixa etária dos 25-35 anos (48,57%) e apenas 1 dos inquiridos tinha 56 anos.

Relativamente ao tempo que exerciam a clínica de pequenos animais, a maior percentagem foi com 2 anos com 8,57% (6/70), e com menor frequência 5 meses de experiência com 1,43% (1/70). Apenas um (1,43%) dos inquiridos exercia clínica há 30 anos sendo o médico veterinário que tinha mais anos de experiência. A média do número de anos que os médicos veterinários exerciam foi de 13,26.

Em relação à pergunta sobre a prática clínica, a maior parte (75,71%) exerciam exclusivamente em clínica, 12,86% (9/70) exerciam exclusivamente em hospital, 5,1% (4/70) exerciam em hospital e clínica, 2,86% (2/70) em clínica e como médico veterinário municipal e 2,86% (2/70) em hospital universitário.

Verificou-se que 91,43% (64/70) dos médicos veterinários, responderam que tinham pelo menos um caso novo de leishmaniose por mês, durante o ano de 2019.

Quando questionados sobre o número de novos casos de leishmaniose no ano de 2019, comparativamente com os observados nos cinco anos anteriores, 34,29% dos médicos veterinários declararam que o número de novos casos diagnosticados se manteve, 27,14% afirmaram que diminuiu, 25,71% afirmaram que aumentou, 5,71% não responderam, 5,71% não sabiam e 1,43% afirmou que manteve/subiu.

Na questão quando recomendava a eutanásia em cães com leishmaniose, 48,57% (34/70) responderam em casos de insuficiência renal, 37,14% (26/70) em casos terminais, 25,71% (18/70) quando os animais não respondiam ao tratamento, 21,43% (15/70) na impossibilidade do proprietário realizar o tratamento, 8,57% (6/70) em casos de insuficiência hepática, 7,14% (5/70) dos inquiridos não responderam, 4,29% (3/70) em casos que comprometiam a saúde pública e 1,43% (1/70) em casos de aplasia medular e em cães alojados em canil.

A maior parte dos médicos veterinários (84,30%), considerou que a leishmaniose é endêmica no concelho onde exercem.

Todos os médicos veterinários que responderam a este questionário afirmaram que falam sobre a leishmaniose aos tutores de cães durante a consulta, porém 10% (7/70) não informam que se trata de uma zoonose.

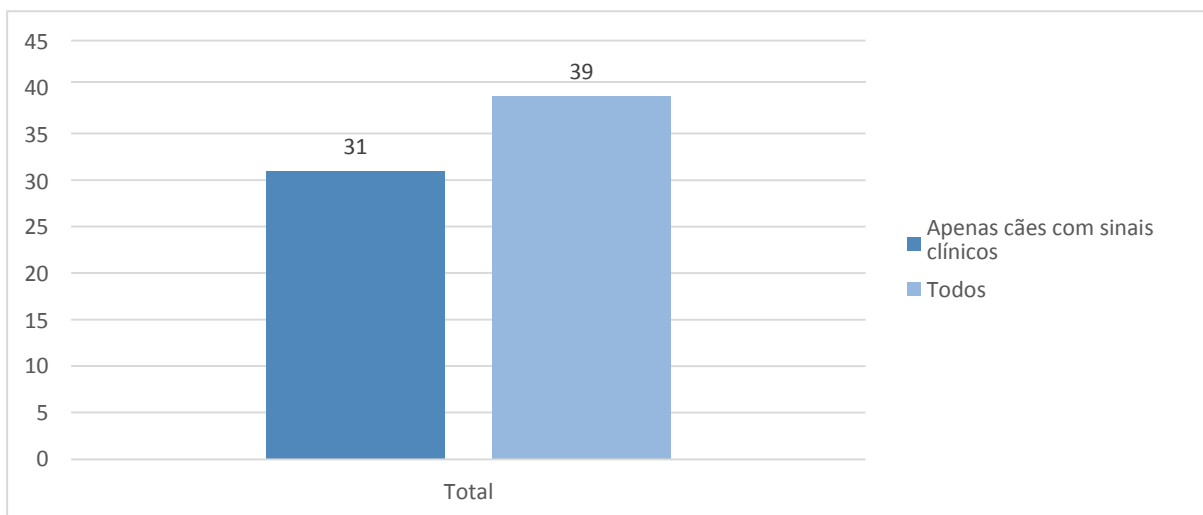


Gráfico 10- Frequência absoluta do número de respostas a que cães era recomendado fazer o diagnóstico (com sintomatologia ou a todos).

Relativamente à pergunta a que cães era recomendado fazer o diagnóstico (Gráfico 10), 44,29% (31/70) dos médicos veterinários responderam que só recomendavam realizar o diagnóstico em cães com sintomatologia suspeita de leishmaniose.

Tabela 8- Método de diagnóstico mais utilizado pelos médicos veterinários.

Método de diagnostico mais utilizado	Número	Percentagem
Qualitativo (teste rápido)	52	74,29%
Quantitativo (IFAT, Elisa)	42	60,00%
PCR	18	25,71%
Citologia/ Histopatologia	9	12,86%

Em relação à pergunta qual os métodos de diagnóstico utilizados para detetar a leishmaniose (Tabela 8), verificou-se que os mais utilizados foram os métodos serológicos qualitativos e quantitativos.

Todos os médicos veterinários que responderam ao questionário recomendavam a vacinação de cães negativos, sendo que 71,43% (50/70) recomendava a vacina Letifend® e 28,57% (20/70) a Canileish®. Dos 70 inquiridos, 28,57% (20/70) responderam que após a administração da vacina foram observadas reações adversas.

Quando questionados sobre o uso de inseticidas, a maior parte (87,14%) respondeu que recomendava o uso de inseticidas em cães em tratamento, saudáveis e após o tratamento, 8,57% (6/70) recomendava em cães saudáveis, 2,86% (2/70) recomendava em cães saudáveis e em tratamento e 1,43% (1/70) respondeu que apenas recomendava após o tratamento.

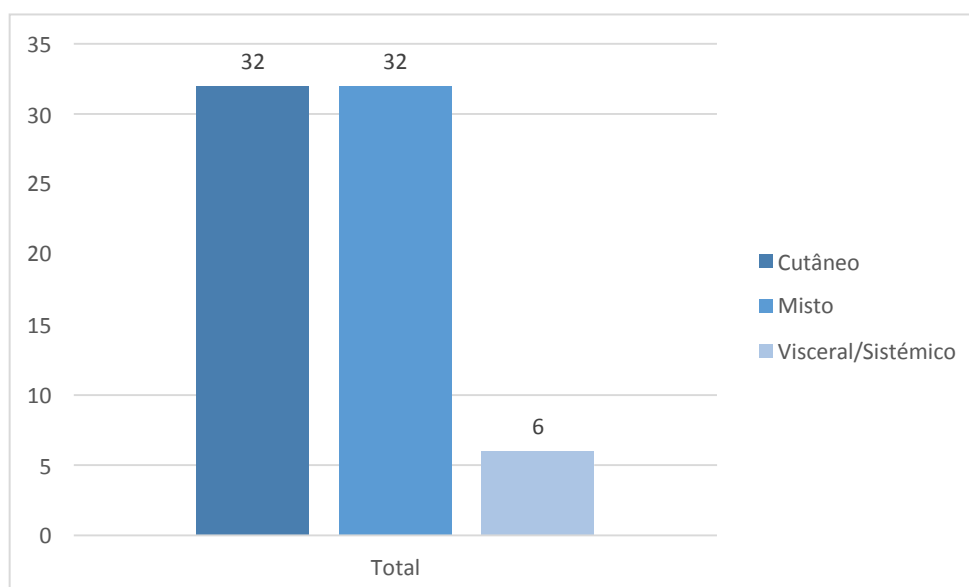


Gráfico 11- Frequência absoluta das manifestações clínicas mais comuns (cutânea, mista ou visceral/sistêmica).

As manifestações clínicas mais frequentemente observadas (Gráfico 11) segundo os médicos veterinários foi a nível cutâneo em 45,71% (32/70) dos casos, 45,71% (32/70) mista (cutânea e visceral) e 8,57% (6/70) visceral/sistêmica.

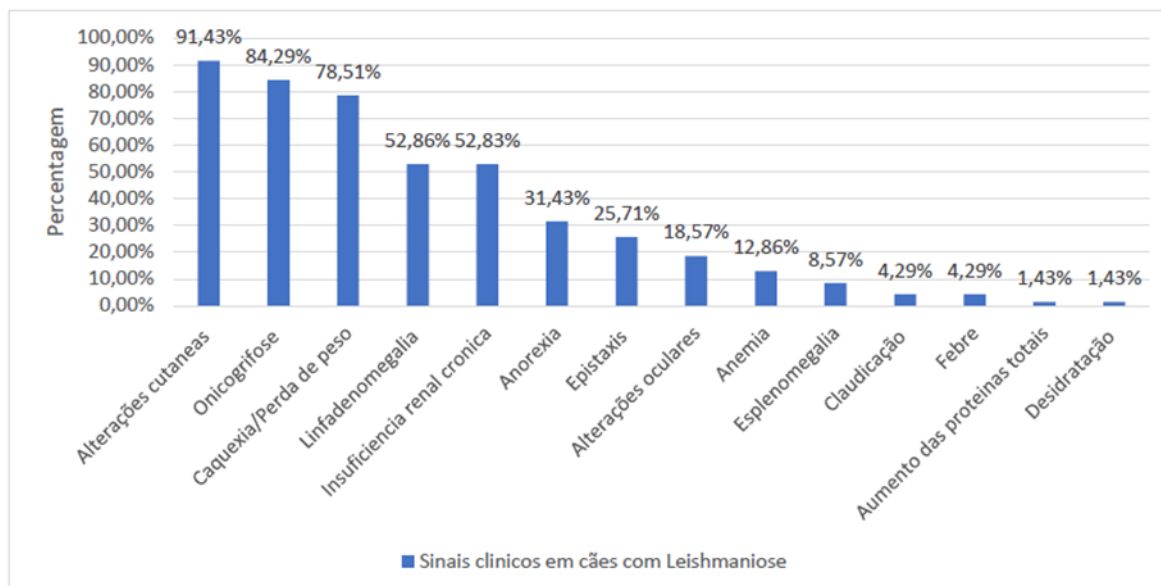


Gráfico 12- Frequência relativa dos sinais clínicos mais comuns verificados pelos médicos veterinários.

Quando questionados acerca das cinco manifestações clínicas mais frequentemente observadas (Gráfico 12), 91,43% dos médicos veterinários indicaram ser as alterações cutâneas, 84,29% onicogrifose, 78,51% caquexia/perda de peso, 52,86% linfadenomegalia, 52,83% insuficiência renal crônica, 31,43% anorexia, 25,71% epistaxis, 18,57% alterações oculares, 12,86% anemia, 8,57% esplenomegalia, 4,29% claudicação, 4,29% febre, 1,43% aumento das proteínas totais e 1,43% desidratação.

Em relação à pergunta qual o medicamento mais utilizado no tratamento, 100 % dos médicos veterinários responderam que utilizavam o alopurinol, 64,29% o antimoniato de meglumina, 58,57% a miltefosina, 54,29% a domperidona, 2,86% o sulfato de aminosidina, 2,86% outros e 1,43% o levamisol.

Tabela 9- Frequência relativa das associações de fármacos usadas pelos médicos veterinários no tratamento da leishmaniose.

Associações de fármacos	Número	Porcentagem
Alopurinol + Miltefosina	18	25,71%
Alopurinol + Antimoniato de Meglumina	16	22,86%
Alopurinol + Antimoniato de Meglumina + Domperidona	7	10%
Alopurinol + Domperidona	5	7,14%
Alopurinol + Miltefosina + Domperidona	2	2,86%
Alopurinol + Doxiciclina	1	1,43%
Alopurinol + Levamisol	1	1,43%
Alopurinol + Mitefosina + Omeprazol	1	1,43%
Não respondeu	12	17,14%
Alopurinol + Antimoniato de Meglumina + Prednisolona	1	1,43%
Alopurinol + Miltefosina ou Glucantime (se não tiver alterações bioquímicas) + Domperidona	1	1,43%
Alopurinol + Antimoniato de Meglumina ou Alopurinol + Miltefosina	1	1,43%
Alopurinol + Antimoniato de Meglumina ou Alopurinol + Domperidona	1	1,43%
Depende do estadio do animal	1	1,43%
Não faz	2	2,86%

Quanto à questão sobre as associações de fármacos utilizadas mais frequentemente (Tabela 9), 25,71% dos médicos veterinários responderam alopurinol + miltefosina, 22,86% alopurinol + antimoniato de meglumina, 17,14% não responderam à pergunta, 10% alopurinol + antimoniato de meglumina + domperidona, 7,14% alopurinol + domperidona, 2,86% alopurinol + miltefosina + domperidona, 1,43% alopurinol + antimoniato de meglumina + prednisolona, 1,43% alopurinol + doxiciclina, 1,43% alopurinol + levamisol, 1,43% alopurinol + mitefosina + omeprazol, 1,43% alopurinol + antimoniato de meglumina + prednisolona, 1,43% alopurinol + miltefosina ou glucantime (se não tiver alterações bioquímicas) + domperidona, 1,43% alopurinol + antimoniato de meglumina ou alopurinol + miltefosina, 1,43% alopurinol + antimoniato de meglumina ou alopurinol + domperidona, 1,43% depende do estadio do animal e 2,86% não faz.

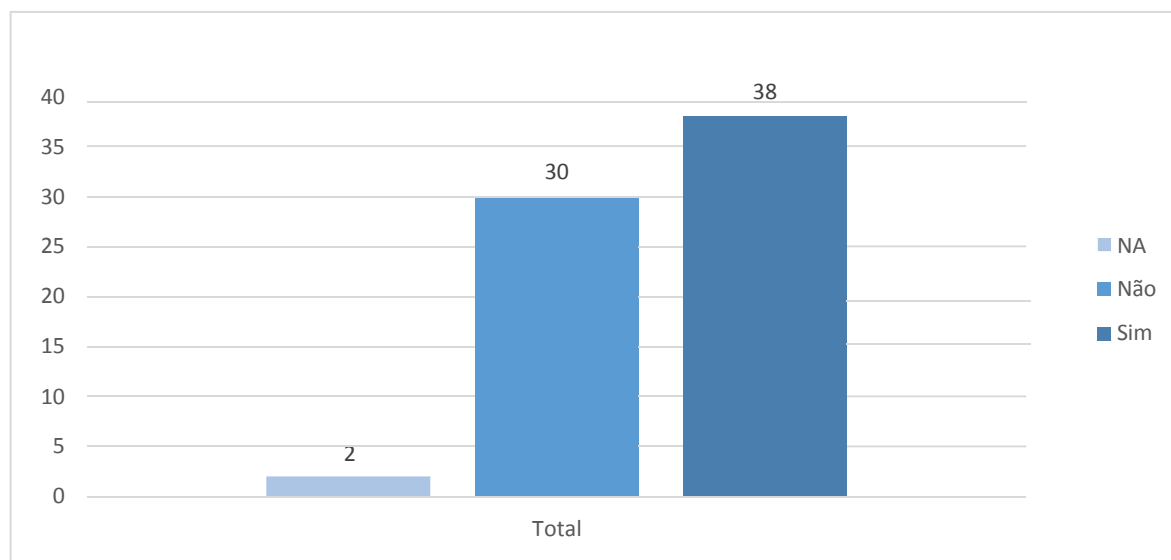


Gráfico 13- Frequência absoluta da recomendação de eutanásia quando o tutor não tinha possibilidade de realizar o tratamento.

No Gráfico 13 verifica-se que uma grande parte (54,29%) dos médicos veterinários respondeu que recomendava a eutanásia de cães infectados com leishmaniose quando os tutores não tinham possibilidade de realizar o tratamento e 42,82% (30/70) responderam que não recomendava a eutanásia. Dos 70 médicos veterinários, 2 não responderam a esta questão (2,86%).

Apenas um dos médicos veterinários não recomenda um antiparasitário contra a leishmaniose, recomenda apenas a utilização do Bravecto®.

Em relação à pergunta sobre após tratamento da leishmaniose qual o acompanhamento clínico dos cães infectados, 85,71% dos médicos veterinários responderam que realizavam através de testes laboratoriais para observação dos níveis da ureia/creatinina, 77,14% através do exame físico, 77,14% através de hemograma, 67,14% das proteínas totais e albumina, 41,43% da ALT, 40,00% através do título de anticorpos, 20,00% responderam outro e 17,14% através do PCR.

4. Discussão

4.1. Dados relativos aos tutores

A maioria dos tutores de cães, pertenciam à faixa etária dos 25-35 anos 34.98% (78/223) e dos 18-25 anos 27.35% (61/223), sendo que a faixa etária >65 anos 0.45% (1/223) foi onde se verificou uma menor frequência, o que pode ser devido ao facto da divulgação do questionário ter sido exclusivamente online.

A maior parte dos inquiridos (95,96%) sabia o que era a leishmaniose. Isto difere de um estudo realizado em Portugal Continental por Neves *et al.* (2007), em que 52,81% (780/1480) dos inquiridos sabiam o que era a leishmaniose. Provavelmente, este resultado seja devido ao maior esforço de sensibilização dos tutores pelos médicos veterinários para esta doença e pela divulgação através de revistas, televisão e internet sobre os antiparasitários existentes contra este parasita.

De destacar que 86,10% (192/223) dos tutores sabiam da existência de parasitas nos animais domésticos que podem ser transmitidos aos Humanos (zoonose) e 47,66% (102/214) sabiam que a leishmaniose era uma zoonose. No estudo realizado por Neves *et al.*, (2007) em Portugal, verificou-se que das pessoas inquiridas, 20,04% (296/1480) sabiam que a leishmaniose era uma zoonose. Apesar de haver um aumento significativo comparativamente com o estudo referido anteriormente (Neves *et al.*, 2007), no presente estudo mais da metade dos inquiridos 52.34% (112/214) não sabia que a leishmaniose era uma zoonose. Assim sendo, observa-se a importância de se fazer continuamente a divulgação, para que a população fique informada acerca da doença e possa realizar uma profilaxia adequada. Como meios de divulgação, deveriam ser distribuídos folhetos e pósteres informativos acerca da leishmaniose nos hospitais, farmácias e maior divulgação em revistas e na televisão.

Em relação à desparasitação, verificou-se que 96,41% dos cães eram desparasitados com antiparasitários externos e 93,72% com antiparasitários internos. Num estudo publicado por Pereira (2016), as desparasitações reportadas foram ligeiramente superiores, sendo 98,2% relativamente à desparasitação externa e 95,5% à interna.

Relativamente aos produtos de desparasitação externa, observados por Pereira (2016) 33,4% (209/625) utilizavam imidaclopride e permetrina (Advantix®), 13,8% (87/625) deltametrina (Scalibor®) e 10,1% (63/625) fipronil. No presente estudo, os antiparasitários externos mais utilizados pelos proprietários foram o Bravecto® 28,84% (62/215), Advantix® 25,58% (55/215), Scalibor® 20,93% (45/215) e Seresto® 20,93% (45/215).

Em relação à frequência da desparasitação externa, uma parte relevante dos tutores respondeu que fazia mensalmente (31,16%) e 30,23% dos tutores afirmaram que realizavam de 3 em 3 meses, o que é concordante com o facto da maior parte dos inquiridos utilizar os

produtos Advantix® e Bravecto®. Este facto é explicado porque no caso do Advantix® (10% imidacloprida e 50% permetrina), segundo o fabricante o efeito repelente é de 3-4 semanas, em áreas endémicas os cães devem ser tratados a cada 3 semanas para reduzir a picada do flebótomo (Reguera *et al.*, 2016).

A aplicação de Bravecto®, segundo o fabricante, deve ser de 3 em 3 meses, para eliminar pulgas (*Ctenocephalides felis*) e carraças (*Ixodes ricinus*, *Dermacentor reticulatus* e *D. variabilis*) (EMA, 2019). Os tutores que aplicavam apenas Bravecto® (15,81%) não estavam a fazer o controlo contra a leishmaniose, porque este antiparasitário apenas é indicado no controlo de pulgas e carraças.

Em relação ao estilo de vida do cão, mais de metade dos tutores relataram que o seu cão tinha um estilo de vida misto, ou seja, com acesso ao exterior e ao interior. Num estudo realizado em Portugal por Cortes (2012), os cães que viviam no exterior ou com acesso frequente ao mesmo, apresentam maior risco de infetarem-se com leishmaniose. Está também descrito que o acesso ao exterior é um fator de risco para a ocorrência de leishmaniose, principalmente devido à maior exposição aos flebótomos (Gálvez *et al.*, 2010). Dos tutores que tinham cães com leishmaniose, os sinais clínicos mais comuns observados foram as lesões de pele 68,97%, 44,82% o emagrecimento e os problemas renais em 24,14%. Num estudo retrospectivo realizado na Grécia, também foi descrito que as alterações dermatológicas (50,6%) e o emagrecimento (25,3%) eram os sinais clínicos mais comuns (Koutinas *et al.*, 1999).

Na bibliografia está descrito que 30,5% dos cães com leishmaniose apresentavam onicogribose (Koutinas, 1999), verificando-se uma incidência muito menor no presente estudo, onde apenas 6,9% dos proprietários relataram que o seu cão apresentava este sinal clínico. As alterações dermatológicas mais frequentemente observadas também no estudo de Koutinas (1999) foram a dermatite ulcerativa e onicogribose.

No presente estudo o emagrecimento foi observado pelos tutores em 44,82% (13/29). Este sinal clínico é devido à anorexia, à patologia renal, à competição por nutrientes essenciais como o triptofano entre o hospedeiro e o parasita e absorção renal reduzida (Saridomichelakis, 2009).

Na literatura encontra-se descrito que as lesões renais estão presentes em praticamente todos os cães com leishmaniose, quando grande parte dos nefrónios estão afetados é que se verificam alterações clínicas e séricas, em fases avançadas da doença (Baneth *et al.*, 2008). No presente estudo, verificou-se que 24,14% dos animais tinham lesões renais.

Na bibliografia os sinais clínicos digestivos nos cães com leishmaniose são relatados como pouco frequentes (Adamama-Moraitou *et al.*, 2007), o que se verificou também no presente estudo, com uma frequência de apenas 6,9%.

O tratamento que os proprietários mais optaram por realizar foi com alopurinol (20,69%), Glucantime + alopurinol (13,79%) e Leishguard® + alopurinol. O alopurinol é um leishmanioestático, de baixo custo e é preferível aos antimoniais pentavalentes por ter menos efeitos adversos, principalmente em doença renal (Greene, 2006).

Dos 29 proprietários (13,55%) que responderam que o seu cão tinha leishmaniose, em 5 (17,24%) destes proprietários verificou-se que o tratamento optado não era igual ao tratamento recomendado. No tratamento optado deveria estar pelo menos um dos medicamentos prescritos pelo médico veterinário. Em dois casos verificou-se o tratamento com um medicamento não recomendado e outro recomendado pelo médico veterinário, estes foram Glucantime como tratamento recomendado e o optado foi o Glucantime + alopurinol, o outro caso foi que o recomendado foi Glucantime + alopurinol e optaram por Glucantime + Leishguard®. Na resposta de dois proprietários, verificou-se que estes não optaram pelo tratamento recomendado, respondendo que fizeram outro tratamento. Um dos proprietários relatou que foi recomendado aminosidina e que não sabia o tratamento que realizou. Nesta questão, os proprietários podem ter-se enganado no preenchimento do questionário, pois fazer medicação sem prescrição médica era pouco provável porque para comprar estes medicamentos deveria ser necessária receita médica, também podem não ter percebido a pergunta.

Em relação ao conhecimento sobre a existência de vacina, verificou-se que a maior parte dos proprietários sabia que existia uma vacina, mas 51,04% não vacinam os seus cães contra a leishmaniose. Esta razão pode ser devida ao custo da vacina ser elevado, e para realizar a vacinação o cão ter de ser testado e estar negativo para a leishmaniose, aumentando o custo da profilaxia. Segundo um estudo realizado por Simão em 2018, o valor da primovacinação com Letifend® e o teste de diagnóstico era de 78,75 euros (56 euros da vacina + 22,75 euros do teste de diagnóstico) e da CaniLeish® era de 157,75 euros (45 euros por cada vacina e neste caso são três doses + 22,75 euros do teste de diagnóstico). Se o tutor optasse por utilizar um também um antiparasitário externo e a vacina o custo seria superior (Simão, 2018).

4.2. Dados relativos aos médicos veterinários

A maior parte dos médicos veterinários que colaboraram na resposta aos inquéritos relativamente ao ano de 2019, estes responderam que comparativamente aos últimos cinco anos, os casos de leishmaniose tinham-se mantido estáveis (34,92%) e outra parte afirmou

que tinham diminuído (27,71%). Num estudo realizado pelo Departamento de Ciências Veterinárias da Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro, com o apoio da Bayer Saúde Animal, nos últimos 3-5 anos, 55,2% dos médicos veterinários responderam que observaram o aumento do número de casos de leishmaniose (Cardoso & Mendão, 2009). A diminuição dos casos pode dever-se à vacinação, embora esta vacina só tenha sido comercializada a partir de 2011 na Europa (European Medicines Agency, 2011), e também a uma maior divulgação da doença no que diz respeito à forma de transmissão e de prevenção.

Relativamente ao diagnóstico da leishmaniose, 44,29% dos médicos veterinários recomendam fazer apenas aos cães com sintomatologia suspeita de leishmaniose, contudo era importante que fizessem a todos os cães, de forma a realizarem sempre que possível a vacinação dos cães negativos. Num estudo realizado por Faria, onde foram testados 42 cães sem sinais clínicos (cutâneos e/ou viscerais) destes, 15 cães tiveram resultado positivo (através do teste IFAT). É importante lembrar que nem todos os cães com leishmaniose apresentam sinais clínicos, por isso é importante testar todos os cães.

Ainda sobre a atitude dos médicos veterinários em informar aos tutores sobre o caráter zoonótico da leishmaniose, apenas 10% (7/70) dos inqueridos afirmaram que não informam que a leishmaniose se trata de uma zoonose. Num estudo realizado por Palmer (2010), verificou-se que são poucos os médicos veterinários que falam sobre zoonoses com os tutores. Neste estudo isso não se verificou, sendo a maior parte dos médicos veterinários a informar que a leishmaniose é uma zoonose aos tutores. É de realçar a importância da consciencialização dos tutores para doenças que podem ser transmitidas aos humanos, para alterações comportamentais como a desparasitação regular dos cães e o tratamento dos animais infetados.

Quanto à recomendação da vacinação, a vacina mais recomendada pelos médicos veterinários é a Letifend® (71,43%). A vantagem desta vacina é que não interfere com testes serológicos de diagnóstico, a administração em cães positivos mostrou ser segura (o desenvolvimento da doença não piorou), pode ser administrada a partir dos 6 meses e requer apenas uma dose por ano, ao contrário da CaniLeish®, que a administração deve ser 3 doses com um intervalo de 21 dias, seguidas de reforços anuais (Cotrina *et al.*, 2018). A vacina Letifend® mostrou ter mais eficácia vacinal comparativamente com a CaniLeish®, 72% e 68,4% respetivamente (Leishvet, 2018).

Dos 70 inquiridos, em relação à observação de reações adversas, 28,57% (20/70) responderam que após a administração da vacina, foram observadas reações adversas. Segundo Olivia (2014) as reações adversas mais leves da vacina Canileish® foram edema, dor à palpação, eritema e formação de nódulos no local de injeção. As reações graves e de incidência mais reduzida foram febre, sinais gastrointestinais, choque anafilático e morte

(Lladro *et al.*, 2016). No estudo de Cotrina *et al.* (2018) não se verificou nenhum efeito secundário após a administração da vacina Letifend®.

A maior parte dos médicos veterinários, recomenda a utilização de antiparasitários como medida profilática da picada do vetor a todos os cães (saúdáveis, em tratamento, pós tratamento). Num estudo de Laurenti *et al.* (2013) foram analisados 637 flebótomos ingurgitados, onde se verificou que a infeção foi maior em vetores que se alimentaram de cães assintomáticos (38,5%), do que naqueles que se alimentaram de cães sintomáticos (24,7%). O uso de antiparasitários, deve ser utilizado em todos os cães para evitar a picada dos flebótomos e a sua infeção (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Vulpiani *et al.*, 2011). Por isso, nos cães infetados devem ser usados também antiparasitários externos para se evitar a infeção por *Leishmania* spp. e para fazer o controlo nos hospedeiros reservatórios da leishmaniose.

Devido a existência de uma grande variedade de antiparasitários para a profilaxia da leishmaniose, pode ser difícil para o médico veterinário recomendar um método de prevenção, o que muitas vezes tem que considerar a preferência dos tutores. Em certos casos, as dificuldades económicas são motivo para a não realização da vacinação, devendo ser aconselhado o método mais económico, tendo-se em conta o estilo de vida do cão (se vive no interior ou exterior, se vive numa zona endémica). Segundo o estudo realizado por Simão (2018), as coleiras foram o método mais económico de profilaxia, sendo estas eficazes contra a picada dos insetos e consequentemente impedindo a transmissão da doença a outros hospedeiros, sendo também os custos da prevenção muito inferiores ao tratamento. Sendo Portugal um país endémico, nenhuma medida é 100% eficaz, devendo-se sempre considerar mais do que uma medida profilática, com a associação de um antiparasitário contra o vetor e a vacinação.

Quando questionados acerca das cinco manifestações clínicas mais frequentemente observadas, 91,43% dos médicos veterinários indicaram as alterações cutâneas, 84,29% indicaram onicogribose, 78,51% caquexia/perda de peso, 52,86% linfadenomegalia e 52,83% insuficiência renal crónica. Das manifestações clínicas relatadas em um estudo realizado por Cardoso *et al.* (2009), foram frequentes a descamação cutânea (66,7%), perda de peso ou emagrecimento (53,3%), linfadenopatia localizada ou generalizada (44,8%), alopecia localizada ou generalizada (41,9%) e insuficiência renal crónica (31,4%). Comparando com o presente estudo, verificou-se que a onicogribose foi a manifestação clínica mais comum relatada em 84,29% dos questionários, muito superior aquela referida no estudo de Cardoso & Mendão (2009) com 28,6%. A frequência da perda de peso (78,51%) e da insuficiência renal (52,83%) foram também superiores quando comparadas aos resultados de estudos anteriores. As alterações dermatológicas (91,43%) continuam a ser indicadas como sendo muito comuns.

A insuficiência renal e as alterações gastrointestinais podem provocar anorexia (Slappendel, 1988), levando à perda de peso. Este sinal clínico é frequentemente referido e neste estudo foi indicado nas respostas de 78,51% dos inqueridos, seguido da insuficiência renal e anorexia, 52,86% e 31,43% respetivamente.

Realtivamente aos tratamentos mais utilizados, foram o alopurinol, o antimoniato de meglumina, a miltefosina e a domperidona aqueles referidos pelos médicos veterinários. Num estudo realizado por Cardoso & Mendão (2009), verificou-se que o alopurinol e o antimoniato de meglumina eram os mais utilizados. Ao se comparar os resultados do estudo anterior, verificou-se um grande aumento no uso de miltefosina, produto utilizado na Europa desde 2002 para o tratamento da leishmaniose visceral (Dos Santos Nogueira *et al.*, 2019). Em 2007 os laboratórios da Virbac lançaram a miltefosina no mercado veterinário europeu para o tratamento da leishmaniose, sendo este o motivo da sua menor utilização até 2007. Este produto tem a vantagem de não ser nefrotóxico e apenas em quatro semanas ocorrer uma melhoria do quadro clínico e uma redução na infectividade dos flebótomos. Este estudo contribuiu para que na administração deste medicamento se ofereça mais uma medida importante para o controlo da leishmaniose (Dos Santos Nogueira *et al.*, 2019).

Ainda em relação ao tratamento, uma grande parte dos inquiridos (80%), respondeu que utilizava uma associação de fármacos para o tratamento da leishmaniose, sendo estes o Alopurinol e a miltefosina. No estudo de Cardoso & Mendão (2009) verificou-se que era o alopurinol e o antimoniato de meglumina. Esta mudança de escolha no tratamento pode ser devida ao facto de a miltefosina ser mais segura comparativamente com o antimionato de meglumina em cães com insuficiência renal crónica, quadro clínico bastante comum em cães com leishmaniose, sendo menos provável a ocorrência de dano renal grave (Reguera *et al.*, 2016).

Quanto às respostas sobre a impossibilidade dos tutores em realizar o tratamento, 54,29% dos médicos veterinários responderam que recomendavam a eutanásia.

A Leishmaniose é endémica e é um problema de saúde pública em Portugal, por isso o médico veterinário deve controlar a dispersão da doença, evitando a dispersão pelo vetor, por isso deve-se realizar o tratamento e antiparasitários contra a leishmaniose e quando não for possível deve-se considerar a eutanásia do cão, visto que constitui um risco a saúde da população. Nas campanhas de vacinação anti-rábica em Portugal, os cães que apresentem sintomatologia de leishmaniose, os proprietários devem ser notificados para que realizem o teste de diagnóstico e este deve ser apresentado no prazo de 30 dias ao médico veterinário

municipal. Se o animal tiver um resultado positivo, o tutor tem de realizar o tratamento, caso contrário o animal deve ser submetido a eutanásia (Direção Geral de Alimentação e Veterinária, 2018).

A maior parte dos médicos veterinários referiram que utilizam o método qualitativo (teste rápido), isto deve-se ao facto de se obter um resultado em poucos minutos, como por exemplo com o teste SNAP Leishmania Test® pelo qual obtêm-se resultados em apenas 6 minutos (IDEXX™), estes testes são recomendados antes de realizar a vacinação, pois só podem ser vacinados cães com resultado negativo (EMA, 2011). Contudo, noutro estudo foi descrito que este teste tem baixa sensibilidade, e que não deveria ser utilizado para testar os animais para a vacinação, pois poderiam ser vacinados cães falso-negativos (Solano-Gallego *et al.*, 2014). Quando o resultado for positivo após a realização do teste rápido, recomenda-se realizar um teste quantitativo, o que acresce o custo de diagnóstico, para quantificar os anticorpos (Solano-Gallego *et al.*, 2014). Após a vacinação com CaniLesh®, apesar de ser raro, pode haver deteção de anticorpos vacinais com o Speed Leish K™ ao contrário da vacina Letifend® (Leishvet, 2018).

Ainda em relação aos métodos de diagnóstico, uma menor frequência foi a utilização da citologia/histopatologia (12,86%) e em maior número o PCR (24,71%). Na citologia/histologia é possível observar o parasita diretamente, sendo por isso é um dos métodos de diagnóstico mais precisos (Noli & Auxilia, 2005). A citologia é uma técnica fácil de executar com 100% de especificidade (eliminando a possibilidade de falsos positivos), mas possui baixa sensibilidade (Veterinária atual, 2015). No exame histológico depende do número de amastigotas presentes, onde o diagnóstico pode tornar-se difícil se existirem poucas amastigotas (Maia, 2005).

Apenas um dos médicos veterinários, respondeu não recomendar um antiparasitário externo para profilaxia da leishmaniose. Um dos métodos mais económicos são as coleiras impregnadas com um princípio ativo repelente que pode ter atuação de 6 a 8 meses, ao contrário dos *spot on* que devem ser aplicados a cada 3 semanas (Reguera, 2016), que fazem com que alguns tutores acabem por se esquecer.

Quanto à monitorização da doença, neste estudo 77,14% dos médicos veterinários recomendavam a realização do hemograma, num estudo realizado por Cardoso & Mendão (2009) verificou-se que 62,10% também recomendavam o hemograma como medida de monitorização. Os valores sanguíneos são importantes no acompanhamento dos quadros de anemia não-regenerativa, trombocitopenia, leucopenia associadas a linfopenia ou leucocitose ligeira, monocitopenia e eosinopenia (Paltrinieri *et al.*, 2016).

Em relação à monitorização dos casos clínicos após o tratamento, a medida mais utilizada pelos médicos veterinários foi a verificação dos valores da ureia e creatinina

(85,71%). Num estudo realizado por Cardoso & Mendão (2009), 88,3% também referiram que faziam a monitorização através dos valores de creatinina e ureia. Quanto ao exame físico, no estudo de Cardoso & Mendão (2009), uma grande parte dos médicos veterinários (97,1%), referiu que monitorizava através do exame físico. Neste estudo foram 77,14% dos inquiridos que referiram realizar o exame físico nos animais após o tratamento, verificando uma diminuição.

Quanto à deteção/titulação dos anticorpos como método de monitorização, no presente estudo, esta análise foi referida por 62,1% dos médicos veterinários em comparação aos 40% do estudo realizado por Cardoso & Mendão (2009). Os testes sorológicos quantitativos (IFAT e ELISA), têm a vantagem de avaliar a resposta ao tratamento, onde a redução do título de anticorpos é um indicativo favorável ao tratamento, se houver aumento pode ser indicativo de que o cão não está a receber o tratamento ou que não está havendo resposta ao tratamento (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Oliva *et al.*, 2010; Roura *et al.*, 2013).

A sensibilização dos tutores para o controlo e monitorização deve ser feita, no sentido de fazer um seguimento eficaz da doença através da realização de exames laboratoriais, para posterior estadiamento da doença. Segundo a LeishVet, para a monitorização durante e após o tratamento da leishmaniose, deve ser realizado o exame físico, hemograma, perfil bioquímico ± eletroforese sérica, análise de urina completa ± UPC, serologia quantitativa e PCR em tempo real (opcional) o que vai de encontro com este estudo, em que a maior parte dos inquiridos respondeu que realizava a avaliação da ureia/creatinina, exame físico, hemograma, proteínas totais e albumina.

5. Conclusões

Com a realização deste trabalho, foi possível retirar algumas conclusões importantes, sendo que no presente estudo 4,04% dos tutores não sabiam o que é a leishmaniose e 52,34% não sabiam que a leishmaniose é uma zoonose.

Em relação à desparasitação, verificou-se que 96,41% dos cães eram desparasitados com antiparasitários externos e 93,72% com antiparasitários internos, conclui-se ainda que há tutores que não realizam a desparasitação interna e externa do seu cão. Dos tutores inquiridos, 10,28% não sabia da existência de uma vacina contra a leishmaniose. O que reforça o papel dos médicos veterinários quanto à informação dos tutores de como prevenir esta doença.

Em relação ao estilo de vida do cão, mais de metade dos tutores relataram que o seu cão tinha um estilo de vida misto, ou seja, com acesso ao exterior e ao interior com um maior risco de contrair a doença, devido à maior exposição aos flebótomos como descrito por Gálvez *et al.*, (2010).

Em relação a testagem dos cães verificou-se que 44,29% dos médicos veterinários só recomendavam fazer o teste em animais saudáveis como método preventivo, contudo é importante que os médicos veterinários testem todos os cães, mesmo os saudáveis e sem sintomatologia e que possam recomendar a vacina, aumentando assim a proteção contra a leishmaniose.

Quanto á importância da informação aos tutores de cães sobre a doença, verifica-se que ainda há médicos veterinários que não explicam que esta doença se trata de uma zoonose. É essencial sensibilizar os tutores no sentido de sensibilizá-los para a necessidade da prevenção.

Neste estudo onde se realizou um inquérito aos tutores de cães e médicos veterinários, concluiu-se que a leishmaniose continua a ser uma doença muito comum em Portugal, e que 84,30% dos médicos veterinários consideraram que a Leishmaniose Canina era endémica no concelho onde exerciam a sua atividade profissional.

Concluiu-se que é importante fazer a divulgação desta doença, através de campanhas de sensibilização, nas campanhas de vacinação anti-rábica e explicar sobre a doença, formas de transmissão e de profilaxia adequadas, através de campanhas com a distribuição de folhetos informativos nas clínicas e em hospitais veterinários, em farmácias, através da televisão e de revistas.

6. Referências bibliográficas

- Abranches, P., Pires, C.A., (1980). O kala-azar em Portugal. *Revista Portuguesa de Doenças, Infeciosas* 3, 203–217
- Adamama-Moraitou K.K., Rallis T.S., Koytinas A.F., Tontis D., Plevraki K. & Kritsepi M. (2007). Asyntomatic colitis in naturally infected dogs with *Leishmania infantum*: a prospective study. *Am J Trop Med Hyg*, 76, 53-55.
- Affinity Petcare S.A. Que dieta administrar no tratamento da leishmaniose canina? <https://www.affinity-petcare.com/vetsandclinics/pt/que-dieta-administrar-no-tratamento-da-leishmaniose-canina/>
- AINED- produtos farmacêuticos Corpet News vol.1 (2006), vol. 2 (2007), vol. 3 (2008) retirado de: <https://www.aneid.pt/produto/corpet-coriolus-versicolor/>
- Akhoundi, M., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J. & Marty, P. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. doi.org/10.1371/journal.pntd.0004349
- Alexandre-Pires, G.M. & Correia, J.J. (2008). Capítulo IV: Patogenia e lesões da leishmaniose canina. In G.M. Santos-Gomes & I.M. Pereira da Fonseca (Eds.), *Leishmaniose canina*. (pp. 53-68). Lisboa: Chaves Ferreira Publicações.
- Alvar D., Silva E., (1911). Sobre a frequência do kala-azar nos cães em Lisboa. *Medicina Contemporânea*, 14: 97.
- Alvar, J., Canavate, C., Molina, R., Moreno, J., Nieto, J., (2004). Canine leishmaniasis. *Adv. Parasitol.* 57, 1–88.
- Alvar, J., Cruz, I., Morales, M. A., Cañavate, C., (2002). Molecular biology tools in leishmaniasis diagnosis and epidemiology. In: *Proceedings of the second international canine leishmaniasis forum*, Sevilla Spain.pp 25-31.
- Alvares D., (1910). Um caso de kala-azar infantil em Lisboa. *Medicina Contemporânea*, 13: 90 91.

- Ashford R. (2000). The leishmaniasis as emerging and reemerging zoonoses. *Int J Parasitol.* 30: 1269–1281.
- Baneth, G. & Shaw, S.E. (2002) Chemotherapy of canine leishmaniosis, *Veterinary Parasitology*, 106 (4), 315-324
- Baneth, G., Aroch, I., (2008). Canine leishmaniasis: A diagnostic and clinical challenge. *The Veterinary Journal* 175, 14–15
- Baneth, G., Koutinas, A.F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P., Ferrer, L., (2008). Canine leishmaniosis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol.* 24, 324–330
- Bettini, S., Gradoni, L. (1986). Canine Leishmaniosis in the Mediterranean area and its implications for human Leishmaniosis. *Insect Sci. Applic.*, 7, 241- 245.
- Beugnet F, Halos L, Guillot J. (2018). Textbook of clinical parasitology in dogs and cats.
- Blavier, A., Keroack, S., Denerolle, P., Goy-Thollot, I., Chabanne, L., Cadore, J.L., Bourdoiseau, G., (2001). Atypical forms of canine leishmaniosis. *Vet. J.* 162, 108–120.
- Brianti, E., Napoli, E., Gaglio, G., Falsone, L., Giannetto, S., Basano, F. S.,... 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. DOI:10.1371/journal.pntd.0004987
- Campino L, Abranches P (2002). Leishmaniose cutânea. Uma doença rara em Portugal? *Acta Med Port* 15: 387-390.
- Campino L, Pratlong F, Abranches P, Rioux JA, Santos-Gomes G, Alves-Pires C, Cortes S, Ramada J, Cristovão JM, Afonso MO, Dedet JP (2006). Leishmaniasis in Portugal: enzyme polymorphism of *Leishmania infantum* based on the identification of 213 strains. *Trop Med Int Health* 11: 1708-1714.
- Cardoso, L. & Mendão, C. (2009). Inquérito sobre a leishmaniose canina em Portugal – resultados preliminares. *Veterinary Medicine – Edição Portuguesa*, pp 56-60

- Ciaramella, P. & Corona, M. (2003). Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects, *Compendium*, 25, 358-368.
- Ciaramella, P., Oliva, G., Luna, R.D., Gradoni, L., Ambrosio, R., Cortese, L., Scalone, A., Persechino, A., (1997). A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Record* 141, 539–543.
- Conselho federal de medicina veterinária- leishmaniose visceral canina (2020): <https://www.cfmv.gov.br/perguntas-e-respostas-sobre-a-leishmaniose-visceral-canina-lvc-questoes-tecnicas-e-legais/transparencia/perguntas-frequentes/2018/10/26/>
- Cortadellas, O., del Palacio, M.J., Bayon, A., Albert, A., Talavera, J., (2006). Systemic hypertension in dogs with leishmaniasis: prevalence and clinical consequences. *J. Vet. Intern. Med.* 20, 941–947.
- 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. *Vet Parasitol*, 189, 189-196.
- Costa, F.A., Goto, H., Saldanha, L.C., Silva, S.M., Sinhorini, I.L., Silva, T.C., Guerra, J.L., (2003). Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Vet. Pathol.* 40, 677– 684.
- Cotrina, F. 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, 1972–1982. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.02.111>
- Direção mundial de saúde (DGS). Doenças de Declaração Obrigatória, 2013/2016 volume I- Portugal: <https://comum.rcaap.pt/bitstream/10400.26/22529/1/Doen%C3%A7as%20de%20Declara%C3%A7%C3%A3o%20Obrigat%C3%B3ria%202013-2016%2C%20Volume%20I%20-%20Portugal.pdf>

Direcção-Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV) (2018) - profilaxia da raiva e outras zoonoses, vacinação antirrábica e identificação eletrónica, pp 1-3.

Dos Santos Nogueira, F., Avino, V. C., Galvis-Ovallos, F., Pereira-Chioccola, V. L., Moreira, M. A. B., Romariz, A. P. P. L., ... Menz, I. (2019). Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. *Parasites & Vectors*, 12(1). doi:10.1186/s13071-019-3323-0

Dujardin JC, Campino L, Cañavate C, Dedet JP, Gradoni L, Soteriadou K, Mazeris A, Ozbel Y, Boelaert M (2008). Spread of vector-borne diseases and neglect of Leishmaniasis, Europe. *Emerg Infect Dis*. 14(7):1013-8.

EMA - European Medicines Agency (2011): CaniLeish - Canine vaccine against *Leishmania infantum* adjuvanted. <http://www.ema.europa.eu>

EMA- European Medicines Agency (2011): CaniLeish-*Leishmania infantum* Excreted Secreted Proteins (ESP) - summary of product characteristics. <http://www.ema.europa.eu>

EMA- European Medicines Agency (2019): Bravecto- resumo das características do medicamento. <http://www.ema.europa.eu>

European Scientific Counsel Companion Animal Parasites (ESCCAP) Guideline, 05 Third Edition 2012-2019 control of vector Borne Diseases in Dogs and Cats

Evans, D., (1989). Handbook on Isolation Characterization And Cryopreservation of *Leishmania*. World Health Organization, Geneva, Switzerland, pp. 45.

Faria, T.C.P (2008) Estudo sero-epidemiológico da infecção por *Leishmania infantum* em cães e gatos do município de Vila Franca de Xira (Ribatejo, Portugal) utilizando o teste de imunofluorescência indirecta. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.

Fayet, G. (1999). Canine leishmaniasis in Europe; Part 2: Pathogenesis, clinical signs, diagnosis. *Merial Biological Technical Bulletin*.

- Fayet, G. (2000). Canine leishmaniasis in Europe; Part 3: Treatment, Merial Biological Technical Bulletin. - for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Veterinary Parasitology*
- Ferreira EC, Cruz I, Cañavate C, Melo LA, Pereira AAS, Madeira FAM, et al. (2015). Mixed infection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in rodents from endemic urban area of the New World. *BMC Veterinary Research*. 11: 1–7.
- França-Silva, J.C.; Costa, R.T.; Siqueira, A. M.; Machado-Coelho, G.L.L.; Costa, C.A.; Mayrink, W.; Vieira, E.P.; Costa, J.S.; Gennaro, O., Nascimento, E. (2003). Epidemiology of canine visceral leishmaniasis in the endemic area of Montes Claros municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Veterinary Parasitology*, v.111, n.2-3, p.161-173.
- Galati, E.A.B. (2003). Morfologia e taxonomia: classificação de Phlebotominae. *In*: Rangel, E.F. & Lainson, R. (Orgs.). *Flebotomíneos do Brasil*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro. p. 23-51.
- 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 leishmaniosis in the Madrid region (central Spain). *Vet Parasitol*, 169, 327-334.
- Gomes, Y. M., Paiva Cavalcanti, M., Lira, R. A., Abath, F. G. C., & Alves, L. C. (2008). Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: Biotechnological advances. *The Veterinary Journal*, 175(1), 45–52.
- Gómez-Ochoa, P., Sabate, D., Homedes, J., Ferrer, L., (2012). Use of the nitroblue tetrazolium reduction test for the evaluation of Domperidone effects on the neutrophil function of healthy dogs. *Vet. Immunol. Immunopathol*. 146,97–99.
- Gordon, R.; Crewe, W. (1952). The mechanisms by which mosquitoes and tsetse-flies obtain their blood-meal, the histology of the lesions produced, and the subsequent reactions of the mammalian host; together with some observations on the feeding of *Chrysops* and *Cimex*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 42: 335-356.

Greene, C.E. (2006). Infectious diseases of the dog and cat. (3th edition). (pp.685-698). Philadelphia: Saunders Elsevier.

Greene, C.E. (2012). Infectious diseases of the dog and cat. (4th edition). (pp.734-748). Philadelphia: Saunders Elsevier.

IDEXX SNAP Leishmania: <https://www.idexx.co.uk/en-gb/veterinary/snap-tests/snap-leishmania/>

International Renal Interest Society (IRIS), 2019
<http://www.iriskidney.com/guidelines/staging.html>

Kamhawi, S. (2006). *Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes?* *Trends in Parasitology*, 22(9), 439–445. doi:10.1016/j.pt.2006.06.012

Karkamo, V., Kaistinen, A., Näreaho, A., Dillard, K., Vainio-Siukola, K., Vidgrén, G., ... Anttila, M. (2014). The first report of autochthonous non-vector-borne transmission of canine leishmaniosis in the Nordic countries. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 56(1). doi:10.1186/s13028-014-0084-9

Killick-Kendrick R., (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clinics in Dermatology*, 17: 279-289.

Koutinas, A.F., Polizopoulou, Z.S., Saridomichelakis, M.N., Argyriadis, D., Fytianou, A., Plevraki, K.G., (1999). Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989–1996). *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 35, 376–383.

Laboratórios LETI, S.L. unipersonal- Folheto informativo para: LETIFEND, liofilizado e solvente para solução injetável para cães.

Lainson R, Shaw JJ. (1979). The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In *Biology of the Kinetoplastida*. W. H. R. Lumsden and D. A. Evans (Editors). London and New York: Academic Press 1979; 2: 1–116.

- Lainson, R. (2010) 'The Neotropical *Leishmania* species: a brief historical review of their discovery, ecology and taxonomy', Rev Pan-Amaz Saude, 1(2), pp. 13–32. doi: 10.5123/S2176-62232010000200002.
- Laurenti, M. D., Rossi, C. N., Matta, V. L. R. da, Tomokane, T. Y., Corbett, C. E. P., Secundino, N. F. C., ... Marcondes, M. (2013). Asymptomatic dogs are highly competent to transmit *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi to the natural vector. Veterinary Parasitology, 196(3–4), 296–300. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.03.017>
- LeishVet 4ª Edição- leishmaniose canina e felina setembro 2018, pp 1-27.
- Lladró, S., Picado, A., Ballart, C., Portús, M., & Gállego, M. (2016). Management, prevention and treatment of canine leishmaniosis in north-eastern Spain: na online questionnairebased survey in the province of Girona with special emphasis on new prevention methods (CaniLeish vaccine and domperidone). Veterinary Parasitology. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.03.010>
- López, X.R. (2007). Diagnóstico de leishmaniosis. In Proceedings of the Southern European Veterinary Conference/42nd annual national congress of AVEPA, Barcelona, Spain, 19-21 October.
- Maia, C.A.S. (2005). Diagnóstico laboratorial da leishmaniose canina. Veterinária Técnica, 2, 34-37.
- Maia, C., & Campino, L. (2008). Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. Veterinary Parasitology, 158(4), 274–287.
- Maia, C., & Cardoso, L. (2015). Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling. Veterinary Parasitology, 213(1–2), 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.05.003>
- Martins-Sanchez, J., Acedo, C., Munoz-Perez, M., Pesson, B., Marchal, O., & MORILLASMARQUEZ, F. (2007). Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. Veterinary Parasitology, 145(3-4), 267–273. doi:10.1016/j.vetpar.2006.11.005

- 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. *Veterinary Science*, 85, 35–38.
- Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M., Oliva, G., & Baneth, G. (2008). Canine leishmaniosis: new concepts and insights on an expanding zoonosis - part two. *Trends in parasitology* , 371-377.
- Moreira, M.A.B., Luvizotto, M.C.R., Garcia, J.F., Corbett, C.E.P., Laurenti, M.D. (2007). Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Veterinary Parasitology*, 145, 245-252.
- Moreno, J., & Alvar, J. (2002). Canine leishmaniasis: Epidemiological risk and the experimental model. *Trends in Parasitology*, 18(9), 399–405. [https://doi.org/10.1016/S1471-4922\(02\)02347-4](https://doi.org/10.1016/S1471-4922(02)02347-4)
- Neves, R., cardoso, L., afonso, M. O. & Campino, L. (2007). Leishmaniose canina em Portugal Continental - o que sabem os proprietários de cães acerca desta zoonose parasitária. *Vet. Med.*, pp.47-54.
- Noli, C. & Saridomichelakis, M.N. (2014). An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*), *The Veterinary Journal*, 3, 425- 435.
- Noli, C. and S.T. Auxilia, (2005). Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. *Veterinary dermatology*. 16(4): p. 213-232.
- Noli, C., Saridomichelakis, M.N., (2014). An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). *Vet. J.*202, 425–435.
- ONLeish- Observatório Nacional das Leishmanioses (2011). Primeiro relatório regular da LEISHnet. *Veterinary Medicine*, 13 (73), 31-36.
- Oliva, G., Nieto, J., Manzillo, V. F., Cappiello, S., Fiorentino, E., Muccio, T. D, ... Gradoni, L. (2014). A Randomised , Double-Blind , Controlled Efficacy Trial of the LiESP/QA21

Vaccine in Naïve Dogs Exposed to Two *Leishmania infantum* Transmission Seasons. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(10). <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003213>

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, 1192–1198.

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. *J Clin Microbiol*, 44, 1318–1322.

Ordeix, L., Dalmau, A., Osso, M., Lull, J., Montserrat-Sangrà, S., & Solano-Gallego, L. (2017). Histological and parasitological distinctive findings in clinically-lesioned and normal-looking skin of dogs with different clinical stages of leishmaniosis. *Parasites and vectors*, 10(1), 1–8.

Otranto, D., & Dantas-torres, F. (2013). The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends in Parasitology*, 29(7), 339–345. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2013.05.003>

Palmer, C. S., Robertson, I. D., Traub, R. J., Rees, R., & Andrew Thompson, R. C. (2010). Intestinal parasites of dogs and cats in Australia: The veterinarian's perspective and pet owner awareness. *Veterinary Journal*, 183(3), 358–361. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2008.12.007>

Paltrinieri S., Solano-Gallego L., Fondati A., Lubas G., Gradoni L., Castagnaro M., CROTTI A., Maroli M., Oliva G., Roura X., Zatelli A. & Zini E. (2010). Canine Leishmaniasis Working Group, Italian Society of Veterinarians of Companion Animals. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, 236, 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, 552-578.

- Papadogiannakis, E.I., Koutinas, A.F., Saridomichelakis, M.N., Vlemmas, J., Lekkas, S., Karameris, A., Fytianou, A., 2005. Cellular immunophenotyping of exfoliative dermatitis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). *Vet. Immunol. Immunopathol.* 104, 227–237.
- Pereira, A., Martins, Â., Brancal, H., Vilhena, H., Silva, P., & Pimenta, P., Diz-Lopes D. et al. (2016). Parasitic zoonoses associated with dogs and cats : a survey of Portuguese pet owners' awareness and deworming practices. *Parasites & Vectors*, 1–9. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1533-2>
- Pereira, M.A.M. (2008). Capítulo III: Epidemiologia da leishmaniose canina. In G.M. SantosGomes & I.M. Pereira da Fonseca (Eds.), *Leishmaniose canina*. (pp. 41-51). Lisboa: Chaves Ferreira Publicações.
- Rangel Elizabeth F., Simone M. da Costa and Bruno M. Carvalho, (2014). Environmental Changes and the Geographic Spreading of American Cutaneous Leishmaniasis in Brazil.
- Reguera, R. M., Morán, M., Pérez-Pertejo, Y., García-Estrada, C., & Balaña-Fouce, R. (2016). Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, 227, 98–114. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2016.07.011>
- Rogers ME, Nikolaev AV, Ferguson MA, Bate PA (2004). Transmission of cutaneous leishmaniosis by sand flies is enhanced by regurgitation of fPPG. *Nature*. 430:463–467.
- Romano, DVM Departamento R&D Affinity Petcare S.A- Estudo Leishmaniose, Research reports.
- Rosypal A.C., Zajac A.M. & Lindsay D.S. (2003). Canine visceral leishmaniosis and its emergence in the United States. *Vet. Clin. North Am., Small Anim. Pract.* 33:921-937.
- 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. doi.org/10.1016/j.tvjl.2013.04.001

- Sabaté, D., Llinás, J., Homedes, J., Sust, M., Ferrer, L., (2014). A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. *Prev. Vet. Med.* 115, 56–63.
- Saridomichelakis, M. (2009). Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: Epidemiologic and diagnostic implications. *Veterinary Dermatology*, 471-489.
- Saridomichelakis, M.N., Mylonakis, M.E., Leontides, L.S., Koutinas, A.F., Billinis, C., Kontos, V.I., (2005). Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 73, 82–86.
- Schlein Y, Warburg A. (1986). Phytophagy and the feeding cycle of *Phlebotomus papatasi* (Diptera: Psychodidae) under experimental conditions. *J Med Ent*;23(1):11–5
- Shimabukuro, P.H.F. & Galati, E.A.B. (2010). Checklist dos Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) do Estado de São Paulo, Brasil, com comentários sobre sua distribuição geográfica. *Biota Neotropica*, vol. 11(1a):1-20.
- Simão, J.S.C (2018) Tratamento e prevenção da leishmaniose em cães domésticos (*Canis familiaris*): avaliação de diferentes cenários. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Slappendel RJ. (1988). Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in The Netherlands. *Vet Q.*;10(1):1-16. doi: 10.1080/01652176.1988.9694140.
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., ... Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, 165(1–2), 1–18. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.05.022>

- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M. G., Ferrer, L., Bourdeau, P. et al. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 4:86.
- 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., 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 inhouse IFAT. *Parasit Vectors*, 7, 111.
- Sousa, C. B. P. & Day, M. J. (2011). One Health: The global challenge of epidemic and endemic Leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 4, 197.
- Steverding, D. (2017). The history of leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 10(1). doi:10.1186/s13071-017-2028-5
- 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. *The Veterinary Journal* 188, 346-351.
- Trotz-Williams, L. & Gradoni, L. (2003). Disease risks for the travelling pet: Leishmaniasis, In *Practice*, 190-197.
- Tuon, F.F., Neto, V.A., Amato, V.S., (2008). *Leishmania*: origin, evolution and future since the Precambrian. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 54, 158–166.
- Vamvakidis, C.D., Koutinas, A.F., Kanakoudis, G., et al., (2000). Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *The Veterinary Record*, 146, 698–703.

- Veterinária atual, (2015). Citologia como método de diagnóstico de *Leishmania infantum*
<https://www.veterinaria-atual.pt/na-pratica/citologia-como-metodo-de-diagnostico-de-leishmania-infantum/>
- Virbac Portugal (2018)- Resumo das Características do Medicamento milteforan:
<https://pt.virbac.com/medicamentos-sujeitos-a-receita/milteforan.html>
- Volf, P., Hostomska, J., Rohousova, I., (2008). Molecular crosstalks in *Leishmania*-sandfly-host relationships. *Parasite* 15, 237–243
- Vulpiani, M. P., Iannetti, L., Paganico, D., Iannino, F., & Ferri, N. (2011). Methods of control of the *Leishmania infantum* dog reservoir: State of the art. *Veterinary Medicine International*, 2011. <https://doi.org/10.4061/2011/215964>
- WHO, World Health Organization (2019) https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1
- World Health Organization (WHO) (2020). Leishmaniosis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>
- World Health Organization (WHO), (2010). Control of the Leishmaniasis. Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniases. In: Technical Report Series 949. 2010.
- Zatelli, A., Borgarelli, M., Santilli, R., Bonfanti, U., Nigrisoli, E., Zanatta, R., Tarducci, A., Guarraci, A., (2003). Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. *Am. J. Vet. Res.* 64, 558–56

Anexos

Anexo I - Questionário destinado aos Tutores

Inquérito: “O conhecimento da população sobre leishmaniose” Este inquérito, que tem um carácter perfeitamente anónimo, tem em vista a elaboração de uma dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Lusófona. Com a informação recolhida neste inquérito pretende-se avaliar qual o conhecimento que a população, em especial os proprietários de animais, tem sobre a leishmaniose. Obrigada pela colaboração!

1. Identificação do inquirido

1.1. Sexo:

☐ Feminino

☐ Masculino

1.2. Idade:

☐ <18

☐ 18 – 25

☐ 26 – 35

☐ 36 – 45

☐ 46 – 55

☐ 56 – 65

☐ >65

1.3. Habilitações literárias:

☐ E. Primário

☐ E. Básico

☐ E. Secundário

☐ E. Superior

1.4. Reside no distrito de: _____

1.5. Reside no concelho de: _____

2. Identificação do animal e informação sobre o parasita

2.1. O seu animal é:

☐ Indoor (vive apenas dentro de casa)

☐ Outdoor (vive apenas fora de casa)

☐ Estilo de vida misto (vive dentro e fora de casa)

2.2. É desparasitado?

☐ Internamente

- ☐ Externamente
- ☐ Internamente e externamente
- ☐ Não

Se respondeu “Não” ou “internamente” à pergunta anterior não responder às perguntas 2.3. 2.4 2.5.

2.3. Com que frequência administra o desparasitante externo?

- ☐ Mensalmente
- ☐ De 2 em 2 meses
- ☐ De 3 em 3 meses
- ☐ De 6 em 6 meses
- ☐ Anualmente
- ☐ Não me lembro

2.4. Quando compra desparasitante externo tem atenção se previne a leishmaniose?

- ☐ Sim
- ☐ Não

2.5. Que desparasitante externo faz (pode seleccionar mais do que uma opção)?

- ☐ Advantix
- ☐ Seresto
- ☐ Frontline
- ☐ Scalibor
- ☐ Advocate
- ☐ Bravecto
- ☐ Simparica
- ☐ Nexgard
- ☐ Não sei

Outra _____

2.6. Sabia que há parasitas que estão nos animais domésticos que podem ser uma zoonose (podem ser transmitidos aos seres humanos)?

- ☐ Sim
- ☐ Não

2.7. Já ouviu falar na leishmaniose e que esta é uma zoonose?

- ☐ Sim já conhecia este parasita, mas não sabia que era uma zoonose.
- ☐ Sim já conhecia este parasita e sabia que esta era uma zoonose.
- ☐ Não conheço este parasita.

Caso tenha respondido que não conhece este parasita deve parar de responder a este questionário.

2.8. Como teve conhecimento deste parasita?

- ☐ Televisão
- ☐ Revista
- ☐ Internet
- ☐ Medico veterinário

2.9. O seu cão tem leishmaniose (se responder sim a esta pergunta responder às perguntas 2.10, 2.11, 2.12)?

- ☐ Sim
- ☐ Não
- ☐ Não sei

2.10. Que sinais clínicos teve o seu cão (responder a esta pergunta se respondeu sim à anterior)?

- ☐ Emagrecimento
- ☐ Lesões de pele
- ☐ Problemas renais
- ☐ Lesões oculares
- ☐ Problemas gastrointestinais

2.11. Após o diagnóstico de leishmaniose o que foi recomendado pelo médico veterinário (pode selecionar mais que uma opção)?

- ☐ Glucantime (Antimoniato meglumina)
- ☐ Leishgard (Miltefosina)
- ☐ Alopurinol
- ☐ Eutanásia
- ☐ Aminosidina
- ☐ Levamisol
- ☐ Nenhum tipo de terapêutica foi recomendado

Outro: _____

2.12. Que tratamento optou (pode selecionar mais que uma opção)?

- ☐ Glucantime (Antimoniato meglumina)
- ☐ Leishgard (Domperidona)
- ☐ Alopurinol
- ☐ Aminosidina

☐ Levamisol

☐ Eutanásia

☐ Nenhum tipo de terapêutica foi recomendado

Outro: _____

2.13. Sabia que existe vacina contra a leishmaniose?

☐ Sim e o meu cão é vacinado.

☐ Sim, mas o meu cão não é vacinado

☐ Não

2.14. Sabia que para ser administrada esta vacina o animal tem que fazer o teste para ver se tem leishmaniose?

☐ Sim

☐ Não

2.15. Sabia que um cão com leishmaniose deve continuar a fazer desparasitação externa contra este parasita?

☐ Sim

☐ Não

2.16. Gostaria que o veterinário do seu animal lhe desse mais informações sobre a leishmaniose?

☐ Sim

☐ Não

Anexo II-Questionário destinado aos veterinários

O questionário destina-se a ser utilizado numa dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias a servir de base a um estudo estatístico.

Dados do medico veterinário

1. Idade

2. Concelho onde exerce a sua atividade?

3. Há quantos anos exerce clínica de Pequenos Animais?

4. A sua prática clínica decorre em (se necessário selecione mais do que uma opção):

☐ Clínica

☐ Hospital

☐ Universidade

☐ Municipal

Ano de 2019

5. Nº médio de cães observados diariamente:

6. Nº médio de novos casos de cães com leishmaniose diagnosticados mensalmente:

7. Nos últimos anos, diminuiu, manteve-se ou aumentou o nº médio de casos de cães com leishmaniose? _____

8. Quando recomenda a eutanásia nos casos de Leishmaniose?

9. Considera que a leishmaniose é endémica no concelho onde exerce?

10. Nas consultas fala sobre a leishmaniose aos tutores?

☐ Sim

☐ Não

11. Informa os tutores relativamente ao caráter zoonótico deste parasita?

☐ Sim

☐ Não

Métodos de diagnóstico

12. A que cães recomenda fazer o teste da leishmaniose?

☐ Todos os cães

☐ Apenas os cães com sinais clínicos

13. Qual o método de diagnóstico que costuma utilizar para a leishmaniose (se necessário selecione mais que uma opção)?

☐ Qualitativa (teste rápido)

☐ Quantitativa (IFAT, ELISA)

☐ Citologia/ Histopatologia

☐ PCR

Prevenção

14. Recomenda aos tutores a vacinação dos cães negativos?

☐ Sim

☐ Não

Responder às perguntas 15 e 16 se respondeu sim á resposta anterior

15. Que vacina recomenda/faz contra a leishmaniose?

☐ LetiFend®

☐ CaniLeish®

16. Após administrar a vacina teve algum cão que apresentou reação adversa?

☐ Sim

☐ Não

17. Qual é o antiparasitário externo que recomenda (se necessário selecione mais do que uma opção)?

☐ Advantix

☐ Seresto

☐ Frontline

☐ Scalibor

☐ Advocate

☐

☐ Bravecto

☐ Simparica

☐ Nexgard

Outro: _____

18. A que cães recomenda a utilização de inseticidas? (se necessário selecione mais do que uma opção):

☐ Cães saudáveis

☐ Cães em tratamento

☐ Cães pós-tratamento

Manifestações clínicas observadas

19. Quadro clínico mais frequentemente observado:

☐ Cutâneo

☐ Visceral / Sistémico

☐ Misto

20. Quais as 5 manifestações clínicas da lista abaixo são observadas mais frequentemente (por ordem decrescente):

Anorexia

Caquexia / perda de peso

Doenças cutâneas

Doenças oculares

Icterícia

Epistaxis

Esplenomegalia

Febre

Linfadenomegalia

Mucosas pálidas

Onicogrifose

Insuficiência renal crônica

Outra (escrever qual)

Tratamento

21. Qual o tratamento que utiliza mais?

☐ Alopurinol

☐ Combinação de antimoniato de meglumina e alopurinol

☐ Combinação de miltefosina e alopurinol

☐ Anfotericina B

☐ Domperidona (LeishGuard®)

Outros: _____

22. Indique as associações de fármacos que utiliza mais frequentemente:

_____ -

23. Se o tutor não tiver possibilidade para pagar o tratamento recomenda a eutanásia?

☐ Sim

☐ Não

Evolução

24. Após a instituição do tratamento como faz o acompanhamento do caso clínico:

☐ Exame físico

☐ Hemograma

☐ Detecção de anticorpos

☐ PCR – Pesquisa de DNA de *Leishmania*

☐ Proteínas totais e Albumina

☐ Proteínas totais

☐ Ureia e creatinina

☐ ALT