

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Angelina Mariana Pereira Alcazas¹; Elisangela Gomes Sivieri¹; Maria Francisca Neves^{2,5}; Débora Cristina Nogueira^{3,5}; Ane Pamela Capucci Torres^{4,5*}

¹ Graduando em Medicina Veterinária, Faculdade Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS; ² Doutora em Patologia Animal – UNESP; ³ Doutora em Sistema de Produção Vegetal – UNESP; ⁴ Doutora em Medicina Veterinária Preventiva – UNESP; ⁵ Docente das Faculdades Integradas de Três Lagoas – FITL/AEMS

* autor correspondente ane.capucci@yahoo.com.br

RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC), é uma doença zoonótica de grande importância para a saúde pública, pois pode ser transmitida para os seres humanos. É uma afecção considerada crônica, o agente etiológico é o protozoário *Leishmania infantum* e os principais vetores são os flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* e tem como o principal reservatório da doença os animais da espécie canina. Os sintomas clínicos mais frequentes observados na LVC incluem dificuldade locomotora, perda de peso, polidipsia, apatia, anorexia, vômito, diarreia, polifagia, epistaxe e melena, entre outros. Os achados de exames físicos, merecem destaque a linfadenomegalia, caquexia, hipertermia, esplenomegalia, uveíte, conjuntivite e as alterações dermatológicas. O diagnóstico conclusivo é baseado nos exames laboratoriais, sendo os principais métodos para tal confirmação o ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (RIFI) e o exame molecular (PCR).

PALAVRAS-CHAVE: leishmaniose visceral; saúde pública; *Leishmania infantum*; flebotomíneos.

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC), é uma doença zoonótica de grande importância para a saúde pública, pois pode ser transmitida para os seres humanos. É uma afecção considerada crônica, causada pelo protozoário *Leishmania infantum* e tem como os principais vetores os flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, tem como o cão doméstico o principal reservatório da doença e afetando assim a saúde pública (WHO 2014; BRASIL 2010).

A doença é endêmica em mais de 98 países, principalmente na região do Mediterrâneo, África, Ásia Meridional e América Latina (ELSHEIKHA, 2016). No Brasil, a LVC é transmitida através da picada do mosquito pertencente à família dos flebotomídeos, ao gênero *Lutzomyia* e à espécie *Lutzomyia longipalpis*. Este

vetor é popularmente conhecido, por mosquito-palha, birigui ou tatuquiras e, constituindo-se no principal vetor brasileiro. O mosquito-palha é um inseto muito pequeno, que costuma se reproduzir em locais com muita matéria orgânica em decomposição (COSTA, 2011).

Os cães domésticos reagentes para a LVC, nem sempre são sintomáticos, deste modo não há uma contagem exata de quantos animais estão infectados pela *Leishmania infantum*, o protozoário pode manter-se incubado durante anos (READY, 2014). Os felinos podem ser infectados, porém apresentam certa resistência natural a LVC (SOLANO-GALLEGO et al., 2007)

Os cães, praticamente, todos desenvolvem doença visceral ou sistêmica, sendo que 90% dos animais também apresentam algum envolvimento cutâneo. Os sinais viscerais mais comuns observados são linfadenopatia,

emaciação, sinais possíveis de insuficiência renal (poliúria, polidipsia, vômito), neuralgia, poliartrite, poliomiosite, e outros sinais clínicos; sendo que aproximadamente um terço dos pacientes apresenta febre e esplenomegalia. Dentre os sinais cutâneos podemos citar hiperqueratose, pelagem seca e quebradiça, perda de pelos, e unhas anormalmente longas ou quebradiças, o que se constitui em um achado específico em alguns pacientes (TILLEY; SMITH JR., 2008).

O objetivo deste trabalho é descrever os principais conceitos de leishmaniose visceral canina e enfatizar a importância dos exames complementares, que são essenciais para o diagnóstico definitivo.

2 LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

2.1 Etiologia

A leishmaniose visceral é uma doença infecto-parasitária de grande importância médica e veterinária, causada por protozoários pertencentes à ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (MARTINS et al., 2015). Tornam-se cada vez mais frequente o número de animais portadores da doença nos consultórios veterinários. As espécies de *Leishmania* causadoras da leishmaniose visceral presentes na África, Europa e Ásia são *L. donovani* e *L. infantum*. Já o agente etiológico encontrado no continente americano é a *L. infantum*, também chamada de *L. chagasi* (SILVA, 2007). As leishmanias são organismo pleomórficos, ou seja, são encontrados sob duas formas, de acordo com o hospedeiro. A forma flagelada, denominada promastigota, é encontrada nos hospedeiros invertebrados; a forma aflagelada, amastigota, está presente nos hospedeiros vertebrados (MARTINS, 2015; SILVA, 2007).

A forma promastigota se caracteriza por flagelos extracelulares; a amastigota é intracelular obrigatória das células do sistema fagocítico mononuclear

do mamífero hospedeiro (MICHELETTI; BEATRIZ, 2012). Os vetores responsáveis pela transmissão dos protozoários são os flebotomíneos dos gêneros *Phlebotomus* e *Lutzomyia*. No Brasil, o principal representante é o *L. longipalpis* e *L. cruzi*, estes fazem a transmissão no estado do Mato Grosso do Sul (FONTES; SILVA, 2011).

2.2 Vetor e ciclo biológico

Os vetores são conhecidos popularmente por mosquito palha, birigui, cangalhinha e tatuquiras (BRASIL, 2014; SOUZA, 2014), suas principais características morfológicas são: asas longas, aveludados, olhos grandes, cabeça direcionada para baixo, cavidade oral comprida, é de tamanho pequeno com aproximadamente 1 a 3mm de comprimento, o corpo é de coloração cor de palha ou castanho claro, e coberto de pelos (Figura 1). Esses dípteros tem um hábito comportamental de voar em saltos e ao pousar as asas não se cruzam sobre o dorso, permanecendo com as asas entreabertas e levantadas (DANTAS-TORRES et al., 2012).

Figura 1. Imagem do vetor flebótomo *Lutzomyia Longipalpis*.



Fonte: Extraído de Berrueta, 2017.

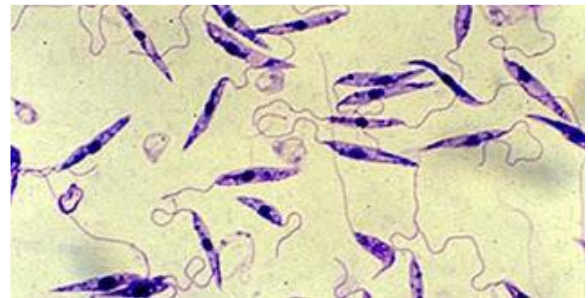
O vetor vive preferencialmente ao nível de solo, em lugares próximos a vegetação em raízes e troncos de árvores, e em abrigos de animais, crescem em locais com a umidade superiores a 80%, temperatura entre 20 e 30°C com pouca luz, sem ventilação. Os machos e fêmeas são fitófagos, e somente as fêmeas são hematófagas, pois necessitam de sangue para a folicular ovariana (FRANÇA-SILVA et al., 2005). O ciclo de vida completo possui quatro fases ovo, larva, pupa e adultos, tendo uma vida curta de trinta dias (NOVO, 2011). As formas adultas se adaptam ao ambiente domiciliar, colocando o cão como uma boa fonte para o repasto sanguíneo das fêmeas, possuem hábito crepuscular e noturno (BRASIL, 2010). A saliva do vetor contém o parasito, possui elementos anti-inflamatórios, imunomoduladores e anticoagulantes, assim desencadeando a infecção no hospedeiro (ROSYPAL; ZAJAC; LINDSAY, 2003; BRAZIL, 2013).

Os lugares de preferências para as fêmeas são locais com pouco pelo como os focinhos, pálpebras e pavilhão auricular. Mas isso não descartar que o flebótomo realiza o repasto sanguíneo em outros lugares do corpo; coxas, dorso e dígito, contribuindo para o ciclo primário de transmissão da doença (BRASIL, 2014).

No ciclo biológico desses parasitas eles apresentam duas formas do agente pela qual são diferenciadas, conhecidas estas como promastigota e amastigota. A forma flagelada, chamada de promastigota (Figura 2), é encontrada no trato gastrointestinal do vetor, possui subdivisão em duas formas: uma larga e pouco móvel que se adere a parede intestinal, e outra mais móvel, que é encontrada livre no lúmen intestinal, e possui probóscide, que se trata de aparelho bucal longo. As promastigotas se referem das formas infectantes, e são inoculadas quando as fêmeas, que são os vetores, realizam repasto sanguíneo, uma vez no tecido hospedeiro, as formas promastigotas transformam-se na forma

amastigotas (MEGID et al., 2018).

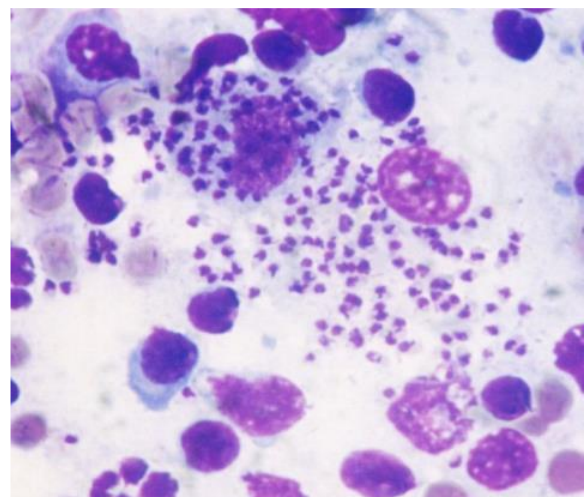
Figura 2. Formas promastigotas de *Leishmania infantum*.



Fonte: Extraído de Megid et al., 2018.

No macrófago hospedeiro, a *Leishmania* encontra-se na forma não flagelada, denominada amastigota (Figura 3), que possui um formato mais arredondado, e seu núcleo possui uma coloração basofílica, estes se multiplicam por divisão binária, e posteriormente sai do macrófago com finalidade de infectar outras células, o vetor pode ingerir essas formas quando ingurgitam com sangue de hospedeiros infectados (SIQUEIRA, 2009).

Figura 3. Formas amastigotas de *Leishmania infantum* em medula de cão infectado.



Fonte: Extraído de Dantas-Torres, 2008.

No intestino do flebótomo, as amastigotas saem das células sanguíneas do hospedeiro e passam por transformações, derivando-se assim na forma promastigota pró-cíclica flagelada e extracelular, aonde vão se multiplicar. No

vetor ocorrem multiplicações e alterações moleculares geralmente reguladas na superfície celular parasitária e desprendimento do epitélio da parede intestinal, posteriormente ocorrerá uma migração no intestino anterior e aparelho bucal dessas formas que após transformações se tornam promastigotas metacíclicas e são formas infecciosas. Após a picada do flebótomo o vetor infectado, quando se alimentam novamente, as formas promastigotas são injetadas com saliva na pele do hospedeiro, assim, após a inoculação a forma promastigota perderá seu flagelo e se transformará assim em amastigota outra vez. Com isso esse hospedeiro passará a se tornar um transmissor caso flebotomíneos, que não está infectado, venha a se alimentar de seu sangue. Os tutores que possuem dois ou mais animais em casa e um desses animais for positivo, não necessariamente o outro também será, pois, a transmissão é feita pela picada e não pelo contato entre os animais, porém o risco existe pelo motivo de ter mosquitos infectados no ambiente (GREENE, 2015).

2.3 Patogenia

Quando ocorre a transmissão o protozoário chega à circulação sanguínea e a partir disso dá-se início a disseminação do microrganismo para todo organismo do animal. As formas parasitárias têm um mecanismo próprios para suportarem à lise e sua ativação é feita pelo sistema complemento. A *Leishmania sp.* Possui a capacidade de sobreviver as repostas imunológicas do hospedeiro, além disso são capazes de penetrar em macrófagos através do controle que exerce sobre os receptores celulares (MONTALVO et al., 2012).

No decorrer da infecção, a resposta mediada por linfócitos T é significativa, devido ao parasito ser intracelular obrigatório e essas células possuem ação citotóxica com distinção da célula infectada. A doença no cão é habitualmente

definida como sistêmica e crônica, a forma é grave podendo desenvolver no animal e levá-lo a óbito. Os animais considerados assintomáticos são devido à forma latente estabelecida em alguns animais (GREENE, 2015).

O parasito utiliza como estratégia a sua invasão aos macrófagos, como uma forma de se proteger e garantir sua sobrevivência, ficando livre e protegido da resposta imune do animal, porém o parasito ficara exposto ao PH ácido e enzimas hidrolíticas dos fagolisossomos (CORTES et al., 2012).

2.4 Sinais clínicos

As primeiras alterações clínicas nos animais não são detectadas. Conforme a carga parasitária aumenta ou quando há fatores de imunossupressão no animal infectado, podem aparecer lesões cutâneas como alopecia, descamação podendo evoluir para úlceras, geralmente no focinho, na mucosa oral e nasal, e orelhas (WEIGLE; SARAVIA, 1996).

Com o avanço da doença, os parasitos podem ser encontrados no baço, medula óssea, linfonodos e fígado, lugares onde ocorre sua proliferação, causando aumento de volume e mal funcionamento dos mesmos (POCAI, 1998).

A LVC é uma doença crônica, com sinais clínicos surgindo entre três meses a sete anos após a infecção. As regiões de linfócitos T nos órgãos linfoides tornam-se diminuídas e as regiões de produção de anticorpos e linfócitos B proliferam. A proliferação de linfócitos B, plasmócitos, histiócitos e macrófagos resulta em linfadenomegalia, esplenomegalia e hiperglobulinemia (SALZO, 2008).

Os sintomas clínicos mais frequentes observados na LVC incluem dificuldade locomotora, perda de peso, polidipsia, apatia, anorexia, vômito, diarreia, polifagia, epistaxe e melena. Dentre os achados de exame físico, merecem destaque a linfadenomegalia, caquexia,

hipertermia, esplenomegalia, uveíte e conjuntivite (SALZO, 2008).

2.5 Alterações dermatológicas

O sinal dermatológico mais comum é de uma dermatite esfoliativa com escamas esbranquiçadas similares a asbestos. Essa esfoliação pode ser generalizada, mas geralmente é mais pronunciada na cabeça, orelhas e extremidades. A descamação pode ser seguida de hiperqueratose naso-digital e áreas de alopecia e, hipotricose. Com a progressão da doença, nódulos e ulceração multifocal também podem acompanhar a descamação principalmente nas orelhas e no focinho. Outras apresentações incluem onicogribose, paroníquia, dermatite pustular estéril, despigmentação nasal com erosão e ulceração e piodermite bacteriana (SCOTT et al., 2001 apud SALZO, 2008).

2.6 Alterações sistêmicas

Existem alterações sistêmicas dentro da LVC, além das dermatológicas. A hepatomegalia, linfadenopatia, esplenomegalia, linfadenopatia generalizada, uveíte, conjuntivite, blefarite, pneumonia intersticial, rinite, poliartrite neutrofílica e glomerulonefrite. A partir dessas alterações sistêmicas, surgem diversos sinais clínicos como secreção ocular, tosse, epistaxe, poliúria ou polidipisia, icterícia, letargia, apatia, febre, vômito, diarreia e melena (DUARTE, 1986; SHERDING, 2006; LAPPIN, 2009).

2.7 Diagnóstico

No Brasil, a leishmaniose visceral é doença de notificação compulsória, que requer ampla investigação epidemiológica para definir as estratégias de controle. O programa de controle coordenado pelo Ministério da Saúde tem como objetivo reduzir as taxas de letalidade, grau de morbidade e riscos de transmissão, mediante controle das populações de reservatórios e do vetor, além do diagnóstico e tratamento precoce dos

casos humanos da doença (BRASIL, 2003).

Uma característica importante da leishmaniose em cães é a forma inaparente da doença por longos períodos. Animais assintomáticos representam grande problema para saúde pública, pois detectar a infecção é difícil, o que impossibilita a adoção de medidas adequadas de controle. Devido à dificuldade da observação da doença enquanto não estão presentes os sinais clínicos antes descritos, é de suma importância que o profissional da área esteja atualizado quanto aos métodos de diagnóstico, o que redundará na profilaxia da doença e no sucesso ao combate da leishmaniose (MACHADO, 2007).

Os métodos conhecidos atualmente para o diagnóstico da leishmaniose são diagnóstico clínico, parasitológico, sorológico, imunológico, molecular e cultivo parasitológico. O diagnóstico clínico é difícil devido a semelhança com outras enfermidades, portanto, devemos realizar diagnósticos diferencial e exame específico. As alterações laboratoriais encontradas no hemograma, ou nos exames de função renal ou hepática, são inespecíficos, tornando o diagnóstico laboratorial ou parasitológico necessários para a confirmação da suspeita (FEITOSA, 2006).

No diagnóstico parasitológico, o parasita pode ser demonstrado em material obtido de punção de medula óssea, linfonodos e baço, através de esfregaços corados com corantes básicos, tais como Giemsa, Wright e Panótico (NEVES, 1991).

A citologia aspirativa é um método de fácil execução, amplamente utilizado no diagnóstico, especialmente em clínicas veterinárias. A técnica caracteriza-se pela rapidez de execução, baixa agressão tecidual e elevada especificidade. Ocasionalmente, também se observam parasitos em impressões citológicas obtidas abaixo de crostas e escamas cutâneas, ou através de aspiração

de nódulos cutâneos (BRASIL, 2003).

Os métodos sorológicos que visam à detecção de anticorpos anti-*Leishmania* são utilizados principalmente em campanhas de inquéritos epidemiológicos (NEVES, 1991). Os testes sorológicos devem ser interpretados com cautela, uma vez que não são 100% sensíveis. Entretanto, os animais doentes desenvolvem resposta imune humoral e produzem altos títulos de IgG anti *Leishmania* spp (FERRER, 1988).

A colheita do material para o diagnóstico sorológico deve ser realizada utilizando soro sanguíneo, ou por meio da obtenção de um eluato, método no qual amostras de sangue são colhidas por punção da veia marginal auricular do cão com auxílio de microlancetas descartáveis e transferidas por capilaridade para papel filtro padronizado (BRASIL, 2003). Muitos testes sorológicos estão disponíveis, mas os recomendados atualmente pelo Ministério da Saúde para o inquérito é a imunofluorescência indireta (RIFI) e o ELISA (BRASIL, 2003).

A leishmaniose canina pode ser considerada como uma doença imunomediada, visto que o gênero *Leishmania* tem a capacidade de modificar o sistema imunológico do hospedeiro (FEITOSA, 2000). Técnicas de imuno-histoquímica ou imunocitoquímica são métodos altamente específicos e sensíveis para a detecção do antígeno de *Leishmania* spp em tecidos. Nessas técnicas, imunoglobulinas conjugadas e enzimas são utilizadas para identificar antígenos em cortes histológicos, exames citológicos e esfregaços sanguíneos. O alto grau de contraste obtido entre os parasitos e as células hospedeiras, permite rápido diagnóstico da infecção, mesmo quando o número de parasitos é pequeno (FERRER, 1988).

A forma mais utilizada no diagnóstico molecular é a Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), que permite identificar, ampliar seletivamente sequências de DNA do parasito, que pode ser

detectado em uma variedade de tecidos, tais como medula óssea, biópsias cutâneas, aspirados de linfonodos, sangue e cortes histológicos de tecidos parafinados. A principal desvantagem das técnicas moleculares é que estas requerem laboratórios bem equipados e habilidade técnica (BRASIL, 2003).

No cultivo parasitológico, formas amastigotas do parasito, inoculadas em meios de cultura especiais contendo Agar e sangue de coelho, transformam-se em promastigota e seu crescimento leva de três a cinco dias. Esses meios de diagnóstico têm baixa sensibilidade, especialmente nos estágios iniciais da doença, nos quais a carga parasitária é pequena (BRASIL, 2003).

2.8 Tratamento

Através da portaria Interministerial nº 1.426 de 11 de junho de 2008, foi proibido o tratamento de cães positivos para leishmaniose com o uso de medicamentos humanos ou outros medicamentos que não possuem registros pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A partir dessa pressuposição foi criado um medicamento pela Virbac o Milteforan® sendo licenciados pelo MAPA (Nota técnica conjunta nº 001/2016- MAPA) com o intuito de tratar a LVC, estando dentro dos regulamentos necessário para efetuar sua função (GATTI et al., 2018).

O Milteforan® é a droga que possibilita o controle da doença, evitando a progressão. O uso dessa droga é considerado eficaz, porém deve-se associar medidas de prevenção a picada do flebotômico com o cão, assim diminuindo as chances do animal se infectar novamente. A miltefosina é o princípio ativo do Milteforan® ela é caracterizada pois possui uma similaridade da sua estrutura com os materiais que o parasito metaboliza. O mecanismo de ação da miltefosina é dado pela inibição da produção e o bloqueio da sinalização da membrana celular do protozoário, causando a morte

celular por apoptose (MIRÓ et al., 2009; VIRBAC, 2016).

Mesmo o Milteforan sendo comprovadamente eficiente para a doença, ele não é acessível para a maioria e foi o que levou os proprietários dos animais a recorrerem a tratamentos alternativos como protocolos com uso do alopurinol, medicamento de linha humana usado para o controle da doença, em associação com outras classes medicamentosas, que quando usadas em conjunto atingem o efeito desejado (TONHATI, 2018).

A miltefosina (Miltteforan) tem sua ação parasitária direta (leishmanicida) e baixa toxicidade (MIRÓ et al., 2009 apud ARAÚJO; COSTA; RISSO, 2018), mas devido ao seu alto custo, pouco se utiliza como solução para combater a doença nos animais. Já o alopurinol, constatado em testes “*in vitro*”, por bloquear o metabolismo das purinas, exerce um efeito de impedir a reprodução do parasito *Leishmania* (GINEL et al., 1998 apud OLIVEIRA; ANTONIO; PICCININ, 2008). Dessa forma, com sua ação leishmanioestática, tem um papel muito importante para controlar a carga parasitária, como também a remissão das alterações clínico-laboratoriais nos animais com LV (PAYANO, 2018).

A dose indicada é de 2mg/kg SID, 1 ml/ 10kg (20mg/ml), administrar durante 28 dias juntamente com as refeições. O efeito colateral que o medicamento pode apresentar é vômito, para ser evitado é o uso do antiemético. O tratamento com Milteforan® tem uma alta eficiência na diminuição da carga parasitária em diversos tecidos, incluindo medula óssea e linfonodo, a taxa de toxicidade é baixa então causa danos no fígado (VIRBAC, 2016).

O monitoramento é essencial durante o período de tratamento, com a finalidade é acompanhar se há resposta terapêutica juntamente com os exames bioquímicos, hematológicos e sorológicos. Não existe cura parasitológica

definitiva, porém ocorre uma queda do número de parasitas circulantes. É indicado que o animal passe por exames e avaliação a cada 4 meses e se necessário um iniciar um novo ciclo da terapia medicamentosa (CFMV, 2017).

2.9 Medidas de prevenção e controle da leishmaniose

A estratégia de controle da Leishmaniose visceral aplicável a campanhas de saúde pública e conhecida desde a década de 50 é baseada em três ações, quais sejam, a detecção e tratamento dos casos humanos, o combate ao vetor, através das aplicações de inseticidas e o inquérito sorológico canino com a eliminação dos cães soropositivos (COSTA et al., 2001).

Há prevenção serve para evitar a disseminação da leishmaniose na população canina. A vacina contra a Leishmaniose tem uma grande importância para o controle e redução de oferta do parasita aos vetores, ela irá prover uma proteção para os cães contra as picadas dos flebotômíneos, os colares repelentes que estão no mercado (Scalibor®, leivre®, seresto®), e repelentes tópicos também são indicados na prevenção contra o flebotômíneo (AIT-ODUDHIA et al., 2012).

O combate ao vetor é defendido como a principal medida para o controle da leishmaniose humana e canina (DYE, 1996). O uso de inseticidas residuais no interior das casas e abrigos de animais é considerado eficiente para reduzir a população peridoméstica dos flebotomos e conseqüentemente, a transmissão parasitária (GENARO et al., 2000).

3 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os exames complementares são de suma importância para chegar a um diagnóstico definitivo, pelo fato do diagnóstico clínico ser difícil devido a semelhança com outras enfermidades. Da mesma forma, as alterações

laboratoriais encontradas no hemograma, ou nos exames de função renal ou hepática, são inespecíficos, tornando o diagnóstico laboratorial ou parasitológico necessários para a confirmação da suspeita.

Baseado nisso, como para toda doença infectocontagiosa a melhor opção para a leishmaniose é adotar as medidas preventivas, evitando a disseminação na população canina. Assim, a vacina contra a Leishmaniose tem uma grande importância no controle e redução do parasita entre os vetores e os hospedeiros definitivos. Da mesma forma, os colares repelentes que estão no mercado (Scalibor®, Ilevre®, Seresto®), e os repelentes tópicos também são indicados na prevenção da doença juntamente com a vacina.

REFERÊNCIAS

BERRUETA, 2017. Disponível em: <www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/parasitologia/leishmaniosis.html>. Acesso em: 17 jul. 2020.

BRASIL. Guia de vigilância epidemiológica, 7ª edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Saúde. Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral. Brasília. 2006.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2014.

CORTES, S. et al. Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 189, n. 2-4, p. 189-196, 2012.

DANTAS-TORRES, 2008. Disponível em:

<<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-1-25>>. Acesso em: 17 jul. 2020.

DANTAS-TORRES, F., et al. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends in Parasitology*, Oxford, v. 28, n. 12, p. 531-538, 2012.

FONTES, S. D.; SILVA, A. S. A. Leishmaniose visceral canina. *Anais III SIM-PAC*. v. 3, n. 1, p. 285-290, Viçosa-MG, jan-dez-2011.

GREENE, C. E. Doenças Infeciosas em cães e gatos. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015. Disponível em: <<http://www.pubvet.com.br/uploads/4ac9ae71b590cb87702bc03d1f2d1327.pdf>>. Acesso em: 20 jul. 2020.

MARTINS, N. S. et al. Alterações da matriz extracelular esplênica em cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*. *Ciência Animal Brasileira*. v. 16, n. 1, p. 103-115, jan/mar. 2015.

MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia. 1ª edição. Ed. Roca. Rio de Janeiro. 2018.

MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*, v.23, suplemento 1, 2004.

MICHELETTI, A. C.; BEATRIZ, A. Progressos recentes na pesquisa de compostos orgânicos com potencial atividade leishmanicida. *Revista Virtual Química*. v. 4, n. 3, p. 268-286, 2012.

MONTALVO, A. M., et al. Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, Habana, v. 64, n. 2, 2012.

Disponível em: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602012000200002>. Acesso em: 05 maio 2020.

POCAI, E. A. et al. Leishmaniose Visceral (calazar). Cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. Rev. Cienc. Rural, v. 28 n. 3 Santa Maria Jul/Set 1998.

SALZO, P. S. Aspectos dermatológicos da leishmaniose canina. Nosso clínico, São Paulo, ano 11, n. 63, p.30-34, 2008.

SILVA, F.T.S. Patologia e patogênese da

leishmaniose visceral canina. Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas. v. 1, n. 1, p. 20. 2007.

WEIGL, E. K.; SARAIVA, N. G. Natural history, clinical evolution, and the host-parasite interaction in New World cutaneous Leishmaniasis. Clinics in Dermatology, v. 14, n. 5: p.433-450, set./out. 1996.

WHO 2014. Leishmaniasis. World Health Organization, Geneva. Disponível em: <<https://www.who.int/health-topics/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 25 maio 2020.