



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

TRATAMENTO E PREVENÇÃO DA LEISHMANIOSE EM CÃES
DOMÉSTICOS (*Canis familiaris*): AVALIAÇÃO DE DIFERENTES
CENÁRIOS

JOANA SOFIA CORREIA SIMÃO

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

Doutora Magda Alexandra Nobre Martins Aguiar
de Andrade Fontes

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

ORIENTADOR:

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

2018
LISBOA



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

TRATAMENTO E PREVENÇÃO DA LEISHMANIOSE EM CÃES
DOMÉSTICOS (*Canis familiaris*): AVALIAÇÃO DE DIFERENTES
CENÁRIOS

JOANA SOFIA CORREIA SIMÃO

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI:

Doutora Isabel Maria Soares Pereira da
Fonseca de Sampaio

Doutora Magda Alexandra Nobre Martins Aguiar
de Andrade Fontes

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

ORIENTADOR:

Doutor José Augusto Farraia e
Silva Meireles

2018
LISBOA

Aos meus pais.

Agradecimentos

Primeiro de tudo, quero agradecer aos meus pais, pois, sem vocês, nada teria sido possível. Apesar da distância física estiveram sempre presentes – são e serão sempre o meu principal pilar. Um eterno obrigada.

Ao meu orientador Professor Doutor José Meireles, por todo o apoio, disponibilidade e incentivo desde o primeiro dia.

Ao Professor Doutor António Ferreira por ter permitido a realização do meu estágio no Hospital Escolar Veterinário da FMV.

Ao Dr. Gonçalo Vicente por me ter recebido e guiado nesta nova etapa, pela transmissão de conhecimentos, persistência e conselhos no momento mais acertado.

À Professora Doutora Magda Fontes por todo o apoio, paciência e esclarecimentos prestados durante a realização da dissertação.

À Mestre Sabrina Goltsman pelo apoio, boa disposição e pelas palavras amigas. Acredito que um dia ainda nos vamos voltar a cruzar neste mundo da Veterinária.

Um obrigada a toda a Equipa do HEV. São todos fantásticos. Pela vossa simpatia, paciência e apoio. Um especial agradecimento a todos os enfermeiros e auxiliares, pois vocês permitiram que muitos dos conhecimentos teóricos passassem à prática; aos médicos veterinários que tornaram os dias de estágio uma constante fonte de aprendizagem e testaram os meus conhecimentos.

Aos meus colegas de estágio: Luís, companheiro de cirurgia, Patrícia, pequenina, mas com uma vontade enorme, Sofia e Lory, sempre C's e Cláudia, a nortenha mais alegre. Vocês tornaram o estágio mais feliz, obrigada.

À Dra. Lídia Gomes pelas dicas imprescindíveis e ajudas de última hora.

A toda a minha família, em especial aos meus avós paternos e maternos que me ajudaram na concretização deste sonho, à minha tia Vi que me deu a conhecer o amor pelos animais, aos meus tios e primos sempre presentes, principalmente à minha Lara.

Às amigas que a FMV me ofereceu: Mara, Maria, Marta, Caty, Catarina e Vanny. Vocês permitiram que estes anos fossem os melhores possíveis e guardo as nossas aventuras com muito carinho. À Sofes, muito mais de que uma companheira de casa, uma irmã mais velha. Mariana, companheira de escrita, tia favorita das manas, sempre alegre e disponível.

Aos amigos de sempre e para sempre, os meus Algarvios do coração: Manos Paulo, Maga e Adriano, Rita Loira, Ana e Guilhas, Jorge e Joana, Nuno e Rafa – com vocês cresci e quero continuar a partilhar a vida.

Ao David, o meu mais que tudo, sempre presente e com uma paciência inesgotável. Obrigada por seres quem és e por todo o teu infundável apoio.

Por fim, não posso deixar de agradecer aos meus *bichos*: vocês são e serão sempre o motivo principal deste meu querer.

Tratamento e prevenção da Leishmaniose em cães domésticos (*Canis familiaris*): avaliação de diferentes cenários.

Resumo

A Leishmaniose canina (LCan) é uma doença zoonótica que se encontra distribuída mundialmente. A principal via de transmissão do protozoário *Leishmania* é através dos insetos flebótomíneos. Esta doença apresenta uma grande variedade de sinais clínicos que podem sofrer alteração relativamente à sua intensidade durante a vida do animal. Na ausência de tratamento, a doença pode-se tornar fatal. Os cães domésticos apresentam um papel relevante nesta infeção, pois são considerados reservatórios naturais do agente para o Homem.

A LCan é endémica no nosso país, apresentando uma elevada frequência em determinadas regiões do mesmo. No entanto, diversas práticas podem ser realizadas para evitar o aparecimento da doença, como, por exemplo, o uso de repelentes, desparasitantes externos e, mais recentemente, a administração de vacinas. Quer a prevenção, quer o tratamento inerentes à LCan envolvem custos económicos para os tutores. O objetivo deste trabalho foi estudar a LCan, descrevendo e comparando a prevenção e o tratamento da doença de acordo com três cenários distintos. Assim, no primeiro cenário foi considerado que um animal realiza prevenção durante 10 anos e esta é 100% eficaz, não ocorrendo desenvolvimento da doença. No cenário 2 o animal é sujeito a prevenção durante os dois primeiros anos de vida, contrai a doença neste segundo ano, iniciando então o tratamento e falecendo aos sete anos de idade. No cenário 3 o animal demonstra sinais de doença clínica aos dois anos de idade sem nunca ter realizado qualquer tipo de prevenção, falecendo aos sete anos de idade.

A análise económica teve em conta 2 tipos de prevenção: duas vacinas (A e B) e coleiras desparasitantes e dois tratamentos (antimoniato de meglumina com alopurinol ou miltefosina com alopurinol), considerando 3 tipos diferentes de tamanho corporal de um canídeo (10, 20 e 30 kg). Uma análise benefício-custo foi realizada para o cenário 1. O cálculo do RBC e do VLA demonstra a viabilidade económica desta prevenção (no pressuposto de uma eficácia de 100%). Relativamente aos custos com o tratamento nos cenários 2 e 3, conclui-se que o protocolo com antimoniato de meglumina e alopurinol apresenta custos mais baixos para animais com 10 kg de peso vivo, enquanto que com o protocolo miltefosina com alopurinol tem valores mais baixos quando administrados a animais com 20 e 30 kg.

Com este trabalho pretendeu-se realçar a importância da análise económica previa à tomada de decisão do MV nas situações onde qualquer dos protocolos terapêuticos e ou de prevenção mencionados fossem aplicáveis.

Palavras-chave: Leishmaniose canina, prevenção, tratamento, análise benefício-custo.

Treatment and prevention of Leishmaniasis in domestic dogs (*Canis familiaris*): evaluation of different scenarios.

Abstract

Canine Leishmaniasis (LCan) is a zoonotic disease that is distributed worldwide, with the protozoan *Leishmania* transmitted mainly by sandflies. This disease presents a wide variety of clinical signs that may change in intensity during animal life. In the absence of treatment, the disease can become fatal. Domestic dogs play a relevant role in this disease, since they are considered natural reservoirs of the agent for man.

LCan is endemic in our country, presenting a high frequency in certain regions of the same. However, several practices can be undertaken to prevent the onset of the illness, such as the use of repellents, dewormers and, more recently, the administration of vaccines. Both the prevention and the treatment in LCan involve economical costs for the tutors. The aim of this work was to study LCan, describing and comparing the prevention and the treatment of the disease according to three different scenarios. Thus, in the first scenario, it was considered that an animal carries out prevention for ten years and it is 100% effective, without occurrence of disease. In scenario 2 the animal is subjected to prevention during the first two years of life, gets the disease in this second year, starting treatment and dying at the age of seven. In scenario 3 the animal shows signs of clinical disease at two years of age without ever having performed any type of prevention, dying at the age of seven.

The economic analysis considered two types of prevention: two vaccines (A and B) and deworming collars and two treatments (meglumine antimoniate with allopurinol or miltefosine with allopurinol), considering 3 different types of a canine body size (10, 20 and 30 kg).

A cost-benefit analysis was made for scenario 1. The RBC and VLA calculations demonstrate the economic viability of this prevention (assuming 100% efficacy). Concerning the treatment costs in scenarios 2 and 3, it is concluded that the protocol with meglumine antimoniate and allopurinol has lower costs for animals weighing 10 kg, whereas with the protocol miltefosine and allopurinol have lower values when administered to animals weighing 20 and 30 kg.

This work aimed to highlight the importance of economic analysis prior to the decision making of the Veterinarian in situations where any of the therapeutic protocols and/or prevention mentioned were applicable.

Keywords: Canine leishmaniasis, prevention, treatment, cost-benefit analysis.

Índice Geral

Agradecimentos	iii
Resumo	v
Abstract	vii
Índice Geral	ix
Lista de figuras	xi
Lista de tabelas.....	xi
Lista de abreviaturas, siglas, unidades e símbolos	xii
Nota prévia	xiv
Capítulo I – Descrição das atividades realizadas durante o estágio curricular	1
Capítulo II – Leishmaniose canina	4
1. Etiologia da Leishmaniose.....	4
2. Epidemiologia da Leishmaniose	4
2.1. Vetores	4
2.2. Ciclo de vida e transmissão.....	7
2.3. Distribuição da Leishmaniose no mundo e na Europa.....	9
2.4. A Epidemiologia de Leishmaniose em Portugal Continental.....	10
2.5. Relação Leishmaniose/ <i>Canis familiaris</i>	11
3. A importância da Leishmaniose em Segurança e Saúde Pública	12
4. Abordagem clínica da Leishmaniose	13
4.1. Imunidade e Patogénese	13
4.2. Sinais clínicos	15
4.2.1. Estadiamento da Leishmaniose canina	18
4.3. Diagnóstico	18
4.4. Terapêutica	21
4.4.1. Compostos antimoniais.....	22
4.4.2. Miltefosina.....	23
4.4.3. Alopurinol e suas combinações.....	24
4.4.4. Marbofloxacin.....	25
4.4.5. Outras opções de tratamento	25
4.5. Seguimento clínico	27
4.6. Prevenção e controlo	27
4.6.1. Coleiras.....	28
4.6.2. <i>Spot-on</i>	29

4.6.3. Sprays.....	29
4.6.4. Imunoprofilaxia.....	30
5. Economia na saúde.....	31
5.1. Introdução	31
5.2. Farmacoeconomia.....	32
5.2.1. Conceitos	33
5.3. Aplicações práticas da farmacoeconomia	38
5.4. Aplicações em Medicina Veterinária.....	38
5.5. Limitações da análise farmacoeconómica	40
Capítulo III – Avaliação de custos inerentes ao tratamento e prevenção da Leishmaniose em cães domésticos	42
1. Introdução	42
2. Objetivos	42
3. Materiais e Métodos	42
3.1. Recolha dos dados e descrição de cenários	42
3.2. Descrição dos parâmetros utilizados na análise económica.....	43
3.2.1. Cenário 1: Prevenção com ausência de doença clínica	43
3.2.2. Cenário 2: Canídeo sujeito a prevenção e que contrai LCan aos 2 anos de idade.....	45
3.2.3. Cenário 3: Canídeo que contrai LCan sem nunca ter realizado um método de prevenção	46
4. Resultados e Discussão.....	46
4.1. Cenário 1: Prevenção com ausência de doença clínica	46
4.2. Cenário 2: Canídeo sujeito a prevenção e que contrai LCan aos 2 anos de idade.....	49
4.3. Cenário 3: Canídeo que contrai LCan sem nunca ter realizado um método de prevenção.....	50
4.4. Comparação dos custos do cenário 2 com o cenário 3	51
Capítulo IV – Conclusões e perspetivas futuras.....	53
Bibliografia.....	55
Anexos.....	71

Lista de figuras

Figura 1. Sessão de Acupuntura.....	3
Figura 2. Inseto do género <i>Phlebotomus</i>	5
Figura 3. Ciclo de vida de <i>Leishmania</i>	8
Figura 4. Distribuição geográfica da Leishmaniose canina no continente Europeu	9
Figura 5. Classificação dos custos.....	34

Lista de tabelas

Tabela 1. Classificação taxonómica de <i>Leishmania</i>	4
Tabela 2. Classificação taxonómica do díptero transmissor do agente <i>Leishmania</i>	5
Tabela 3. Estadiamento clínico da LCan com base nos sinais clínicos e alterações laboratoriais	18
Tabela 4. Fármacos com efeito Leishmanicida/Leishmanióstático comprovado na LCan. ...	22
Tabela 5. Moléculas inseticidas com eficácia na prevenção da mordedura por flebótomos. ...	28
Tabela 6. Métodos de Análise Económica	37
Tabela 7. Custos atualizados da prevenção durante a vida do animal.....	47
Tabela 8. Valores atualizados dos benefícios de uma prática de prevenção 100% eficaz. ...	48
Tabela 9. Valores líquidos atualizados.....	48
Tabela 10. Rácios benefício-custo	49
Tabela 11. Custos atualizados de um animal que faz prevenção e contrai a doença aos 2 anos de idade.....	50
Tabela 12. Custos atualizados totais de um animal que realiza a prevenção, mas contrai a doença aos 2 anos de idade	50
Tabela 13. Custos atualizados do uso de coleiras desparasitantes aquando o início do tratamento para a LCan.....	51
Tabela 14. Custos totais atualizados do tratamento com uso de coleira desparasitante.....	51

Lista de abreviaturas, siglas, unidades e símbolos

Ac	Anticorpos
Ac-AntiLeish	Anticorpos Anti- <i>Leishmania</i>
ABC	Análise Benefício-Custo
ACE	Análise Custo-Efetividade
ACU	Análise Custo-Utilidade
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AHCC	<i>Active hexose correlated compound</i>
ALT	Alanina-transferase
AMC	Análise de Minimização de Custos
AVAQ	Anos de Vida Ajustados por Qualidade
bid	<i>Bis in die</i> , duas vezes ao dia
CMH-I	Complexo maior de histocompatibilidade-I
CMH-II	Complexo maior de histocompatibilidade-II
e.g.	<i>Exempli gratia</i> , por exemplo
ELISA	<i>Enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EV	Endovenosa
FAS	Fosfatase alcalina
FMV	Faculdade de Medicina Veterinária
HAART	Terapêutica anti-retroviral altamente ativa
HEV	Hospital Escolar Veterinário
i.e.	<i>Id est</i> , isto é
IFA	Técnica de imunofluorescência
IFN- γ	Interferão gamma
IHMT	Instituto de Higiene e Medicina Tropical
IL-2	Interleucina 2
IL-4	Interleucina 4
IL-10	Interleucina 10
IM	Intramuscular
IRC	Insuficiência Renal Crônica
IRIS	<i>International Renal Interest Society</i>
ISPOR	<i>International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research</i>
LC	Leishmaniose Cutânea
LCan	Leishmaniose Canina
LMC	Leishmaniose Mucocutânea
LV	Leishmaniose Visceral

LVH	Leishmaniose Visceral Humana
MIMV	Mestrado Integrado em Medicina Veterinária
MV	Médico Veterinário
NK	Células <i>Natural Killer</i>
NO	Óxido nítrico
OMS	Organização Mundial de Saúde
ONLeish	Observatório Nacional da Leishmaniose
PAAF's	Punções aspirativas por agulha fina
PCR	<i>Polymerase chain reaction</i>
PO	<i>Per os</i>
PVP	<i>Preços de Venda ao Público</i>
QA-21	<i>Quillaja saponaria</i>
qRT-PCR	PCR em tempo real
RBC	Rácio Benefício-Custo
RCM	Resumo das Características do Medicamento
SC	Subcutânea
sid	<i>Semel in die</i> , uma vez por dia
SMF	Sistema Macrofágico Fagocitário
SNS	Sistema Nacional de Saúde
spp.	Espécies
Th1	Linfócitos T- <i>helper</i> do tipo 1
Th2	Linfócitos T- <i>helper</i> do tipo 2
TNF- α	Fator de necrose tumoral alpha
ULisboa	Universidade de Lisboa
UPC	Rácio proteína/creatina urinário
VAB	Valor atual do benefício
VAC	Valor atual do custo
VC	Valor de custo
VIH	Vírus da imunodeficiência humana
VLA	Valor Líquido Atualizado

€	Euro
=	Igual a
>	Maior que
®	Marca registada
<	Menor que
°	Graus

%	Percentagem
d	Dias
h	Horas
<i>i</i>	Taxa de juro real
kg	Quilograma
µg	Micrograma
m	meses
mg	Miligrama
ml	Mililitro
mm	Milímetros
mm ²	Milímetros quadrados
Σ	Somatório
<i>t</i>	Número de anos

Nota prévia

Esta dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária consiste numa recolha bibliográfica exaustiva sobre a Leishmaniose canina, avaliando, do ponto de vista financeiro, a prevenção e o tratamento da mesma, com base em dados recolhidos no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa no ano de 2017.

Capítulo I – Descrição das atividades realizadas durante o estágio curricular

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária (MIMV) da Faculdade de Medicina Veterinária (FMV) teve a duração de 6 meses, com uma carga horária total de 1024 horas, tendo sido realizado entre 2 de março de 2017 e 1 de setembro de 2017 no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária (HEV-FMV) nas áreas de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia e Exóticos sob a orientação do Professor Doutor José Meireles e tendo sido maioritariamente acompanhada pelo Dr. Gonçalo Vicente.

As atividades foram realizadas em turnos de 8 ou 12 horas e estes encontravam escalonados de forma rotativa nos seguintes setores do hospital:

- a. Cirurgia (192 horas), sendo o horário de 2.^a a 6.^a feira no período da manhã de acordo com as cirurgias previamente agendadas em consulta. A estagiária dava início à receção dos animais, onde se confirmava previamente a prática de jejum e se analisavam os resultados laboratoriais das análises pré-cirúrgicas, de modo a ser possível prosseguir para o ato cirúrgico, procedendo também à pesagem do animal e ao preenchimento da ficha de internamento cirúrgico. Já na sala de preparação cirúrgica, e sob a supervisão do cirurgião, procedia-se à cateterização endovenosa, à preparação e administração de fluídos e fármacos, intubação endotraqueal, indução anestésica, tricotomia, lavagem e desinfeção da área de intervenção cirúrgica, assim como, de forma alternada, às funções de ajudante do cirurgião, cirurgião e anestesista (manutenção e monitorização da anestesia) e circulante. Por vezes, com a supervisão do cirurgião, foram realizados alguns procedimentos, tais como, suturas de pele e orquiectomias em gatos e cães. Após o término da cirurgia, a estagiária era responsável pela monitorização pós-cirúrgica e encarregue de levar os animais até ao internamento.

Foram observadas cirurgias eletivas e de urgência, tais como:

- 1) cirurgias da cavidade oral (biopsias gengivais e linguais, destartarizações e extrações dentárias);
- 2) cirurgias do aparelho génito-urinário (exérese de pólipos vaginais, orquiectomias, ovariectomias, cesarianas de urgência, cistotomias, resolução de piómetra);
- 3) cirurgias ortopédicas (resolução de hérnias discais, resolução de rotura do ligamento cruzado, amputação de dígitos, amputação de membros e cauda, osteossíntese de ossos longos, resolução de luxação da patela);
- 4) cirurgia geral (colocação de tubo de esofagostomia, colocação de dreno pleural, exérese de nódulos cutâneos);

- 5) cirurgias da cavidade abdominal (laparotomia para biópsia de linfonodos mesentéricos e intestino, esplenectomia, resolução de torção gástrica);
- 6) cirurgia oftálmica (resolução de entrópion, resolução de cataratas bilaterais);
- 7) cirurgia oncológica (mastectomias unilaterais e bilaterais, exérese de neoplasias cutâneas, exérese de massas neoplásicas hepáticas). No mesmo período foram observadas otoscopias, colonoscopia, endoscopia brônquica seguida de lavagem broncoalveolar e observação de colheita de líquido cefalorraquidiano.
- b. Internamento (240 horas): os turnos, diurnos ou noturnos, tinham a duração de 12 horas e poderiam ser realizados a qualquer dia da semana, incluindo feriados. Neste serviço, a estagiária era responsável pelo acompanhamento dos pacientes hospitalizados, incluindo a preparação e administração de alimentação entérica e medicação prescrita pelo médico veterinário responsável, manutenção da higiene e do bem-estar dos mesmos, através da realização de passeios diários, limpeza e desinfecção das boxes, alimentação e fornecimento de água aos mesmos, bem como a atenção e carinho necessários. A estagiária também auxiliou o médico veterinário e os enfermeiros em diversos procedimentos de rotina do internamento, realizando a monitorização do paciente através do exame físico, cateterização endovenosa, colheita de amostras de sangue e urina, ficando responsável pelo encaminhamento das mesmas para os respectivos laboratórios, algaliação de cães, desinfecção de feridas e mudança de pensos, monitorização e transfusão de sangue, medição de pressão arterial e glicemia e realização de enemas; por vezes procedia à entrega do animal ao tutor explicando a nota de alta (medicação a administrar e cuidados a ter no domicílio); a estagiária encontrava-se também presente nas passagens de casos entre os clínicos e enfermeiros no período da manhã, tarde e noite, onde acompanhava a discussão dos casos clínicos.
- c. Medicina Interna (592 horas): neste serviço, a estagiária participou em consultas de diferentes especialidades, em consultas de rotina, de seguimento, de segunda opinião e primeiras consultas no HEV-FMV. No decorrer destas foram desenvolvidas capacidades de comunicação e comportamento perante o cuidador e os diferentes tipos de animais. Em consulta, a autora procedia à pesagem do animal, à recolha do estímulo iatrotópico, história pregressa e anamnese do paciente, dando, em seguida, início ao exame físico pormenorizado. Após informar o médico veterinário do motivo da consulta, a estagiária auxiliava nas seguintes atividades: contenção física, colheita de amostras [sangue, urina, pelos, punções aspirativas com agulha fina (PAAF), zaragatoas], coloração de citologias auriculares, colocação de cateteres, preparação e administração de fármacos, resolução de ototomas, e

realização de pensos, receção de animais com indicação de internamento e procedimento de eutanásia em pacientes terminais.

Devido ao tema de dissertação inicialmente proposto: “Prática de Acupuntura no Maneio da Dor Oncológica” e ao interesse por esta temática, foi possível assistir a algumas consultas de acupuntura realizadas pela Dra. Sabrina Goltsman. Estas consultas encontravam-se associadas às sessões de quimioterapia (Figura 1). No serviço de oncologia do HEV-FMV, a estagiária recebia o animal, procedia à pesagem do mesmo, à colheita de sangue para hemograma e a sua realização laboratorial, com a supervisão do clínico responsável. Após a realização de todos os hemogramas e confirmado os parâmetros necessários para dar continuidade à administração dos quimioterápicos, a estagiária acompanhava o cálculo das dosagens, preparação, manipulação e administração dos mesmos. Quando necessário, a estagiária procedia à vigilância dos animais após o término dos procedimentos e à preparação dos mesmos para entrega aos seus cuidadores.

Figura 1. Sessão de Acupuntura (Foto original).



Capítulo II – Leishmaniose canina

1. Etiologia da Leishmaniose

A Leishmaniose canina (LCan) é uma doença zoonótica complexa causada por um protozoário com a classificação taxonómica referida na Tabela 1. Encontram-se descritas, até hoje, cerca de 53 espécies diferentes de *Leishmania* e, destas, 20 são responsáveis por doença clínica no Homem (Campillo *et al.*, 1999; Akhoundi *et al.*, 2016). Contudo, apenas uma pequena quantidade de espécies de *Leishmania* é considerada antroponótica, enquanto a maioria das espécies são zoonóticas.

A doença no Homem pode ser classificada, de acordo com os sinais clínicos demonstrados, como Leishmaniose Visceral (LV) ou “Kala-azar”, Leishmaniose Mucocutânea (LMC) e Leishmaniose Cutânea (LC) (Baneth, 2006). No cão não se observa uma distinção tão nítida das manifestações clínicas causadas por estes parasitas e os animais tendem a apresentar uma síndrome viscerocutânea (Tomás & Romão, 2008). Apenas *L. infantum* (*L. chagasi* na América) parece ser relevante como agente de doença no cão. Contudo, este é o principal reservatório de *L. infantum* para as infeções humanas, relevando, assim, a sua importância na saúde animal e humana (Boggiatto *et al.*, 2011).

Tabela 1. Classificação taxonómica de *Leishmania* (Adaptado de Solano-Galego *et al.*, 2013).

Reino	PROTISTA
Sub-Reino	Protozoa
Filo	Sarcomastigophora
Sub-Filo	Mastigophora
Ordem	Kinetoplastida
Sub-Ordem	Trypanosomatina
Família	Trypanosomatidae
Género	<i>Leishmania</i>

2. Epidemiologia da Leishmaniose

2.1. Vetores

Este parasita é transmitido pela mordedura de um díptero da Família Psychodidae, Subfamília Phlebotominae, vulgarmente denominados de flebótomos, sendo também vetores de

Bartoneloses e Arboviroses. Apesar de alguma controvérsia e não se encontrar definido um sistema universalmente aceite em relação à classificação dos flebotomíneos (Tabela 2), com os trabalhos de Rispail & Lèger (1998) e Lèger & Depaquit (2001), para as espécies do Velho Mundo (Europa, Ásia e África), e de Galati (1995, 2003), para as espécies do Novo Mundo (América do Norte e do Sul), a classificação foi revista e definiram-se 34 géneros: 10 no Velho Mundo e 22 no Novo Mundo, tendo sido concluído também que ocorreu no passado a extinção de 2 géneros: *Phlebotomiella* Meunier, 1905 e *Phlebotomites* Henning, 1972. De entre as mais de 800 espécies reconhecidas (464 espécies reportadas no Novo Mundo e 375 no Velho Mundo), aproximadamente 166 espécies foram reportadas como vetores ou potenciais vetores de *Leishmania*, tanto no Novo como no Velho Mundo; destas, 78 estão comprovadas como vetores de *Leishmania* (Akhoundi *et al.*, 2016). Na Europa, as espécies vetores mais relevantes são: *Phlebotomus kyelakii*, *P. langeroni*, *P. longicuspis*, *P. neglectus*, *P. perfilliewi*, *P. syriacus* e *P. tobbi* (Solano-Gallego *et al.*, 2013), *P. perniciosus* e *P. ariasi* (Campino & Maia, 2010).

Tabela 2. Classificação taxonómica do díptero transmissor do agente *Leishmania*.

Reino	Animalia
Filo	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordem	Diptera
Subordem	Nematocera
Família	Psychodidae
Subfamília	Phlebotominae

Estes vetores são insetos de pequenas dimensões (2 a 5 mm de comprimento), de antenas longas, aspeto frágil e, quando em repouso, as suas asas apresentam uma posição característica, em forma de V, num ângulo de 45° com o abdómen (Figura 2).

Figura 2. Inseto do género *Phlebotomus*. Fonte: CDC/Frank Collins, 2006.



Encontram-se distribuídos por regiões temperadas, tropicais e subtropicais, em todos os continentes, não tendo sido reportada, até à presente data, a sua presença na Nova Zelândia e nas Ilhas do Pacífico (Branco, 2011). Contudo, a sua distribuição está dependente do tipo de clima, vegetação e composição dos solos (Afonso & Alves-Pires, 2008), sendo a atividade do vetor mais acentuada durante a fase crepuscular ou noturna (Guernaoui, Boussaa, Pesson & Boumezzough, 2006). Nas regiões endémicas e com as condições ambientais favoráveis, um cão pode estar sujeito a mais de 100 mordeduras por hora durante a noite podendo corresponder a, aproximadamente, uma mordedura infetante por hora (Saridomichelakis, 2009).

Em Portugal, encontram-se atualmente conhecidas 5 espécies de flebotomos (*P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. papatasi*, *P. sergente* e *Sergentomya minuta*), sendo *P. perniciosus* e *P. ariasi* referidas como as principais responsáveis pela transmissão de *L. infantum* (Pereira da Fonseca, Saraiva-Marques, Basso & Garrido, 2013). A época de transmissão ocorre entre março-abril e setembro-outubro em Portugal continental. Na Bacia do Mediterrâneo e na Ásia estes dípteros encontram-se ativos entre a primavera e o final do outono, enquanto que nos países de clima tropical o vetor encontra-se ativo durante todo o ano (Branco, 2011; Afonso & Alves Pires, 2008).

A duração do ciclo de vida varia de acordo com a espécie em causa, temperatura, humidade, fotoperíodo e disponibilidade de alimento. O ciclo de vida do inseto ocorre em dois meios físicos diferentes: enquanto que os adultos vivem no meio aéreo, as formas imaturas habitam o meio terrestre (Branco, 2011; Afonso & Alves Pires, 2008). Apenas as fêmeas são hematófagas, *i.e.*, alimentam-se de sangue do hospedeiro através da formação de um microhematoma no local da mordedura (telmofágicas). Os hospedeiros são normalmente mamíferos, mas, por vezes, os vertebrados inferiores terrestres também o podem ser (Torres-Guerrero, Quintsnills-Cedillo, Ruiz-Esmenjaud & Arenas, 2017). Assim, depreende-se que apenas as fêmeas são responsáveis pela transmissão de *Leishmania* spp. (Afonso & Alves-Pires, 2008). Tanto os machos como as fêmeas são fitófagos, pois alimentam-se de açúcares ou de sucos vegetais provenientes de plantas ou de outros insetos, nomeadamente de afídeos (pulgões) (Schlein & Warburg, 1986). De acordo com a espécie de inseto o biótopo também difere: existem espécies flebotomínicas endofílicas, *i.e.*, que preferem o interior de habitações, enquanto outras preferem o exterior (exófilicas). Porém, ambas têm como preferência locais frescos e húmidos para repouso, como casas, caves (endofílicas), grutas e zonas de vegetação densa (exófilicas) (Killick-Kendrick, 1999; Afonso & Alves Pires, 2008). Contudo, é importante referir que cada vez mais são detetados novos casos de LCan em áreas citadinas (Solano-Gallego *et al.*, 2013). No inverno, a sobrevivência do parasita é sustentada principalmente por cães infetados, pois não existe evidência de transmissão transovárica no vetor (Bates, 2007); contudo, outros hospedeiros já foram reportados como estando infetados,

como, por exemplo, os roedores sinantrópicos (Helhazar, Leitão, Duarte, Tavares e Pereira da Fonseca, 2013). Com as atuais alterações climáticas, nomeadamente o aumento da temperatura média dos oceanos e da atmosfera terrestre, poderemos vir a observar uma expansão geográfica dos vetores flebotomíneos e um aumento da sua atividade, bem como uma diminuição do período de desenvolvimento de *Leishmania* no vetor, levando, deste modo, a um aumento do risco de transmissão do parasita pelo vetor (Calheiros *et al.*, 2006; Ready, 2008).

2.2. Ciclo de vida e transmissão

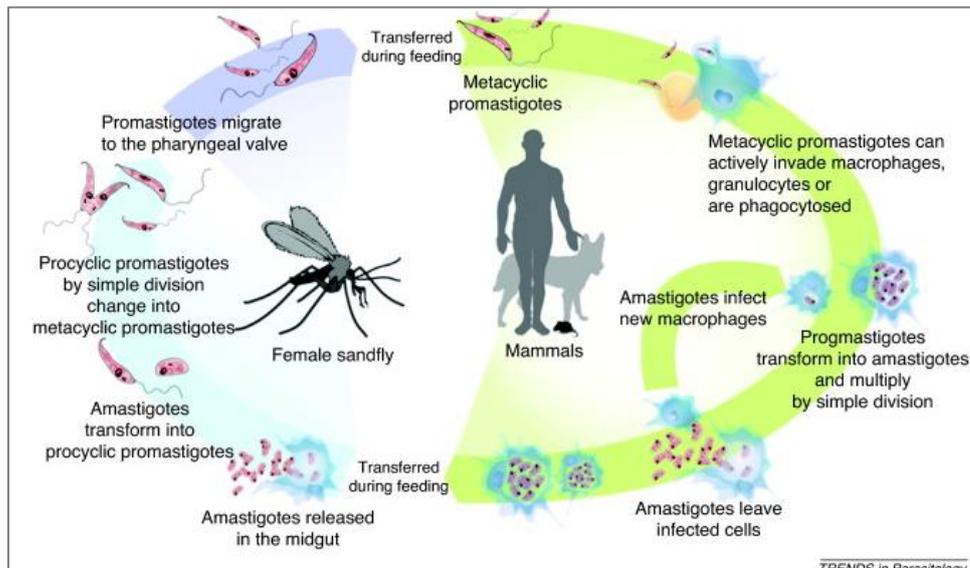
Os organismos do género *Leishmania* são parasitas heteroxenos, *i.e.*, têm a capacidade de parasitar dois hospedeiros, e durante o seu desenvolvimento passam por duas formas principais: promastigota, extracelular e flagelado, que vive no trato intestinal do flebótomo, e amastigota, não flagelado e intracelular, que parasita os macrófagos do hospedeiro mamífero (Tomás e Romão, 2008; Dantas-Torres *et al.*, 2010; Slama *et al.*, 2014; Solano-Gallego *et al.*, 2012). No Velho Mundo a transmissão do agente patogénico ocorre predominantemente no ciclo peridoméstico, em áreas semiáridas modificadas pelo Homem; no Novo Mundo está muitas das vezes associado a habitats silváticos, apesar de algumas espécies exibirem, muitas das vezes, uma transmissão peridoméstica (Akhoundi *et al.*, 2016).

O inseto vetor, ao picar e sugar o sangue de um animal parasitado, ingere alguns macrófagos infetados com a forma amastigota (Figura 3). Esta sofre no intestino diversos processos de diferenciação; primeiro como promastigotas nectomonas, onde iniciam a sua migração para uma região mais anterior do intestino médio; depois como promastigotas leptomonas, com capacidade de divisão celular. Cerca de 5 a 7 dias após a refeição sanguínea os leptomonas dão origem a haptomonas e à forma infetante para o hospedeiro invertebrado, a forma promastigota metacíclica. Os haptomonas levam à degenerescência da válvula estemodeal, permitindo aos metacíclicos atingir a cavidade oral e, aquando a nova refeição do vetor, este último inocula o parasita no hospedeiro (Volf *et al.*, 2004 adaptado de Tomás & Romão, 2008). Deste modo, o tempo necessário para o desenvolvimento de *Leishmania*, em vetores dípteros suscetíveis, é de cerca de 6 a 9 dias (Afonso & Alves-Pires, 2008). As primeiras 18-48 horas após a infeção do flebótomo são fulcrais, pois as enzimas existentes no estômago abdominal do vetor (proteases) tornam o ambiente desfavorável e mais de 50% dos parasitas morrem nos primeiros dois dias (Kamhawi, 2006).

No hospedeiro vertebrado, após a inoculação por parte do vetor, os promastigotas metacíclicos são fagocitados por neutrófilos, a primeira linha de defesa dos hospedeiros vertebrados, seguindo-se as células dendríticas e macrofágicas da pele, diferenciando-se em amastigotas. Estas formas constituem o estágio responsável pela disseminação da infeção no hospedeiro vertebrado. As formas amastigotas multiplicam-se no interior do macrófago por

divisão binária até provocarem a ruptura do mesmo, infectando, em seguida, mais células do sistema macrofágico fagocitário (SMF). Em relação à localização do protozoário, este não fica confinado à pele; as formas amastigotas são transportadas em macrófagos até outras regiões do corpo, como a medula óssea, o baço, o fígado e os linfonodos através do sangue e da linfa (Baneth, 2006; de Oliveira, Alves & Junior, 2015).

Figura 3. Ciclo de vida de *Leishmania* (adaptado de Harhay *et al.*, 2011).



A transmissão efetiva do parasita do vetor para o hospedeiro depende do grau infeccioso que o hospedeiro apresenta, do grau infeccioso do flebótomo numa só mordedura, na média de mordeduras e no número de vetores presentes no local (Hirve *et al.*, 2016). A capacidade das diferentes espécies de flebótomos atuarem como vetores parece relacionar-se com a capacidade dos promastigotas procíclicos se ligarem especificamente a locais do intestino do inseto, chamados ligantes (Gramiccia & Gradoni, 2005). Em relação ao hospedeiro, são referidos certos fatores que condicionam a ocorrência de doença clínica, tais como a suscetibilidade genética, o grau de imunocompetência, a condição corporal e outras doenças concomitantes do hospedeiro. Para além destas, o ambiente e o agente infeccioso em causa também têm influência no aparecimento de doença com manifestação clínica (Reithinger *et al.*, 2007).

Outros modos de transmissão têm vindo a ser descritos. Contudo o seu papel na natureza e na epidemiologia da leishmaniose ainda está por determinar. Entre eles encontram-se os seguintes já comprovados: as transfusões com sangue infetado, a transmissão venérea e a transmissão vertical (Owens *et al.*, 2001; de Freitas, Melo, Costa-Val & Michalick, 2006; Rosypal, Troy, Zajac, Frank & Lindsay, 2005 e Silva *et al.*, 2009). Os modos de transmissão propostos, mas ainda não provados, são: transmissão direta cão a cão, através de mordidas ou feridas, o que pode explicar a presença de LCan autóctone em regiões não endémicas na

Existem também outros locais no continente Europeu (Figura 4, regiões em azul claro) onde são referidos casos de leishmaniose. Porém, estes ocorrem em países ou regiões geográficas não endêmicas, *i.e.*, zonas onde os vetores estão ausentes ou em densidades muito baixas. Outra possibilidade serão as infeções com origem exterior, ou seja, em cães que realizaram viagens ou que foram adquiridos em áreas endêmicas (Mettler, Grimm, Naucke, Maasjost & Deplazes, 2005). É o exemplo de 95 casos reportados nos países baixos em 1988 por Slappendel, cujos cães tinham nascido ou residido na região Mediterrânica ou em Portugal; exemplos semelhantes ocorreram também no Reino Unido (Shaw, Langton & Hillman, 2009), na Alemanha (Mettler *et al.*, 2005) e na Dinamarca (Bindseil, Larsen, Kristensen, Jørgensen & Henriksen, 1985). Deste modo, a Leishmaniose é considerada uma doença dinâmica, cujas circunstâncias de transmissão estão em constante mudança, nomeadamente os fatores ambientais, demográficos e humanos (Antoniou, Gramiccia, Molina, Dvorak & Volf, 2013). O número estimado de cães infetados na América do Sul encontra-se na ordem dos milhões, ocorrendo altas taxas de infeção em algumas áreas do Brasil e da Venezuela. Campos *et al.* (2017) referem que, no Brasil, o número de cães infetados com leishmaniose encontra-se em crescimento exponencial e que a doença está a avançar para áreas urbanas, podendo estes cães servir como reservatórios para transmissão da doença aos humanos via flebótomos.

2.4. A Epidemiologia de Leishmaniose em Portugal Continental

Em Portugal continental, mais especificamente na região Metropolitana de Lisboa, a existência de cães parasitados por *Leishmania* foi registada pela primeira vez em 1911, por Álvares e Pereira da Silva. Devido à sua elevada incidência nos anos 50 do século XX esta tornou-se uma doença de declaração obrigatória (Campino *et al.*, 2006).

Em Portugal, tal como nos países do sul da Europa, a Leishmaniose tratava-se inicialmente de uma doença pediátrica. Contudo, nas últimas décadas, o número de casos infantis diminuiu, tendo, no entanto, aumentado o número de adultos infetados. Estes casos clínicos estão muitas vezes associados a doentes infetados com o vírus da imunodeficiência humana (VIH). Entre 2000 e 2009, no Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), nomeadamente na Unidade de Leishmaniose, foram observados 173 novos casos de Leishmaniose visceral humana (LVH): 66 em adultos e crianças imunocompetentes e 107 em pacientes imunocomprometidos (Campino & Maia, 2010). Estes dados contrastaram com os observados em Espanha, França e Itália, cujos valores diminuíram após a introdução de terapêutica anti-retroviral altamente ativa (HAART) (Alvar *et al.*, 2008). Relativamente ao número de casos de LC em Portugal é relatada a existência de 10 novos casos humanos por ano. Deste modo, não se trata de uma doença rara, apesar de não ser tão comumente referida. Encontra-se também descrita uma coinfeção com *Leishmania* spp. e flebovírus em cães e humanos que partilham o mesmo ambiente. Porém, é também referido que existe uma baixa probabilidade

de o mesmo inseto apresentar dois ou mais agentes patogénicos. Assim, a coinfeção de animais vertebrados deve-se muito provavelmente a sucessivas mordeduras por flebótomos da mesma espécie ou de espécies diferentes infetados com um único agente patogénico (Dincer, Gargari, Ozkul & Ergunay, 2015; Maia *et al.*, 2017).

A leishmaniose é endémica em Portugal e trata-se de uma parasitose de elevada importância veterinária, estimando-se que cerca de 6% dos cães em Portugal continental estejam infetados (Maia *et al.*, 2011). Foram identificados três focos endémicos principais: região do Alto Douro, região Metropolitana de Lisboa e Algarve (Pereira, 2008). De acordo com um estudo realizado pelo Observatório Nacional da Leishmaniose (ONLeish), com dados recolhidos em 2009, determinou-se que a prevalência de LCan se situava, na sua grande maioria, em regiões do interior do país: Beja, Portalegre e Castelo Branco (Campino, 2013). A região de Évora foi também considerada um foco de LCan (Semião-Santos *et al.*, 1995), mas no rastreio realizado em 2009 pela ONLeish a seroprevalência canina no distrito já foi inferior a 5%. No entanto, salienta-se que as regiões consideradas endémicas podem atualmente já não ser, ou possuírem um maior ou menor risco, pois existem regiões onde a prevalência de LCan sofreu alterações com o passar dos anos (Campino, 2013b).

Estudos sobre o possível efeito das alterações climáticas no risco de transmissão de *Leishmania infantum* pelos vetores *P. perniciosus* e *P. ariasi* no território nacional indicam que este risco poderá tornar-se elevado, encontrando-se atualmente em risco médio (Casimiro & Calheiros, 2002; Calheiros *et al.*, 2006; Casimiro, Calheiros, Santos & Kovats, 2006; Maia *et al.*, 2017). A doença encontra-se atualmente com uma seroprevalência nacional de 6,3%, sendo que em certos distritos o seu valor é superior a 12% (Cortes *et al.*, 2012; Maia *et al.*, 2017).

2.5. Relação Leishmaniose/*Canis familiaris*

A leishmaniose foi descrita, pela primeira vez, em cães domésticos na Tunísia por Nicolle e Comte (1908). Esta doença encontra-se muitas vezes associada ao cão, pois este é considerado tradicionalmente o principal reservatório no ciclo de vida de *L. infantum*. Por outro lado, no ciclo de transmissão de *L. donovani*, o agente de LVH na Índia e no Este de África, o hospedeiro reservatório é o Homem, sendo o seu ciclo antroponótico (OMS, 2010). No entanto, já foram encontrados cães infetados com *L. donovani* em zonas endémicas (Alam *et al.*, 2013) e um cão infetado com ambos os agentes em Chipre (Antoniou *et al.*, 2008).

Em áreas onde a LCan é endémica, estudos de populações têm demonstrado que apenas uma pequena percentagem (10% ou menos) dos animais desenvolve doença clínica, enquanto outra fração considerável apresenta-se clinicamente saudável, mas persistentemente infetada (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Contudo, estes podem vir a manifestar quadro clínico, de acordo com o seu sistema imunitário e/ou exposição ao parasita.

No entanto, suspeita-se que um perfil genético complexo influencia a suscetibilidade ou a resistência à infecção (Pennisi, 2014).

De acordo com estudos epidemiológicos e genéticos, certas raças caninas, como o Boxer, o Cocker Spaniel, o Rottweiler e o Pastor Alemão, têm sido reportadas como apresentando uma maior suscetibilidade de doença clínica em algumas áreas endêmicas, e o Podengo de Ibiza como sendo resistente em Maiorca, Espanha (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Baneth, Koutinas, Solano-Gallego, Bourdeau & Ferrer, 2008). É referido que o género e o tipo de pelagem do cão parecem não ter influência na infecção por *Leishmania*, apesar de alguns autores referirem que os machos são mais afetados (Roura, 2007).

Para além do cão, outras espécies de canídeos selvagens, tais como a raposa vermelha (*Vulpes vulpes*), o lobo (*Canis lupus*), o texugo (*Meles meles*), a marta (*Martes martes*), os gatos selvagens (*Felis silvestres silvestres*) e o lince ibérico (*Lynx pardinus*) ou roedores sinantrópicos, *i.e.*, animais que não sendo domésticos têm grande proximidade com o homem, tal como o murganho (*Mus musculus*) e o rato (*Rattus spp.*), foram identificados na Europa como estando parasitados (Sobrinho *et al.*, 2008; Helhazar, Leitão, Duarte, Tavares & Pereira da Fonseca, 2013; Del Rio *et al.*, 2014; Millán, Ferroglio & Solano-Gallego, 2014).

No passado, os gatos também eram considerados hospedeiros acidentais de *Leishmania spp.* devido aos casos esporádicos que ocorriam. Atualmente têm sido detetados mais casos de leishmaniose felina e está confirmado que os gatos apresentam um papel no ciclo de transmissão de *L. infantum*, sendo considerados hospedeiros reservatórios secundários (Pennisi *et al.*, 2015).

3. A importância da Leishmaniose em Segurança e Saúde Pública

De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), a leishmaniose é uma das sete doenças tropicais mais importantes e representa um grande problema de saúde pública.

Existem 3 formas principais de leishmaniose humana: a LV, mais grave, também conhecida com “Kala-azar”; a LC, mais comum e a LMC. Apesar da sua importância epidemiológica, esta é considerada uma doença negligenciada. Se não for tratada, esta torna-se fatal em mais de 95% dos casos, 2 anos após o início da doença (OMS, 2018a).

Cerca de um bilião de pessoas em todo o mundo estão em risco de serem infetadas, enquanto que o número de casos reportados por ano é entre 0.7 e 1.3 milhões relativamente à LC e 200.000 a 400.000 relativamente à LV, levando a mais de 20.000 mortes anuais (Dujardin *et al.*, 2008). Em alguns locais, apesar da LV permanecer mais prevalente entre cães do que em humanos, a presença de cães infetados pode aumentar o risco de infecção humana (Werneck *et al.*, 2002), pois existe uma relação próxima entre o homem e o cão quer nos meios rurais, quer nos urbanos; os casos clínicos nos cães geralmente precedem os casos clínicos em humanos (Ribeiro de Andrade & Melo, 2015). A LC antroponótica é predominante urbana e

periurbana. A doença é geralmente caracterizada por grandes surtos em cidades densamente povoadas, especialmente em zonas de guerra e conflito, campos de refugiados e em locais onde há acentuada migração de populações. Deste modo, conclui-se que se trata de uma doença que afeta maioritariamente pessoas idosas e crianças com baixas condições económicas de África, da Ásia e da América Latina, estando também associada a desnutrição, deslocamento de populações, habitações pobres, sistema imunológico fraco e falta de recursos (OMS, 2018b).

No sudoeste de Espanha foi observado um aumento do número de casos de LVH desde 2010, totalizando mais de 600 casos até 2015. Nesta área foram encontrados também como hospedeiros o cão, o gato, o coelho e a lebre, e estes apresentavam, respetivamente, valores de seroprevalência de 1,64% (Vilas *et al.*, 2013), 2,3%, 17,1% e 31,8% (Moreno *et al.*, 2014). A lebre foi descrita como o reservatório mais importante deste surto, devido à sua maior prevalência e capacidade de infeção do vetor. Várias medidas foram adotadas de modo a prevenir e a controlar a doença e desde 2013 foi registado um ligeiro declínio na leishmaniose humana (Sevá *et al.*, 2017).

Não só o cão como todos os animais domésticos e aqueles que possam ter contacto com o homem apresentam um papel importante na transmissão desta infeção, pois é sabido que o vetor díptero em questão tem vindo a desenvolver capacidades de adaptação em ambientes semi-urbanos e urbanos levando, deste modo, ao aparecimento de novos casos em locais onde antes não ocorriam (Reithinger *et al.*, 2007).

4. Abordagem clínica da Leishmaniose

4.1. Imunidade e Patogénese

O agente patogénico *L. infantum* frequentemente acompanha um padrão de infeção insidioso e crónico (Peters & Sacks, 2006). O parasita intracelular multiplica-se e migra dos linfonodos para os outros órgãos. Contudo, nem todos os cães desenvolvem doença. Os cães com capacidade de controlar a infeção são denominados clinicamente resistentes e os que são predispostos a desenvolver a doença são considerados suscetíveis (Solano-Gallego *et al.*, 2011). O término da infeção advém de certos fatores, dependendo da virulência do parasita, das características genéticas do mesmo, da resposta imunitária, do nível de citocinas produzidas, de doenças concomitantes, do estado nutricional e do nível de parasitismo do hospedeiro (Saridomichelakis, 2009). A infeção em cães pode ser subclínica ou manifestada como uma doença auto-limitante ou ainda como uma afeção grave e por vezes fatal (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

A LCan é uma doença que apresenta uma grande variabilidade clínica, sendo o quadro clínico particular e único de cada animal, o que dificulta o seu diagnóstico (Solano-Gallego *et al.*, 2009). A seroprevalência de *L. infantum* aumenta com a idade, devido, provavelmente, à cumulativa exposição ao protozoário (Campino & Maia, 2013). Porém, certos autores referem que ocorre uma distribuição bimodal da doença, com uma maior prevalência em cães com idade inferior a 3 anos e superior a 8 anos (Abranches, Silva-Pereira, Conceição-Silva, Santos-Gomes & Janz, 1991; Cardoso, Schalig, Neto & Rodrigues, 2004).

O tipo de resposta imunitária do hospedeiro dita a progressão e o desfecho da doença (Segarra *et al.*, 2017). Mecanismos de resposta imunitária inatas e adquiridas são iniciados após o contacto com o parasita, sendo os mecanismos adquiridos os principais responsáveis pelo grau de resistência ou suscetibilidade à infeção, nomeadamente a relação entre a resposta imunitária celular, mediada por linfócitos CD4+, T-helper do tipo 1 (Th1) e por linfócitos T-helper do tipo 2 (Th2), respetivamente (Baneth & Solano-Gallego, 2012; Santos-Gomes, Rodrigues & Marques, 2008). Uma reação maioritariamente do tipo Th1 encontra-se associada a uma maior produção de citocinas [interleucina 2 (IL-2), interferão gamma (IFN- γ) e o fator de necrose tumoral alpha (TNF- α)], que levam a uma maior atividade anti-*Leishmania* nos macrófagos, nomeadamente pela via do óxido nítrico (NO). O NO é produzido pelos macrófagos e tem demonstrado ser a principal molécula que medeia a morte intracelular da forma amastigota do parasita. Porém, a resposta mediada pelos linfócitos Th2 é associada à produção de citocinas, como a interleucina 4 (IL-4) e a interleucina 10 (IL-10); esta última tem uma ação inibitória sobre as células Th1, promovendo um aumento da atividade dos linfócitos B e plasmócitos e, conseqüentemente, maior produção de anticorpos (Ac) (Baneth & Solano-Gallego, 2012; Baneth *et al.*, 2008).

A produção de Ac faz parte da resposta humoral e a LCan é caracterizada por apresentar uma forte resposta humoral. Com o aumento dos níveis de Ac produzidos, o animal é confrontado com o desenvolvimento da doença e com um agravamento do prognóstico (Santos-Gomes, Rodrigues & Marques, 2008). Como consequência de uma resposta humoral exagerada e não protetora, encontram-se descritos, relativamente à patogenia da infeção deste parasita, dois tipos de reações de hipersensibilidade: do tipo II e do tipo III. Estes dois tipos de reação estão na origem de muitas das lesões tecidulares características desta doença (Baneth & Solano-Gallego, 2012).

A hipersensibilidade do tipo II representa a interação entre Ac, principalmente as imunoglobulinas G e M, e os antígenos que se encontram na superfície de células. Esta reação é mediada por células *Natural Killer* (NK), macrófagos, neutrófilos e eosinófilos ou por ativação da cascata do complemento, provocando a lise e fagocitose das células em questão (Solano-Gallego *et al.*, 2013). Um exemplo deste tipo de reação é o fenómeno de trombocitopenia imunomediada (Zamite, 2015).

As reações de hipersensibilidade do tipo III levam à formação de imunocomplexos antígeno-anticorpo e a presença destes complexos em circulação sistêmica pode levar à sua deposição em diferentes tecidos. Estes imunocomplexos ativam as células polimorfonucleares e, por exocitose, estas últimas libertam substâncias lisossomais tóxicas que irão provocar lesões nos tecidos envolventes. Os locais onde as principais lesões deste tipo se encontram são na úvea, no glomérulo renal e na sinóvia; no entanto, podem também ocorrer processos inflamatórios em vasos sanguíneos, dando origem a vasculites (Solano-Gallego *et al.*, 2013). Estudos demonstram que cães com infecção subclínica apresentam uma resposta imune humoral fraca ou ausente e uma resposta imune celular mais forte, ou seja, apresentam baixos níveis de Anticorpos Anti-*Leishmania* (Ac-AntiLeish), baixa carga parasitária e ausência de sinais clínicos e alterações laboratoriais. No entanto, estes animais aparentemente saudáveis poderão ser reservatórios, levando à disseminação da infecção, aumentando a prevalência canina e o número de novos casos humanos. Por outro lado, os cães doentes são caracterizados por uma elevada resposta imunitária Th2, disseminação sistêmica do parasita, imunossupressão e baixo número de células T-helper CD4+ (Cortese *et al.*, 2015; Albuquerque, Campino, Cardoso & Cortes, 2017; Segarra *et al.*, 2017). Grande parte dos estudos referem que, no sangue periférico de cães suscetíveis, o número de linfócitos Th1 CD4+ encontra-se diminuído e é inversamente correlacionado com a gravidade da doença. Relativamente às células CD8+, estas são consideradas essenciais na proteção, pois têm a capacidade de provocar lise dos macrófagos do complexo maior de histocompatibilidade-II (CMH-II) infetados e, possivelmente, também os do CMH-I. As células CD8+ também estão associadas a baixa carga parasitária e, desta forma, à resistência à infecção (Saridomichelakis, 2009). Contudo, esta dicotomia não é absoluta, havendo animais que apresentam respostas mistas (Fernández-Pérez, Gómez- Muñoz, Méndez & Alunda, 2003).

4.2. Sinais clínicos

A maioria dos sinais clínicos ocorrem devido à deposição de imunocomplexos nos diferentes órgãos e tecidos e à elevada proliferação dos macrófagos infetados pelas formas amastigotas (Beugnet, Halos & Guillot, 2018). As principais alterações clínicas são: 1) lesões cutâneas, que se desenvolvem no local da picada do flebótomo; 2) lesões mucocutâneas que se apresentam na mucosa nasal, oral e da garganta, ocorrendo, por vezes, necrose dos tecidos; 3) lesões cutâneas difusas, mais graves, mas mais raras, ocorrendo quando o sistema imunitário não consegue reagir eficazmente à infecção; 4) lesões viscerais que correspondem à LV, caracterizada por febre, perda substancial de peso, atrofia muscular, poliúria e polidipsia, anemia e hepato e esplenomegália (Ribeiro de Andrade & Melo, 2015; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

As lesões cutâneas podem-se apresentar de diversas formas. Encontram-se referidos quatro padrões lesionais principais, nomeadamente a forma alopecica e descamativa, a forma ulcerativa, a forma nodular e a dermatite pustular. Na maioria dos casos a forma alopecica e descamativa é simétrica e caracteriza-se por lesões na cabeça, principalmente em redor dos olhos, focinho e nos pavilhões auriculares, ocorrendo, também, nas saliências ósseas, extremidade dos membros e ponta da cauda. Estas lesões podem levar a alopecia generalizada, sendo, porém, não pruriginosas na sua maioria. A forma ulcerativa ocorre maioritariamente no bordo do pavilhão auricular, focinho, região periocular, saliências ósseas e extremidade dos membros, sendo lesões de difícil cicatrização. A forma nodular ocorre na zona torácica, lombar e falanges; esta forma é representada por lesões cutâneas nodulares com dimensões até, aproximadamente, 10 cm de diâmetro e que, por vezes, não chegam a ulcerar, apresentando uma consistência variável. Por último, a dermatite postular, tal como o nome refere, apresenta pústulas estéreis no tronco, abdómen, axilas e bragadas. Estas lesões são as menos comuns (Alexandre-Pires & Correia, 2008).

É também referido o aparecimento de outros sinais clínicos como a onicogribose, caracterizada por hipertrofia ungueal devido à presença do parasita na matriz ungueal e ao consequente crescimento excessivo das mesmas, e também pela hipersensibilidade das almofadinhas plantares, o que torna mais difícil o desgaste normal das unhas, e processos degenerativos, como fissuras ou hiperqueratose da trufa. É também frequente o aparecimento de lesões articulares e ósseas em cães infetados. Um estudo sobre lesões esqueléticas mostrou que, em 58 cães com LCan, 45% apresentavam anormalidades na marcha (Baneth *et al.*, 2008). Foi também observado no líquido sinovial de articulações de animais com poliartrite erosiva e não erosiva formas amastigotas de *Leishmania* (Agut, Corzo, Murciano, Laedo & Soler, 2003). A atrofia muscular progressiva ocorre devido a infiltrados mononucleares com amastigotas de *Leishmania*, vasculite neutrofílica e complexos imunes de IgG nos tecidos musculares (Vamvakidis, Koutinas, Georgiadis & Saridomichelakis, 2000). As lesões oculares encontram-se também presentes em cães com esta afeção, podendo estes apresentar sinais ligeiros a graves, colocando em perigo a capacidade de visão dos mesmos neste último caso. Estas lesões consistem em uveíte, conjuntivite, queratoconjuntivite seca, blefarite, inflamação das glândulas lacrimais principais e acessórias ou obstrução das vias lacrimais por lesões dos tecidos envolventes (Naranjo, Fondevila, Leiva, Roura & Peña, 2005; Alexandre-Pires & Correia, 2008).

Encontra-se também referido noutros estudos alterações hemostáticas, nomeadamente anormalidades na agregação plaquetária, trombocitopenia, fibrinólise e diminuição da atividade dos fatores de coagulação. A epistáxis pode ser o único sinal clínico e pode levar à morte se não for controlado a tempo. A epistáxis, a hematúria e a diarreia hemorrágica associadas à leishmaniose ocorrem devido à ulceração dos tecidos e a alterações na

hemostase (Ciaramella *et al.*, 2005). A anemia também está presente na maioria dos cães com sinais clínicos. Esta poderá ocorrer por diminuição da eritropoiese causada por doenças crônicas e pode ser agravada por perda de sangue ou destruição imunitária de glóbulos vermelhos (Koutinas *et al.*, 1999).

A doença renal pode ser a única manifestação clínica de LCan e pode evoluir de proteinúria leve a síndrome nefrótica ou a doença renal terminal. A insuficiência renal crônica é um estadió grave e a principal causa de mortalidade em cães com leishmaniose, sendo a glomerulonefrite e a nefrite túbulo-intersticial as alterações identificadas com alguma regularidade. A amiloidose raramente ocorre (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Apesar da alta prevalência de patologia renal em cães infetados, a azotémia renal é um parâmetro laboratorial relativamente incomum e que só se torna evidente numa fase mais tardia, quando grande parte dos nefrónios se encontram afetados (Costa *et al.*, 2003; Zatelli *et al.*, 2003). Cães com glomerulonefrite apresentam, como consequência, perda de proteínas plasmáticas na urina, como por exemplo a albumina. Deste modo, a proteinúria persistente leva à progressão das lesões no glomérulo e nos túbulos intersticiais, levando ao aparecimento de sinais clínicos compatíveis com o síndrome nefrótico, tais como ascite, edema periférico, hipoalbuminémia e hipercolesterolémia.

Outras manifestações mais discretas são as lesões nervosas, que podem ser inconstantes e transitórias (Alexandre-Pires & Correia, 2008). No líquido cefalorraquidiano é possível encontrar um elevado valor de Ac-AntiLeish e, deste modo, podem levar a alterações neurológicas, como encefalites ou alterações na barreira hemato-encefálica, levando a enfartes cerebrais (Solano-Gallego *et al.*, 2013). Encontram-se também reportados alguns casos de LCan com doença cardíaca associada, na qual, por histopatologia e imunohistoquímica, foram detetados parasitas no tecido cardíaco, nomeadamente no miocárdio. Estes animais apresentavam comprometimento cardiorrespiratório, com sinais clínicos de dispneia, intolerância ao exercício e anorexia (Solano-Gallego *et al.*, 2013).

Poderão ainda ocorrer complicações secundárias, como, por exemplo, piodermatite, doença gastrointestinal, pneumonia ou infeções concomitantes com outros agentes patogénicos, nomeadamente *Demodex*, *Hepatozoon*, *Babesia*, *Ehrlichia*, *Trypanosoma* ou *Dirofilaria* em países em que estes são endémicos (Baneth & Solano-Gallego, 2012).

Os achados laboratoriais mais comuns associados a esta afeção no cão são as alterações hematológicas, tais como anemia normocítica e normocrómica, leucopénia, por diminuição das populações de monócitos, eosinófilos, e, sobretudo, linfócitos (Reis *et al.*, 2006), disproteinémia, que se revela como hiperproteinémia com hiperglobulinémia e hipoalbuminémia. Contudo, não é possível afirmar que se tratam de alterações patognomónicas (Roura, 2007).

4.2.1. Estadiamento da Leishmaniose canina

Em 2017, o grupo LeishVet republicou as suas *guidelines* relativas ao manejo desta doença. Foi, assim, proposto um sistema de estadiamento clínico para a LCan com base nos sinais clínicos, na titulação de anticorpos anti-*Leishmania* e nas alterações laboratoriais. Este sistema encontra-se descrito na Tabela 3 e tem como finalidade auxiliar na decisão terapêutica mais adequada ao animal, bem como no estabelecimento do prognóstico (Solano-Gallego *et al.*, 2011; LeishVet, 2017).

Tabela 3. Estadiamento clínico da LCan com base nos sinais clínicos e alterações laboratoriais (Adaptados de LeishVet, 2017).

Estádios	Serologia	Sinais clínicos	Alterações laboratoriais
I – Doença ligeira	Níveis de Ac baixos ou negativos	Sinais clínicos ligeiros (linfadenomegália generalizada ou dermatite papular)	Normalmente não são observadas
II – Doença moderada	Níveis de Ac positivos baixos a altos	Sinais clínicos do estadio I + lesões cutâneas simétricas ou difusas (dermatite esfoliativa, onicogribose, ulcerações, anorexia, perda de peso, febre e epistáxis)	Anemia não regenerativa ligeira, hiperglobulinémia, hipoalbuminémia, Sub-estádios: a) Perfil renal normal: Creatinina <1,4 mg/dl; Não proteinúrico: rácio proteína/creatina urinário (UPC) <0,5 b) Creatinina <1,4 mg/dl; UPC = 0,5-1
III – Doença grave	Níveis de Ac positivos médios a altos	Sinais clínicos descritos nos estádios anteriores + vasculites, artrites, uveítes e glomerulonefrites	As mesmas alterações descritas no estadio II, doença renal crónica de acordo com estadio II da International Renal Interest Society (IRIS) fase I: UPC >1 ou fase II: creatinina 1,4-2 mg/dl
IV – Doença muito grave	Níveis de Ac positivos médios a altos	Sinais clínicos descritos nos estádios anteriores + tromboembolismo pulmonar ou síndrome nefrótico ou fase final de Insuficiência Renal Crónica (IRC)	As mesmas alterações descritas anteriormente + IRC IRIS fase III: creatinina 2-5 mg/dl e fase IV: creatinina >5 mg/dl; síndrome nefrótico: proteinúria acentuada UPC>5

4.3. Diagnóstico

O diagnóstico desta afeção é complexo e difícil, uma vez que os seus sinais clínicos podem ser confundidos com outras doenças (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Além disso, é referido que cães com leishmaniose podem encontrar-se coinfectados com outras doenças transmitidas por vetores ou com outras doenças infecciosas, tornando os diagnósticos diferenciais mais complicados (Solano-Galego *et al.*, 2011). Várias estratégias de diagnóstico foram implementadas com base em métodos parasitológicos, moleculares ou serológicos em associação com parâmetros clínicos e epidemiológicos (Carvalho, Oliveira, Baldani & Machado, 2009). Deste modo, a realização do exame físico e a recolha de uma anamnese completa são fundamentais para a decisão e direcionamento das técnicas de diagnóstico. Os

métodos de diagnóstico mais comuns a nível parasitológico são a citologia/histologia e a imunohistoquímica. A nível molecular, podem-se utilizar as técnicas *Polymerase Chain Reaction* (PCR), PCR convencional, nested PCR e PCR em tempo real (qRT-PCR), sendo esta última técnica a mais sensível de todas. Relativamente ao diagnóstico serológico existem dois tipos diferentes de técnicas: a) testes quantitativos, como, por exemplo, o *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) e o teste de imunofluorescência com Ac (IFA) e b) qualitativos, como os testes rápidos. Os ensaios rápidos baseados em imunocromatografia são fáceis de usar e fornecem resultados qualitativos rápidos no local, mas o seu desempenho ainda não é o ideal, pois têm como desvantagem o facto de apresentarem muitos falsos negativos (Mettler *et al.*, 2005; Solano-Gallego *et al.*, 2014).

Atualmente, o diagnóstico laboratorial de LCan é geralmente realizado por exame parasitológico direto e/ou métodos sorológicos. Estes últimos requerem um maior tempo de resposta e podem apresentar menor precisão (Campino & Maia, 2013).

O diagnóstico direto por visualização microscópica da forma amastigota, isto é, sem flagelo, é realizado por exame parasitológico através da punção aspirativa de linfonodos, baço, medula óssea e/ou do produto de raspagem de lesões dermatológicas após coloração com o corante Giemsa ou Diff-Quick (Helhazar, 2012; Beugnet *et al.*, 2018). Como alternativa, pode-se realizar a visualização de formas promastigotas após o cultivo *in vitro* de amostras (Helhazar, 2012). Contudo, embora uma única forma amastigota seja suficiente para declarar um resultado positivo para Leishmaniose, a sensibilidade do teste varia de acordo com a origem do tecido aspirado, sendo baixa em qualquer um dos tecidos (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Relativamente à especificidade, esta é elevada em qualquer um dos tecidos referidos. No entanto, é importante referir que amostras provenientes do baço acrescem um maior risco para o animal, pois, sendo uma técnica mais invasiva, existe um maior risco de hemorragia interna. Outra desvantagem desta técnica é a necessidade de um operador treinado para realizar a punção do baço e com experiência para identificar o parasita pelo exame parasitológico direto (Tavares, Fernandes & Melo, 2003; ESCCAP, 2012; Ribeiro de Andrade & Melo, 2015).

Dos restantes métodos descritos para o diagnóstico, a serologia é o mais utilizado. Este permite a deteção de Ac-AntiLeish em cães 8 a 12 semanas após a infeção inicial. Se se tratar de um animal assintomático este pode permanecer na forma subclínica durante anos. A técnica ELISA e IFA detetam, respetivamente e de forma quantitativa, a densidade ótica e a titulação limite da concentração de Ac (Solano-Gallego, 2009). Ambos os métodos permitem afirmar a presença de doença clínica quando são detetados elevados valores de Ac-AntiLeish na presença de sinais clínicos compatíveis com a afeção e/ou alterações nos parâmetros laboratoriais. Porém, estes testes apresentam como desvantagem a necessidade de se repetir novamente o teste de diagnóstico quando surgem resultados com concentrações de Ac-

AntiLeish baixos (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Contudo, o desempenho e a precisão dos resultados dependem do laboratório e da técnica realizada (ESCCAP, 2012; Solano-Gallego *et al.*, 2011). É por vezes referida a existência de falsos positivos devido a reatividade cruzada serológica com outros agentes infecciosos dos cães, como, por exemplo, *Ehrlichia*, *Babesia* e *Neospora* (Baneth, 2006).

Outro método serológico referido é o teste de aglutinação direta, que se baseia na aglutinação de promastigotas de *Leishmania* tratados com tripsina com Ac-AntiLeish. Foi o primeiro teste sorológico desenvolvido para uso em campo - é um teste simples, barato e com comprovada precisão clínica (Sousa *et al.*, 2011; Adams *et al.*, 2012). Este apresenta valores de sensibilidade de 91 a 100% e valores de especificidade de 72 a 100%. No entanto, estes valores podem variar de acordo com o observador (Adams *et al.*, 2012; Oliveira, Saliba Oliveira, Dias & Paz, 2016).

Os testes rápidos baseiam-se na técnica de imunocromatografia rápida e apresentam, como vantagem, a rápida e fácil leitura do resultado. No entanto, têm uma sensibilidade (61-100%) e especificidade (30-70%) inferiores quando comparadas com as técnicas de ELISA e IFA. Se o resultado for positivo, existe a necessidade de realizar um teste quantitativo serológico (Barbosa, 2011).

Através do diagnóstico molecular por PCR é detetado o ácido desoxirribonucleico (ADN) de *Leishmania* nos tecidos. Esta técnica pode identificar a espécie, a estirpe e o genótipo do parasita em questão. Trata-se de uma técnica com elevada especificidade (95 a 100%) (Carson *et al.*, 2010) e sensibilidade (89 a 100%), esta última em amostras sanguíneas de cães polisintomáticos (Travi, Cordeiro da Silva, Dantas-Torres & Miró, 2018). Porém, estes valores dependem de diversos fatores, tais como o método de extração de ADN das diferentes amostras, a qualidade dos *primers*, o número de cópias alvo e as condições técnicas (Alvar, Cañavate, Molina, Moreno & Nieto, 2004). Quando a infeção se encontra numa fase inicial ou em casos subclínicos, a sensibilidade desta técnica pode diminuir e existe a necessidade de recorrer a outras técnicas de diagnóstico ou voltar a repetir o PCR 30 dias após o primeiro (Pereira da Fonseca & Villa de Brito, 2008). Esta técnica pode ser aplicada a qualquer tipo de amostra: medula óssea, linfonodo, biópsia de baço ou sangue (Pereira da Fonseca & Villa de Brito, 2008); contudo, a maioria destas técnicas são invasivas, acarretam riscos e exigem técnicos treinados. Desta forma, alguns autores têm procurado outras alternativas no modo de obter as amostras. Existem estudos que defendem que a amostra ideal para diagnóstico molecular seria aquela que fosse obtida através de uma técnica pouco invasiva, indolor e de fácil acesso, podendo, se possível, ser colhida em casa, fora dos centros de atendimento veterinário e, assim, mais facilmente aceite pelo tutor. Certos autores propõem como alternativa um esfregaço da conjuntiva ocular utilizando cotonete estéril (Ribeiro de Andrade & Melo, 2015). É também referido que amostras provenientes da conjuntiva ocular, mucosa

oral ou focinho fornecem maiores cargas parasitárias do que amostras sanguíneas (Strauss-Ayali, Jaffe, Burshtain, Gonen & Baneth, 2004; Aschar *et al.*, 2016; Travi, Cordeiro-da-Silva, Dantas-Torres & Miró, 2018).

Estudos referem que a partir do qRT-PCR é possível avaliar as variações da carga parasitária e da resposta terapêutica. Contudo, as técnicas moleculares não quantitativas não revelam o estado imunológico nem a presença de doença; indicam apenas que o animal teve ou não contacto com o parasita (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Pereira da Fonseca & Brito, 2008). É também referido que o método PCR convencional (qualitativo) apenas deteta o ADN do protozoário em amostras provenientes da medula óssea, quando existe mais de 30 parasitas/ml, enquanto que, através do método qRT-PCR, 1 parasita/ml é suficiente para dar origem a resultados positivos (Miró, Cardoso, Pennisi, Olica & Baneth, 2008).

Outra opção de diagnóstico é a avaliação da resposta imunitária celular específica por antígenos de *Leishmania*, também conhecida por Reação de Montenegro. Este método de imunodiagnóstico consiste na medição do diâmetro da induração e do eritema 72 horas após a inoculação intradérmica do antígeno de *Leishmania* (reação de hipersensibilidade retardada). Resultados negativos indicam ausência de contacto com o protozoário ou imunossupressão (Pereira da Fonseca & Villa de Brito, 2008).

Deste modo, deve ser realizada uma abordagem completa com base na lista de problemas clínicos e adaptada a cada animal (Solano-Gallego *et al.*, 2011). O diagnóstico desta doença é fundamentalmente clínico, pois nenhum teste, por si só, é conclusivo. Assim, o animal tem de ser observado por um clínico e os resultados laboratoriais de cada técnica têm de ser interpretados adequadamente (Pereira da Fonseca & Villa de Brito, 2008).

4.4. Terapêutica

Um diagnóstico precoce e preciso da leishmaniose é de grande importância para a administração de um tratamento eficaz, rastreio de áreas endémicas e consequente interrupção do ciclo de vida do parasita (Singh & Sundar, 2015). O tratamento da LCan não apresenta um consenso entre os diferentes autores, visto ser uma doença que não tem cura e o cão permanece portador até ao fim da sua vida. Trata-se de uma terapêutica dispendiosa, de longa duração e que nem sempre apresenta os resultados pretendidos (Meireles, 2008). Na maioria dos casos, ocorre diminuição dos sinais clínicos, obtendo-se, por vezes, cura clínica durante seis meses a um ano e, findo esse período, existe a possibilidade de reaparecimento dos sinais clínicos.

Antes de se iniciar o tratamento, os tutores dos animais devem ser informados acerca das implicações da doença, quer na saúde do animal quer em termos da saúde pública, prognóstico e custos prováveis inerentes (Meireles, 2008; ESCCAP, 2012).

De acordo com a OMS, os fármacos anti-*Leishmania* usados no tratamento da leishmaniose humana devem ser usados exclusivamente em medicina humana e não em medicina veterinária, devido à suspeita de desenvolvimento de resistência aos fármacos (OMS, 2010). Deste modo, o tratamento de primeira linha para LCan é o uso combinado de agentes leishmanicidas utilizados como fármacos de segunda linha nos humanos, tais como a miltefosina, os antimoniais pentavalentes e o alopurinol (Miró *et al.*, 2008; Solano-Gallego *et al.*, 2009; Oliva *et al.*, 2010). Na Tabela 4 encontram-se os fármacos disponíveis no mercado Português, as suas doses e os efeitos secundários mais comuns. É também referido na mesma em quais dos fármacos já foi verificada resistência clínica em cães (Miró *et al.*, 2017). Alguns estudos publicados indicam que fármacos anti-*Leishmania* reduzem ou eliminam completamente a infeção durante, pelo menos, 4 meses (Miró *et al.*, 2017).

Tabela 4. Fármacos com efeito Leishmanicida/Leishmanióstático comprovado na LCan (Adaptados de Miró *et al.*, 2017).

Fármacos e doses	Mecanismo de ação	Duração do tratamento	Efeitos secundários	Tempo até uma nova recidiva	Resistência ao fármaco
Antimoniato de meglumina (50mg/kg/12h SC, 100mg/kg/24h SC)	Inibe a enzima fosfofrutoquinase bloqueando o metabolismo de <i>Leishmania</i>	4-6 sem	Dor local, nefrotoxicidade	6-12 m	Reportada
Miltefosina (2mg/kg/24h PO)	Deterioração das vias de sinalização e síntese da membrana celular	4 sem	Anorexia, vômito, diarreia	4-6 m	Não reportada
Alopurinol (10 mg/kg/12h PO)	Interfere com a via das purinas	6-24 m	Xantínúria, urolitíase, mineralização renal	Não está bem documentado	Reportada
Antimoniato de meglumina + Alopurinol (doses = ao anterior)	Ver acima para ambos os compostos	4 sem (AM) 6-12 m (Al)	Dor local, pancreatite, nefrotoxicidade, xantínúria, urolitíase, mineralização renal	Não reportado	Não reportada
Miltefosina + Alopurinol (doses = ao anterior)	Ver acima para ambos os compostos	4 sem (Mi) 6-12 m (Al)	Anorexia, vômito, diarreia, xantínúria, urolitíase, mineralização renal	Não reportado	Não reportada
Marbofloxacina (2mg/kg/24h PO)	Inibição da ADN-girase	4 sem	Nada reportado	3-6 m	Não reportada

Legenda: h – horas; sem – semanas; m – meses; PO – *per os*; SC – subcutâneo; mg – miligrama; kg – quilograma; AM – antimoniato de meglumina; Al – alopurinol; Mi – miltefosina.

4.4.1. Compostos antimoniais

Desde o início do século XX que são conhecidos os efeitos terapêuticos destes compostos e durante décadas foram os primeiros fármacos a serem usados. Existem autores que

defendem o uso destes compostos como os de primeira escolha, sozinhos ou combinados com alopurinol (Reguera, Morán, Pérez-Pertejo, García-Estrada & Balaña-Fouce, 2016; Mattin, Solano-Gallego, Dhollander, Afonso & Brodbelt, 2014). Estes compostos foram usados inicialmente na sua forma trivalente. Porém, devido aos seus efeitos secundários, a forma pentavalente foi a que prevaleceu (Meireles, 2008). A forma mais usada é o antimoniato de N-metilglucamina (Glucantime®). Esta molécula inibe seletivamente a glicólise e a oxidação de ácidos gordos, inibindo, assim, duas enzimas dentro do parasita: a fosfofrutoquinase e piruvatodesidrogenase (Meireles, 2008; Oliva *et al.*, 2010). O tempo de semi-vida desta substância nos cães é relativamente curto: 21, 42 e 122 minutos de acordo com a via de administração, sendo, neste caso, endovenosa (EV), intramuscular (IM), e subcutânea (SC), respetivamente. Ao fim de 6 a 9 horas após a administração, 80 a 95% da substância ativa é eliminada a partir do rim (Oliva *et al.*, 2010).

Diversos estudos em cães têm demonstrado uma boa eficácia (Oliva *et al.*, 2010). Porém, é também referido que a administração por via IM e SC são as mais eficazes na manutenção de concentrações constantes da substância ativa no plasma sanguíneo que a via EV. No entanto, não são recomendadas inoculações IM repetitivas, pois estas levam ao desenvolvimento de reações edematosas dolorosas e miosites. As injeções SC são mais seguras e indolores, sendo esta via de administração a melhor opção (ESCCAP, 2012). No entanto, apesar da sua eficácia, fatores como o alto preço, os efeitos secundários e a necessidade de via de administração parenteral justificam a substituição deste composto por outros mais seguros (Baneth & Shaw, 2002).

4.4.2. Miltefosina

A miltefosina foi desenvolvida no início dos anos 80 como um fármaco antineoplásico para o tratamento tópico de metástases cutâneas de cancro de mama humano, tendo alguns anos mais tarde sido descoberta uma forte atividade anti-*Leishmania* na LV humana (Leonard *et al.*, 2001; Berman, 2005).

Em medicina veterinária, tanto a miltefosina como o antimoniato de N-metilglucamina são utilizados com relativa frequência em alguns países (Mattin *et al.*, 2014). Para além da sua ação direta contra as formas promastigotas e amastigotas, esta molécula estimula também a ativação de macrófagos e células T e a produção de metabolitos de oxigénio e de NO (Virbac, 2009).

Este fármaco é administrado aos cães por via oral, sendo praticamente absorvido na sua totalidade e apresentando um valor de biodisponibilidade absoluta de 94%. O tempo de semi-vida é lento, aproximadamente 6,3 dias, representando uma baixa depuração plasmática (Resumo das características do medicamento (RCM) Milteforan®, 2007; Virbac, 2009). Esta molécula apresenta algumas vantagens, tais como ser a única que permite a sua dissolução

em água e administração PO, melhorando a aceitação por parte dos tutores; para além disso, não é eliminada por via renal, estando assim indicada para cães com insuficiência renal (Reguera, *et al.*, 2016; Miró *et al.*, 2009; Meireles, 2008). Para além dos efeitos secundários descritos na Tabela 4, está também relatado, tanto em modelos animais como humanos, o desenvolvimento de toxicidade reprodutiva. Contudo, apesar de não haver até à data nenhum dado disponível em cães, o uso deste fármaco é desaconselhado em cadelas gestantes (Reguera *et al.*, 2016). Outra desvantagem deste composto é a possibilidade de recaída ou a normalização mais lenta de variáveis clínico-patológicas (Manna *et al.*, 2015).

Uma das atuais preocupações é o início do desenvolvimento de resistências por parte do parasita à miltefosina, como já foi reportado em medicina humana. No entanto, devido à generalização do uso deste fármaco em medicina veterinária, este problema tem vindo a ser colocado, mesmo que ainda não tenha sido relatada qualquer resistência do parasita em cães naturalmente infetados (Mondelaers *et al.*, 2016; Reguera *et al.*, 2016).

4.4.3. Alopurinol e suas combinações

O alopurinol é usualmente utilizado no tratamento da gota humana, prevenindo a formação de cálculos de urato (Meireles, 2008; Castanheira, 2013). Contudo, esta molécula apresenta também um efeito leishmaniostático, pois, sendo um análogo estrutural da hipoxantina, molécula metabolizada pelo parasita, esta leva a uma tradução protéica defeituosa e inibição da multiplicação do mesmo (Greene, 2012).

Este fármaco é administrado PO e, tal como já foi referido, pode ser usado isoladamente ou, mais comumente, combinado com outros fármacos de primeira linha. Na Europa, o alopurinol como terapêutica combinada representa o composto mais frequentemente usado contra LCan (Mattin *et al.*, 2014). Quando o alopurinol é usado em monoterapia é incapaz de eliminar completamente os parasitas de *Leishmania* em cães infetados e não apresenta atividade preventiva em cães saudáveis (Saridomichelakis *et al.*, 2005). O alopurinol apresenta baixa toxicidade, sendo referido que este auxilia na redução de proteinúria e não provoca lesões no fígado ou o rim. Contudo, induz a formação de cristais de xantina em quase todos os cães e por vezes urolitíase, o que, por sua vez, pode levar a azotémia pós-renal e, ocasionalmente, a insuficiência renal (Meireles, 2008; Torres *et al.*, 2011; Noli & Saridomichelakis, 2014; Reguera *et al.*, 2016).

Em relação à combinação alopurinol e antimoniato de meglumina é referido que existe um consenso geral entre os profissionais ao considerar esta combinação como *gold-standard* para o tratamento de LCan, uma vez que os cães demonstram uma melhoria nos sinais clínicos e um bom prognóstico. Esta combinação permite diminuir o tempo de toma do antimoniato de meglumina, melhora a tolerância do mesmo e torna o protocolo menos dispendioso (Saridomichelakis *et al.*, 2005; Pierantozzi, Roura, Paltrinieri, Poggi & Zatelli,

2013). Contudo, a combinação alopurinol e miltefosina representa uma interessante opção terapêutica, devido à sua baixa toxicidade e à possível resistência ao antimoniato de meglumina (Torres *et al.*, 2011).

4.4.4. Marbofloxacina

Em medicina veterinária, este fármaco é utilizado como um antibiótico bactericida de largo espectro, tratando-se de uma fluoroquinolona sintética de segunda geração (Reguera *et al.*, 2016). Devido aos efeitos tóxicos descritos nos tratamentos referidos anteriormente e nomeadamente em animais com comprometimento a nível renal, surgiu a necessidade de encontrar um medicamento eficaz e com reduzido impacto nestes doentes, pois um doente renal apresenta uma resposta mais lenta aos fármacos, necessitando de uma terapêutica mais extensa no tempo e aumentando, assim, o risco de desenvolver efeitos adversos (Goldstein *et al.*, 2013). Dados recentes, sugerem que a marbofloxacina apresenta eficácia semelhante à miltefosina e ao antimoniato de meglumina no tratamento da LCan (Vouldoukis *et al.*, 2006; Rougier *et al.*, 2008; Rougier, Hasseine, Delaunay, Michel & Marty, 2012), o que pode representar uma alternativa mais segura para o tratamento de cães com Leishmaniose e doença renal. Além disso, foram também demonstrados menos efeitos secundários com poucos ou nenhuns sinais clínicos a nível gastrointestinal e a inexistência de alterações nos valores séricos de ureia e creatinina (Rougier *et al.*, 2012; Pineda *et al.*, 2017). De acordo com um ensaio clínico, foi observada remissão dos sinais clínicos em 70% dos cães com leishmaniose nos primeiros 3 meses de tratamento com marbofloxacina, 2 mg/kg, sid, durante 28 dias. No entanto, é esperado que ocorram recaídas em mais de 50% dos casos (Rougier *et al.*, 2008). Uma taxa semelhante de remissão de sintomatologia foi observada noutra ensaio com cães submetidos ao tratamento com marbofloxacina no ano anterior ao do estudo. Contudo, os mesmos cães continuaram parasitologicamente positivos aquando a realização de análise por PCR com amostras de linfonodos (Rougier *et al.*, 2012).

4.4.5. Outras opções de tratamento

Outros medicamentos encontram-se referidos na bibliografia como opções alternativas de tratamento, como, por exemplo, a anfotericina B, a aminosidina, a domperidona (ESCCAP, 2012; Zamite, 2015; Reguera *et al.*, 2016).

A anfotericina B, antibiótico da classe dos macrólidos, não é muito utilizado, pois trata-se de um medicamento de medicina humana, para além de ser nefrotóxico e exigir administração EV (ESCCAP, 2012).

A aminosidina é um antibiótico da classe dos aminoglicosídeos, com potencial nefrotóxico e com efeitos dose dependentes (Noli & Saridomichelakis, 2014). Tem apresentado bons

efeitos, induzindo a remissão dos sinais clínicos mais relevantes e pode ser administrado como agente único ou combinado com antimoniato de meglumina, onde apresenta melhores resultados (Oliva *et al.*, 2010; Roze, 2005).

Atualmente, é também referido como tratamento adjuvante a inclusão de fármacos imunomoduladores à terapêutica convencional, com o objetivo de obter melhorias clínicas mais significativas, reduzir a dose dos fármacos e diminuindo, assim, o risco de se desenvolver resistência e o aparecimento de efeitos secundários adversos (Miró *et al.*, 2017). A domperidona, antagonista do recetor de dopamina D2, é um destes fármacos imunomoduladores. Esta molécula apresenta propriedades antieméticas e gastrocinéticas e induz a libertação de serotonina, levando, assim, ao aumento da concentração sérica de prolactina (Oliva *et al.*, 2010; Gómez-Ochoa *et al.*, 2009). A prolactina é uma hormona que não só tem a capacidade de estimular a produção de leite, como também é classificada como uma citocina pró-inflamatória derivada do linfócito (Gómez-Ochoa *et al.*, 2009). Em 2012, foi disponibilizado no mercado nacional o fármaco Leishgard® e sabe-se que este medicamento impede o desenvolvimento da doença clínica, é seguro e apresenta raros efeitos secundários (Sabaté, Llinás, Homedes, Sust & Ferrer, 2014; Miró *et al.*, 2017). Outra vantagem também referida é a sua administração oral e a possibilidade de administração a cães insuficientes renais, pois a substância ativa sofre metabolização hepática e os seus metabolitos não apresentam atividade farmacológica (Gómez-Ochoa *et al.*, 2009; RCM Leisguard, 2017). Sabaté *et al.*, (2014) demonstraram que a implementação de um tratamento trimestral com domperidona durante 30 dias reduz o risco de desenvolver LCan em áreas com elevada prevalência da doença. Contudo, os dados disponíveis relativamente à sua utilização na LCan são escassos, pois trata-se de um fármaco relativamente recente e pouco estudado, sendo que estudos futuros são importantes para perceber o efeito real deste princípio ativo (Gómez-Ochoa *et al.*, 2009).

Recentemente, foi avaliada a prevenção da progressão de LCan em cães infetados com nucleótidos dietéticos e *active hexose correlated compound* (AHCC) (Segarra *et al.*, 2018). Os nucleótidos dietéticos demonstram capacidade para modular a resposta imunitária, crescimento, desenvolvimento e reparação tecidual, enquanto que o AHCC, produzido por micélios de cogumelos shiitake (*Lentinula edodes*), é usado em humanos pela sua capacidade em estimular o sistema imunitário (Segarra *et al.*, 2018). A administração oral destes compostos durante um ano em animais assintomáticos leva a reduções significativas de anticorpos Ac-AntiLeish e diminui a progressão da doença (Segarra *et al.*, 2018). Estes compostos demonstraram efeitos similares ao alopurinol, com a vantagem de não provocar xantínúria ou urolitíase (Segarra *et al.*, 2017).

Todavia, existe, na maioria das vezes, a necessidade de instituir tratamento contra os sinais clínicos ao longo do curso da doença, antes ou depois da mesma. Este tipo de tratamento

tem como finalidade complementar o tratamento etiológico, de modo a melhorar a condição e bem-estar do animal. Assim, de acordo com o caso clínico, poderá ser selecionado o uso de antibioterapia de largo espectro de ação, fluidoterapia, anti-inflamatórios, transfusão de sangue, dietas hipoproteicas e medidas terapêuticas efetivas em caso de insuficiência renal (Meireles, 2008).

4.5. Seguimento clínico

Após a instituição da terapêutica, os animais devem continuar a ser submetidos a uma monitorização. Esta deve ser feita de acordo com a evolução clínica de cada animal e o estado de saúde do mesmo (Oliva *et al.*, 2010). Apresenta uma importância tão grande como o tratamento e com este seguimento pretende-se detetar se a resposta ao tratamento é a desejada, identificar e corrigir possíveis erros e efeitos adversos, constatar a existência de lesões tardias, como, por exemplo, lesões por imunocomplexos e coinfeções, e, por fim, identificar o mais precocemente possíveis recidivas desta afeção (Ferrer, 2011). Durante o primeiro ano de terapêutica, após o primeiro mês de tratamento e depois a cada 3-4 meses, é recomendado realizar uma avaliação ao animal, com recurso a exame físico completo, recolha da anamnese, realização de hemograma, do perfil bioquímico e análise urinária, incluindo o rácio UPC nos cães com proteinúria. Em cães que se encontram a recuperar clinicamente com o tratamento, deverá ser realizado uma reavaliação a cada 6 meses ou uma vez por ano, e esta deve incluir também avaliação serológica do título de Ac-AntiLeish (Solano-Gallego *et al.*, 2009; LeishVet, 2017). Cães que se encontrem num estadio mais avançado da doença requerem geralmente uma monitorização mais frequente ao longo do decurso do tratamento, *e.g.*, com doença renal associada, devendo esta ser também direcionada para os sistemas orgânicos mais afetados (Oliva *et al.*, 2010).

4.6. Prevenção e controlo

A prevenção e o controlo da LCan evoluíram consideravelmente nas últimas duas décadas, devido ao desenvolvimento e melhor compreensão da resposta imune canina durante a infeção (Miró *et al.*, 2017).

De modo a prevenir a sua transmissão entre indivíduos e evitar que LCan entre em novos países ou em regiões onde existam condições favoráveis de transmissão, devem ser adotadas certas medidas/estratégias. Pode ser implementada a realização de testes de diagnóstico sensíveis a cães que visitam áreas endémicas, de modo a perceber se o animal se encontra infetado; proceder ao tratamento de cães infetados; vacinação de cães não infetados e controlar o vetor com o uso de inseticidas quer no ambiente quer nos cães (Miró *et al.*, 2008; Maia & Cardoso, 2015). Em certos países foi praticada a eutanásia de cães

infetados com este protozoário com o objetivo de ver reduzido o risco de transmissão. Contudo, esta medida mostrou-se ineficaz, tendo sido obtidos resultados mais favoráveis com medidas preventivas adequadas, como a diminuição da incidência de LVH em áreas endêmicas (ESCCAP, 2012; Werneck *et al.*, 2014 citado por Reguera *et al.*, 2016). A prevenção de mordeduras por este díptero é considerada uma estratégia eficaz na proteção contra a LCan e na diminuição do risco de infecção no homem (Maroli *et al.*, 2010). Esta é colocada em prática através do uso de coleiras, unções punctiformes (*spot-on*), pulverizações ou uso de redes impregnadas com inseticidas (OMS, 2017). O uso de repelentes/inseticidas em cães apresenta dois efeitos, tal como o nome indica, e que se relacionam com a capacidade de afastar e matar os flebótomos quando estes entram em contacto com um cão protegido.

O efeito repelente é composto pelo efeito *anti-feeding* (não ocorre refeição sanguínea por parte do inseto) e a capacidade de manter o inseto distante. Porém, estas duas atividades nem sempre têm o mesmo tempo de eficácia. Um estudo recente, que investiga a atividade da permetrina em *spot-on*, demonstra que o efeito *anti-feeding* é 21 dias mais prevalente do que o efeito inseticida (Liénard *et al.*, 2013).

A Tabela 5 faz referência a alguns compostos e respetivos medicamentos veterinários com poder repelente contra o vetor da Leishmaniose (Miró *et al.*, 2017). É importante referir que os inseticidas devem ser usados de forma rotativa, respeitando os intervalos que são referidos no RCM, de modo a prevenir a ocorrência de resistências (OMS, 2010).

Tabela 5. Moléculas inseticidas com eficácia na prevenção da mordedura por flebótomos (Adaptados de Miró *et al.*, 2017).

Composto ativo	Posologia do piretróide	Fórmula	Início de reação	Duração	Nome do produto (Empresa farmacêutica)
Permetrina, Imidaclopride	50 mg/kg	<i>Spot-on</i>	24-48 horas	3-4 semanas	Advantix® Plus (MSD)
Permetrina, Fipronil	50,48 mg/kg	<i>Spot-on</i>	24-48 horas	4 semanas	Frontline Tri-Act® (MERIAL)
Deltametrina	40 mg/kg	Coleira	7 dias	6 meses	Scalibor® (MSD)
Flumetrina, Imidaclopride	56 mg/kg	Coleira	-	-	Seresto® (BAYER)
Permetrina, Dinotefurano e Piproxifeno	46,6 mg/kg	<i>Spot-on</i>	24-48 horas	4 semanas	Vectra 3D® (CEVA)

4.6.1. Coleiras

Atualmente existem duas coleiras com diferentes princípios ativos comprovadamente eficazes. A coleira impregnada com deltametrina atinge a máxima eficácia 2 semanas após a aplicação e apresenta efeito repelente durante 6-8 meses (Killick-Kendrick *et al.*, 1997; Halbig,

Hodjati, Mazloumi-Gavvani, Mohite & Davies, 2000; David *et al.*, 2001). A coleira com flumetrina a 4,5% e imidaclopride a 10% encontra-se referida como uma boa medida preventiva contra o vetor de *L. infantum* em cachorros com idade inferior a 6 meses, como mencionado em Brianti *et al.*, (2014). Contudo, não existe informação experimental relativa à repelência desta coleira contra flebótomos (Miró *et al.*, 2017).

4.6.2. Spot-on

Estes produtos apresentam atividade protetora em toda a superfície corporal 24-48 horas após a colocação dos mesmos. Porém, apresentam um tempo de duração inferior às coleiras, sendo eficazes até ao vigésimo primeiro dia pós-aplicação (Maroli *et al.*, 2010). Existem várias combinações de diferentes princípios ativos que têm sido alvo de estudos, de modo a perceber a sua eficácia. A combinação de dinotefurano (5,0%), permetrina (36,1%), e piriproxifeno (0,4%) apresenta valores de eficácia para o efeito repelente de 96% ao fim de 14 dias e para o efeito inseticida de 88% aos 21 dias pós-aplicação (Liénard *et al.*, 2013). Mais recentemente, existe disponível uma combinação de permetrina (48%) com indoxacarb (15%), apresentando efeitos *anti-feeding* contra *P. perniciosus* durante 4 semanas (Frenais, Flochlay-Sigognault & Milon-Harnois, 2014). Contra este mesmo díptero existem novas combinações com permetrina e fipronil, confirmadas com um efeito repelente significativo: fipronil (6,7%) e permetrina (50,5%) com um efeito repelente de até 90% ao fim de 29 dias após a sua colocação (Dumont *et al.*, 2015) e permetrina (44,9%) e fipronil (6%), com valores de repelência acima de 87% até ao 28.º dia após colocação do *spot-on* (Franc *et al.*, 2015).

4.6.3. Sprays

Os *sprays* apresentam uma atividade inseticida imediata que se mantém durante 3 a 4 semanas (Gramiccia, 2011). Todavia, é necessário realizar uma correta aplicação dos *sprays* de modo a evitar zonas corporais não protegidas. Este método é o que apresenta uma durabilidade menor e que, para ser eficaz, tem de ser reaplicado no intervalo de 1 a 2 semanas (Molina, Miró, Gálvez, Nieto & Descalzo, 2006). O uso destes *sprays* inseticidas apresenta uma particular importância em casos de exposição curta ou para uma imediata proteção de cães que se encontrem no período final de transição de proteção de outros produtos (Miró *et al.*, 2017).

Existem também outras alternativas a serem aplicadas no ambiente envolvente, nomeadamente a colocação de redes com área de malha entre 0,3 e 0,4 mm², protegendo as janelas e portas de casa, abrigos ou canis (Molina *et al.*, 2006; Miró *et al.*, 2017), o uso de pulverizações com inseticidas no ambiente e o uso de mosquiteiros tratados com piretróides. Além disso, é também aconselhado reduzir os locais de reprodução de flebótomos e manter

os cães dentro de casa desde o pôr do sol até ao amanhecer (Solano-Gallego *et al.*, 2009; ESCCAP, 2012).

4.6.4. Imunoprofilaxia

As vacinas são usadas em cães saudáveis de modo a provocar uma resposta imunitária eficaz aquando do contacto com o parasita, evitando a progressão da doença e mantendo uma carga parasitária baixa, limitando a transmissão da doença dos cães para as pessoas e entre canídeos. Esta abordagem é hoje em dia considerada o pilar para o controlo da LCan. Para o desenvolvimento das vacinas anti-*Leishmania* é necessário entender o funcionamento do sistema imunitário (Miró *et al.*, 2017). Várias combinações de vacinas com adjuvantes capazes de produzir uma resposta imunitária do tipo celular foram conseguidas a partir do trabalho de vários grupos de investigação (Palatnik-de Sousa, 2008). Quatro vacinas de uso veterinário foram licenciadas e comercializadas: Leishmune®, Leish-Tec®, CaniLeish® e Letifend®, as duas primeiras no Brasil e as duas últimas na Europa. Porém, atualmente, só 3 se encontram disponíveis, pois a Leishmune® foi retirada do mercado por decisão das autoridades de saúde brasileiras. Todas as vacinas diferem entre si: a Leish-Tec® inclui como antigénio uma única proteína recombinante, a CaniLeish® contém proteínas secretadas/excretadas de *L. infantum* e a Letifend® é composta por um antigénio de polipéptido recombinante, a proteína Q (Miró *et al.*, 2017). As duas vacinas comercializadas na Europa estão disponíveis em Portugal.

A vacina CaniLeish®, registada em 2011, tem como adjuvante um extrato purificado de *Quillaja saponaria* (QA-21), similar à saponina. A vacina apresenta um valor de eficácia de 92% (Otranto & Dantas-Torres, 2013) e induz imunidade a partir da quarta semana após a primovacinação, tendo essa imunidade duração de, pelo menos, 1 ano, sendo necessário revacinar o animal anualmente. Esta só pode ser administrada a cães seronegativos à *Leishmania* com idade superior a 6 meses (Martin *et al.*, 2014; EMA, 2011). Estudos realizados em alguns cães vacinados demonstraram o desenvolvimento de infeção e estes cães eram também infeciosos para os flebótomos (Bongiorno *et al.*, 2013). Os efeitos secundários mais comuns foram reações moderadas e temporárias (2-15 dias) nas zonas de inoculação da vacina, como, por exemplo, tumefações, nódulos, eritema e dor à palpação. Outros sinais detetados durante 1 a 6 dias após a vacinação são hipertermia, apatia e alterações digestivas (EMA, 2011).

Em 2016 a vacina Letifend® foi licenciada para uso veterinário na Europa. Ao contrário das restantes vacinas, esta não contém um adjuvante e apresenta um regime de vacinação diferente da anterior. Enquanto que a vacina CaniLeish® necessita de 3 doses de administrações com o intervalo de 3 semanas entre elas, a Letifend® necessita apenas de uma única dose, sendo depois necessárias administrações anuais para ambas as vacinas.

De acordo com a informação das características deste produto, poderão ocorrer alguns efeitos secundários, sendo o mais comum o prurido na zona de administração da vacina. Este desaparece espontaneamente em cerca de 4 horas (RCM Letifend, s/d; RCM Canileish, s/d). Como já foi referido, o facto de o animal estar vacinado não é garantia que não irá ser infetado, pois as vacinas não conferem uma proteção de 100%. Deste modo, todos os animais, vacinados ou não, devem ser protegidos também com a aplicação de repelentes contra o vetor, diminuindo assim, a possibilidade de transmissão (Miró *et al.*, 2017).

Ambas as vacinas anti-*Leishmania* não são de aplicação obrigatória por lei, sendo a decisão de vacinar o animal baseada no seguinte: benefício/risco para o cão, idade, raça, estilo de vida, habitat, estado reprodutivo e a *compliance* do tutor, *i.e.*, a vontade e tomada de decisão do tutor (Miró *et al.*, 2017).

É também importante referir que a educação para a saúde é um elemento central na implementação de qualquer programa de controlo e prevenção de doenças (OMS, 2010). A deteção contínua e recorrente de agentes zoonóticos transmitidos por vetores em cães com ou sem sinais clínicos reforça a importância de aumentar a consciência e novos hábitos na comunidade veterinária, nos proprietários e nas autoridades de saúde pública quanto ao risco de infeção. O conceito de *One Health* realça também a necessidade de aplicar medidas profiláticas eficientes, não só pelos proprietários locais, como também pelos turistas de países não endémicos que estão de férias com os seus animais em zonas endémicas, de modo a prevenir infeções e doenças entre os hospedeiros mamíferos, incluindo os seres humanos (Maia *et al.*, 2016).

5. Economia na saúde

5.1. Introdução

Até aos dias de hoje, não existe um consenso acerca do valor da saúde. O que influencia a mesma e até que ponto é possível garantir e assegurar o acesso aos cuidados de saúde? Em medicina humana este dado nem sempre é garantido e depende muito do local do mundo em questão.

Em Portugal existe o serviço nacional de saúde (SNS), criado em setembro de 1979, que, à partida, salvaguarda o direito à saúde a toda a população portuguesa (SNS, sd). Até então, os custos relativos à assistência médica diziam respeito às famílias e a instituições privadas ou sociais. Tal assemelha-se ao que ainda hoje ocorre em medicina veterinária, na prática clínica de pequenos animais. A grande maioria das despesas de saúde encontram-se a cargo dos tutores dos animais em causa, embora já exista a opção de planos de saúde para animais ou até mesmo um seguro de saúde. Estes dois tipos de apoio económico diferem entre si; no primeiro, encontramos pacotes de serviços predefinidos com o intuito de assegurar a prática

de uma medicina preventiva, em que os custos se fazem de forma faseada ao longo do ano. Os seguros de saúde têm como principal finalidade proporcionar o acesso a atos médicos veterinários necessários de forma inesperada ou urgente, como por exemplo, cirurgias, internamento ou exames de diagnóstico após um acidente, facilitando o pagamento dessas mesmas intervenções médico-veterinárias (Bola de pêlo, sd).

De acordo com um estudo realizado por Tisdell (2010), existem diversos fatores que apresentam consequências para a saúde dos animais e que influenciam a suscetibilidade a doenças que são dignos de interesse do ponto de vista económico. Estes fatores são a genética, o conforto e as condições ambientais em que os animais se encontram e o seu acesso a água e alimento, bem como a qualidade destes. No entanto, a economia na saúde animal não se encontra tão desenvolvida como a economia na saúde humana. Trata-se de um tema muito abrangente, quer a nível das espécies de animais que pode incluir, como das diferentes matérias que pode abordar, incluindo os fatores referenciados anteriormente. Deste modo, é necessário um conhecimento e uma abordagem mais generalizada de modo a conciliar conceitos de medicina veterinária com conceitos económicos.

A importância dada a este tema varia também de acordo com o tipo de animal e a sua finalidade. É referido que o número de estudos é superior em animais com fins comerciais, como é o caso dos animais de produção e peixes de aquacultura, pois o objetivo, nestes casos, é obter o maior lucro possível. Já os animais de companhia não são alvo de grande atenção. Apesar das despesas com a manutenção destes animais parecer elevada, há ainda muitos aspetos económicos que se encontram por explorar (Tisdell, 2010).

Enquanto que a economia da saúde animal é uma disciplina que auxilia na tomada de decisões relativas a intervenções na saúde animal a vários níveis (animais individuais, medicina das populações e controlo de doenças a nível internacional), a farmacoeconomia encontra-se dirigida para os aspetos económicos, clínicos e humanísticos relativos à aplicação de fármacos em medicina humana e veterinária (Otte & Chilonda, 2001; DeSanVicente-Célis, Salazar, Pineda-Tamayo & Anaya, 2011).

5.2. Farmacoeconomia

A grande recessão que afetou Portugal a partir de 2009, em conjunto com uma austeridade severa, teve repercussões negativas a nível dos cuidados de saúde humana (Perelman, Felix & Santana, 2015) e, provavelmente, na clínica de pequenos animais, tal como aconteceu noutros países (Burns, 2011). Existem muitos tutores que relatam impossibilidades económicas ou que propõem pagamentos faseados, de modo a continuarem a poder proporcionar os melhores cuidados aos seus animais de estimação, pois estes cada vez mais são vistos como membros da família. Assim, surgiu a necessidade e a consciencialização por parte dos médicos veterinários dos custos da sua prática, bem como as suas consequências.

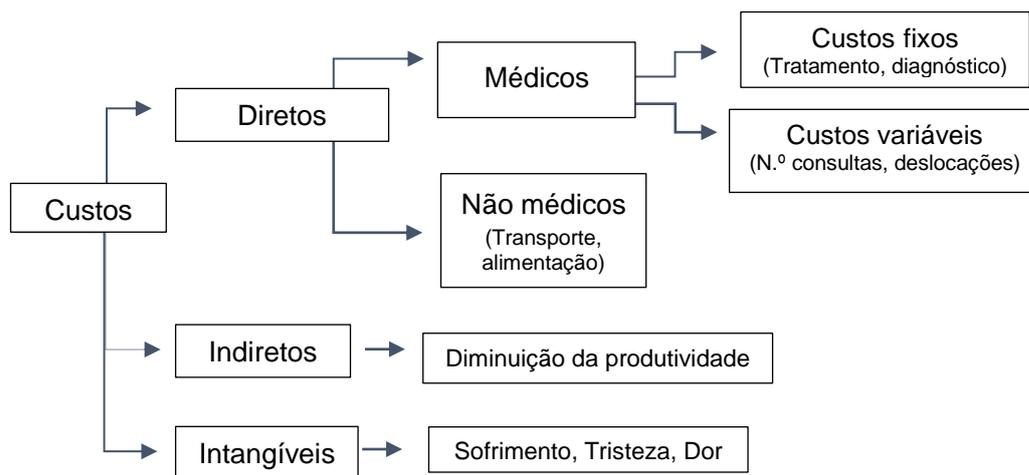
Existe uma disciplina com origem na economia da saúde que tem vindo a ganhar, aos poucos, relevância em medicina veterinária, denominada farmacoeconomia.

A farmacoeconomia é uma disciplina em desenvolvimento que tem como objetivos identificar, medir e comparar os custos e as consequências clínicas, económicas e humanísticas dos fármacos ou de outras intervenções médico-farmacêuticas nos indivíduos, sociedade e sistemas de saúde (DeSanVicente-Célis, Salazar, Pineda-Tamayo & Anaya, 2011). Esta definição e a restante exposição a esta temática encontram-se baseadas em fontes de medicina humana, pois não existem, até à data, referências relevantes da mesma na área de medicina veterinária. Tal como já foi referido, esta disciplina encontra-se em expansão e em constante evolução. No entanto, é na área humana que podemos encontrar mais informação. Foi nos anos 70 do século XX que surgiram os primeiros conceitos relacionados com esta temática. O custo-benefício e custo-efetividade deram início aos estudos com determinados fármacos. O termo “farmacoeconomia” foi referido pela primeira vez por Townsend em 1986 num encontro público de farmacêuticos (DeSanVicente-Célis, Salazar, Pineda-Tamayo & Anaya, 2011). Já na década de 90, com o aumento da preocupação pela saúde e consciencialização dos recursos finitos, começou-se a aplicar na prática estes conceitos (Bisson, sd). Em 1995, foi fundada a *International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research* (ISPOR) que reforçou a importância da farmacoeconomia e que foi fundamental para a sua implementação como uma especialidade científica (Meng, 2008). Hoje em dia, de modo a que a comercialização de um novo fármaco seja legalmente autorizada, este tem de apresentar um estudo farmacoeconómico. Porém, nem todos os países adotaram esta condição. O primeiro país a fazê-lo foi a Austrália, seguida pelo Canadá, Portugal, Holanda, Finlândia, Noruega, Reino Unido e Dinamarca (Álvarez, 2001; Ruiz, Herrera & Iznaga-Escobar, 2014).

5.2.1. Conceitos

Mas a que se referem os custos de saúde? Na visão farmacoeconómica, estes custos representam o investimento financeiro na saúde dos indivíduos, sendo classificados como diretos (médicos e não médicos), indiretos e intangíveis (Drummond, O'Brien, Stoddart & Torrance, 1997) (Figura 5).

Figura 5. Classificação dos custos.



Os custos diretos dizem respeito aos custos inerentes aos serviços de saúde em geral, incluindo os cuidados médicos, preventivos, de diagnóstico e tratamento, e que passam, por exemplo, pelos custos dos fármacos e da sua administração, dos vencimentos dos funcionários de saúde e da própria consulta ou internamento. Os custos não médicos, como o transporte de pacientes e cuidados alimentares específicos, estão incluídos neste tipo de custos diretos (Carlos, Siqueira, Pessoa & Almeida, 2001; Trask, 2011).

Os custos diretos médicos podem ainda ser subdivididos em custos fixos e custos variáveis. Os custos fixos não são facilmente influenciados, permanecendo, assim, constantes ao longo do tempo e, deste modo, na maioria dos estudos farmacoeconómicos não são incluídos. Os custos variáveis, tal como o nome refere, sofrem alterações quantitativas ao longo do tempo, incluindo, por exemplo, os próprios fármacos, o número de consultas e o número de deslocações (Trask, 2011).

Os custos indiretos resultam, nomeadamente da mortalidade e morbilidade consequentes do desenvolvimento da doença, pois ocorrerá uma ausência ou diminuição de produtividade por parte do indivíduo e/ou dos familiares. Já os custos intangíveis apresentando um valor económico, são desprovidos de substância física, tais como o sofrimento, a tristeza e a dor. Assim, estes custos são muito difíceis de quantificar em termos económicos, e não são contemplados na maioria dos estudos (Trask, 2011).

De modo a perceber melhor esta temática, há que referir outros conceitos, tais como custo de oportunidade, *outcomes*, eficácia, efetividade, eficiência e utilidade.

O custo de oportunidade representa o benefício económico perdido ao optar por uma terapia em vez da melhor alternativa possível. Por outras palavras, o custo de oportunidade é o valor da alternativa que foi perdida (Trask, 2011).

Os *outcomes*, também referidos como resultados ou benefícios, são considerados um componente fundamental deste estudo, pois permitem comparar os custos das diferentes

alternativas com os resultados obtidos nas mesmas (Kumar & Baldi, 2013). Estes podem ser expressos em unidades monetárias, humanísticas ou clínicas (Secoli, Padilha, Litvoc & Maeda, 2005).

Quando um estudo é realizado de forma controlada e nas condições ideais, os benefícios demonstrados são representados pela eficácia. No entanto, quando se avaliam os benefícios de um fármaco em contexto real, fala-se em efetividade, sendo esta, na maioria das vezes, menor que a eficácia (Meltzer, 2001; Marques, 2008). Relativamente ao conceito eficiência, este aplica-se quando são referidos em conjunto os custos e os resultados de administração do fármaco. Contudo, é o conceito de efetividade que apresenta maior interesse nos estudos de avaliação económica, pois estes reportam a condições reais de prática clínica corrente (Trindade *et al.*, 1998).

O conceito utilidade na economia da saúde está relacionado com o bem-estar ou com a perceção do indivíduo relativamente aos níveis de satisfação aquando o uso ou a prática de um determinado procedimento médico (Marques, 2008).

Os estudos de avaliação farmacoeconómica podem ser divididos em dois tipos: avaliação económica parcial e completa. As avaliações económicas parciais são mais simples, requerendo menos tempo e esforço despendido, sendo úteis na compreensão dos custos ou das consequências em avaliações intercalares. Estas incluem descrições dos resultados ou dos recursos utilizados, se apenas forem avaliadas as consequências ou os custos, respetivamente. Nestas avaliações, não se pretende comparar diferentes alternativas de tratamento. No entanto, na análise de custo, outro exemplo de avaliação parcial, já é possível comparar duas ou mais alternativas terapêuticas, mas não se tem em consideração os resultados destas (Trask, 2011; Castanheira, 2013).

As avaliações económicas completas comparam duas ou mais alternativas e têm em consideração os custos e os resultados destas. Deste modo, é fácil compreender que estas proporcionam informações mais úteis e com maior qualidade. Contudo, estas avaliações exigem mais tempo, esforço e recursos necessários para a sua execução (Trask, 2011).

Neste tipo de avaliações o método de comparar os custos é sempre monetário. Porém, de acordo com o tipo de resultados pretendidos, existem diferentes tipos de estudos em farmacoeconomia, nomeadamente minimização de custos, custo-efetividade, custo-benefício e custo-utilidade (Trask, 2011; Areda, Bonizio & de Freitas, 2011).

A Análise de Minimização de Custos (AMC) é uma das análises económicas mais simples e é utilizada quando os resultados de duas ou mais intervenções é o mesmo em termos de consequências clínicas, isto é, apresentam valores de eficácia ou efetividade semelhantes. Nesta análise, apenas os custos são submetidos a comparação (Areda, Bonizio & de Freitas, 2011). Um exemplo deste tipo de avaliação é a comparação de fármacos genéricos com

outros medicamentos de marca equivalentes no seu resultado. O agente menos caro deve ser o preferido (Trask, 2011).

A Análise de Custo-Efetividade (ACE) diz respeito à relação entre o custo de um tratamento, medido em unidades monetárias, e os seus resultados clínicos para o indivíduo. Esta é a análise mais realizada, pois os resultados das alternativas comparadas são medidos em unidades clínicas a que os profissionais de saúde estão mais habituados, como, por exemplo, a percentagem de cura, o número de vidas salvas, o número de dias sem dor e os anos de vida ganhos (Areda, Bonizio & de Freitas, 2011). Esta análise compara terapêuticas com diferentes taxas de sucesso, mas que podem ser medidas numa escala comum de consequências. Contudo, não permite a comparação entre duas áreas diferentes de medicina com diferentes resultados (Kumar & Baldi, 2013). O seu objetivo é avaliar o impacto de diferentes alternativas de intervenção, permitindo melhorar os efeitos do tratamento em troca da aplicação de recursos adicionais (Secoli, Padilha, Litvoc & Maeda, 2005).

A Análise Benefício-Custo (ABC) permite identificar, medir e comparar os benefícios e os custos de um protocolo terapêutico ou de um alternativo. Existem diferentes critérios de rentabilidade, mas utilizaremos aqui o rácio benefício-custo (RBC) e o valor líquido atualizado (VLA). Tanto os custos como os benefícios são medidos e comparados na mesma unidade monetária, sendo expressos no RBC ou no VLA. Ambos os critérios são sensíveis à taxa de actualização¹ utilizada. A decisão clínica recairá pelo programa ou alternativa terapêutica que apresente a melhor relação custo-benefício ou o maior benefício económico (Trask, 2011). Esta análise tem como vantagem permitir a comparação de intervenções de diferentes áreas da medicina, como, por exemplo, um procedimento cirúrgico *versus* um determinado fármaco. Contudo, apresenta um aspeto mais difícil e desafiante, pois, como já foi referido, na maioria das vezes não é fácil converter alguns benefícios em termos monetários, como o grau de dor e a morte (Marques, 2008; Freund & Dittus, 1992, citado por Kumar & Baldi, 2011).

O RBC permite avaliar os benefícios monetários em função dos custos. Contudo, não indica a dimensão do investimento inicial. Este é obtido dividindo o valor atual dos benefícios (VAB) pelo valor atual dos custos (VAC). O VLA representa a rentabilidade dos cenários relativamente aos preços no momento, calculando-se através da seguinte equação: $\sum_t ((VB_t - VC_t) \times (1 + i)^{-t})$. Os valores de VLA positivos indicam um benefício e, assim, o protocolo terapêutico em estudo pode ser aceite. No entanto, a dimensão relativa dos benefícios não é demonstrada pelo VLA, mas sim pelo RBC (Henriques, Carvalho, Branco & Bettencourt, 2004).

¹ A taxa de actualização ou de desconto, é a taxa de juro real de mercado que é utilizada no ponderador a partir do qual é realizada a actualização. Neste caso o ponderador designa-se por Factor de Desconto e é dado pela expressão: $(1 + i)^{-t}$. A actualização de uma quantia não é mais que uma técnica de cálculo financeiro que permite reportar a um mesmo momento presente do tempo quantias financeiras que dizem respeito a momentos futuros.

A Análise de Custo-Utilidade (ACU) é um método que tem como finalidade a preferência ou a qualidade de vida do paciente quando se compara alternativas de tratamento concorrentes, isto é, a utilidade. O custo é medido em unidades monetárias e o resultado terapêutico é medido em unidades ponderadas pelo indivíduo, os Anos de Vida Ajustados por Qualidade (AVAQ). Esta medida utiliza escalas de saúde em que os valores variam de 0 (morte) até 1 (saúde perfeita) (Trask, 2011; Álvares, 2001). A ACU é o método mais apropriado para usar em comparações de tratamentos ou protocolos alternativos que se prolongam por um longo período da vida e que provocam efeitos secundários graves, como é o caso da quimioterapia e da radioterapia. No entanto, como a AVAQ e outras unidades utilizadas para medir a utilidade são altamente subjetivas, não existe um consenso entre os investigadores de qual seja a melhor opção para medir a utilidade e, deste modo, este método é utilizado com menor frequência que os restantes (Trask, 2011).

Na Tabela 6 encontra-se um resumo dos diferentes métodos de análise económica referidos anteriormente, salientado, porém, que outros métodos podem ser aplicados (orçamentos parciais de substituição, análise de decisão, programação linear, entre outros e referido por Otte & Chilonda, 2001).

Tabela 6. Métodos de Análise Económica. (Adaptado de Trask, 2011).

Métodos de Análise Económica	Aplicação	Unidade de custo	Unidade dos Outcomes	Vantagens	Desvantagens
Minimização de Custos	Determinar a alternativa menos dispendiosa	Monetária	Monetária	Simplicidade da análise	As alternativas têm de apresentar os mesmos resultados
Custo-Efetividade	Comparar alternativas com diferentes perfis de segurança e eficácia	Monetária	Unidades clínicas	As unidades clínicas são bem conhecidas dos profissionais de saúde	Não permite comparar entre duas áreas diferentes de medicina com diferentes resultados
Análise Benefício-Custo	Compara programas com diferentes objetivos e calcula um ganho líquido	Monetária	Monetária	Compara procedimentos de diferentes áreas de medicina	Dificuldade em converter alguns benefícios em unidades monetárias
Análise de Custo-Utilidade	Compara fármacos/programas de longa duração ou com efeitos secundários graves	Monetária	AVAQ	Compara o custo, a qualidade e a quantidade dos anos de vida do indivíduo	As unidades utilizadas para medir a utilidade são subjetivas; Não existe um consenso entre os investigadores de qual a melhor opção para medir a utilidade

Existe ainda a avaliação do custo da doença. Esta identifica e estima os custos totais de uma doença específica para uma determinada população ou indivíduo por um período de tempo determinado. Após a determinação dos custos diretos e indiretos de uma doença pode-se determinar o valor de um tratamento ou estratégia de prevenção. Deste modo, para se determinar o benefício da implementação de uma estratégia de prevenção, subtrai-se o custo

de prevenção aos custos da doença (Trask, 2011). Assim, os dois grandes objetivos desta análise é demonstrar quanto a sociedade gasta com uma determinada afeção e avaliar as consequências socioeconómicas de cada doença para a sociedade e para o sistema de saúde (Álvarez, 2001). Existem duas formas de abordar esta avaliação, nomeadamente a forma de prevalência, mais comum, que avalia os custos relacionados com a doença num determinado período de tempo, e a forma de incidência, mais complexa e dispendiosa, que mede os custos da doença desde o seu diagnóstico até ao resultado final (Trask, 2011; Castanheira, 2013).

5.3. Aplicações práticas da farmacoeconomia

A farmacoeconomia permite estudar o impacto social, em termos de saúde e de economia, dos fármacos no indivíduo, nas populações e nos sistemas de saúde. A indústria farmacêutica e os sistemas nacionais de saúde são os que mais usufruem destes estudos, pois os mesmos ajudam na tomada de decisões em diversos aspetos, tais como: 1) na decisão sobre a investigação e desenvolvimento pelos laboratórios farmacêuticos, ou seja, permitem definir quais as vantagens do novo produto ou se este deve ser ou não colocado no mercado; 2) o preço mais apropriado do fármaco em questão; 3) a escolha clínica de determinado fármaco em detrimento de outro; 4) a realização de protocolos clínicos com base na eficácia, efetividade e custo-efetividade dos fármacos e 5) na constante vigilância mesmo após a comercialização do medicamento, de modo a manter atual toda a informação inerente ao fármaco (Haycox & Baguet, 2005; Herrera & Lorenzo, 2011). Resumindo, a farmacoeconomia contribui para o uso racional dos fármacos, com o intuito de alcançar uma melhor relação entre o custo e o resultado obtido e proporcionar uma distribuição de recursos de saúde de forma equilibrada e justa (Zanini, Farhat, Ribeiro & Follador, 2001; Arede, Bonizio & de Freitas, 2011).

5.4. Aplicações em Medicina Veterinária

Apesar de este tema ainda não se encontrar muito desenvolvido na área de medicina veterinária e nem sempre ser um tema de interesse prioritário de um futuro médico veterinário (MV), muito depressa o mesmo irá deparar-se com este conceito na sua prática clínica. O MV terá de optar por diversas alternativas, avaliar e valorizar os benefícios e consequências das mesmas na saúde dos seus pacientes, tendo em conta os recursos existentes e disponíveis por parte do tutor do animal, de modo a adotar a melhor terapêutica que se adegue à situação em questão (Marques, 2008). Para além do que foi referido anteriormente, os estudos farmacoeconómicos podem também ser uma ferramenta de informação para os tutores dos animais, pois o MV estará mais e melhor preparado para os aconselhar. Estes estudos também podem ser utilizados pelos laboratórios farmacêuticos veterinários com o objetivo da

aprovação e introdução no mercado dos fármacos e justificação dos seus preços (Marques, 2008). Existem diversos estudos que demonstram o crescimento desta aplicação na área de Medicina Veterinária, nomeadamente nas espécies pecuárias. Alguns destes estudos serão seguidamente referidos como exemplo.

Um trabalho realizado por Guichon e seus colaboradores (2000) tinha como objetivo determinar e comparar o custo-efetividade relativamente à evolução do crescimento, à saúde dos animais e às características das carcaças dos vitelos de engorda tratados com ivermectina tópica *versus* vitelos de engorda tratados com fenbendazol PO e com permetrina e fentião tópicos. Após o estudo, foi concluído que a administração de ivermectina é mais efetiva em termos de custos do que a administração da combinação alternativa. Outro exemplo do estudo de análise custo-efetividade foi realizado por Rivière e colaboradores (2017), que tinha como objetivo avaliar a-eficácia em termos de custos de três componentes diferentes de vigilância da tuberculose bovina em animais selvagens de França. O sistema de vigilância (sistema Sylvatub) era constituído pela vigilância passiva em animais capturados, em animais doentes ou em cadáveres e, por último, pela vigilância ativa. Após a estimativa dos custos globais dos diferentes tipos de vigilância foi concluído que a relação custo-eficácia da vigilância Sylvatub é melhor nos departamentos/áreas de alto risco, devido, em particular, à maior probabilidade de detetar a infeção. Além disso, a vigilância ativa é o componente de vigilância mais rentável do sistema Sylvatub, apesar do alto custo em termos de coordenação, colheita de amostras e análises laboratoriais.

Existem também estudos de análise farmacológica que têm como objetivo avaliar o relacionamento de doenças zoonóticas e o seu impacto quer na saúde dos animais quer na do homem, mas também o seu impacto económico nas duas vertentes. A título de exemplo, é referido um estudo acerca do impacto da equinococose na saúde pública de uma zona rural do Canadá. Este estudo tinha como objetivo identificar os fatores de risco associados à infeção e medir o custo-utilidade da introdução de um programa de prevenção de equinococose em cães *versus* o tratamento de pessoas infetadas. A ACU revelou que, naquele caso específico, a administração de praziquantel com 6 semanas de intervalo em cães não era rentável. Contudo, a mesma análise demonstrou que este programa poderia tornar-se rentável e com benefícios económicos se o número de casos se encontrar no intervalo 13-85 num total de 100.000 pessoas, *i.e.*, se a incidência da doença aumentar, ou até se ocorrer apenas um único caso numa população de 9.000 pessoas. Deste modo, com este estudo é salientada a importância da vigilância, os seus efeitos benéficos nas pessoas, animais domésticos e silváticos, bem como a consciencialização por parte das entidades competentes e governos na tomada de decisões informadas (Schurer, Rafferty, Farag, Zeng & Jenkins, 2015).

Esta temática encontra-se também referida em duas dissertações do MIMV da ULisboa. A primeira, realizada por Marques (2008), trata-se de um estudo parcial farmacoeconómico aplicado a mamites, que tinha como objetivo analisar as diversas áreas do medicamento veterinário farmacológico e também calcular os custos económicos diretos da mamite clínica ligeira ou moderada com recurso a vários antimicrobianos de aplicação intramamária a partir de diferentes protocolos terapêuticos e diferentes níveis de produção. A segunda foi realizada por Castanheira (2013), cujo objetivo era expor e dar a conhecer esta nova disciplina, a sua importância em medicina veterinária e por fim analisar os custos de tratamento e de vacinação da LCan.

5.5. Limitações da análise farmacoeconómica

Apesar das claras vantagens da farmacoeconomia, nem sempre é fácil e consensual proceder-se a uma avaliação económica. Existem diversas barreiras referenciadas pelos profissionais de saúde que dificultam a implementação de normas de eficiência na tomada de decisões. A primeira barreira que se coloca é a falta de formação neste tema, pois trata-se de uma disciplina em desenvolvimento, que apresenta diretrizes e recomendações gerais e vagas (Kumar & Baldi, 2011; Diaz, Andrés & Carrera-Huesoc 2011). É também referido que a maioria dos estudos não abordam problemas diários, que o seu objetivo fulcral é economizar e não obter uma maior eficiência e que podem também originar questões éticas, como o facto de, por vezes, ser necessário quantificar custos intangíveis. Outras premissas sugerem a existência de problemas de fiabilidade, não só pelo facto de grande parte dos estudos serem financiados pela indústria farmacêutica, como também o método de avaliação económica não estar a ser corretamente aplicado (Diaz, Andrés & Carrera-Huesoc, 2011). Schumock e colaboradores realizaram dois trabalhos em que analisaram, respetivamente, estudos de avaliação económica dos serviços de farmácia examinados entre 1988 e 1995 (1996) e entre 1996 e 2000 (2003). Na primeira revisão, dos 109 estudos avaliados, apenas 19 foram considerados completos ou legítimos, e os autores concluíram que, apesar de ao longo do tempo o número de artigos publicados ter aumentado, havia ainda a necessidade de melhorar a qualidade ou o rigor do *design* dos estudos. No entanto, a segunda revisão indicou que a qualidade dos estudos publicados estava a aumentar (Trask, 2011; Schumock *et al.*, 1996; Schumock *et al.*, 2003).

Assim, surgiu a necessidade de implementar um sistema padrão para a conceção e realização de estudos ou um modelo para avaliar o relatório de estudo económico (ISPOR, 2018). Deste modo, foram publicadas pela ISPOR uma revisão das diretrizes nacionais para vários países. Estas encontram-se categorizadas em 3 tipos:

- 1) Recomendações de farmacoeconomia, onde são referidas diretrizes de avaliação económica específicas de cada país ou recomendações publicadas por especialistas

da área, mas que não são “oficialmente” reconhecidas ou exigidas pelas entidades de decisão de cuidados de saúde do respetivo país;

2) Diretrizes de submissão, que correspondem a diretrizes ou políticas “oficiais” específicas do país relativas aos requisitos de submissão de medicamentos, que são exigidas pelos órgãos de decisão de cuidados de saúde do país em questão;

3) Diretrizes farmacoeconómicas: diretrizes oficiais específicas do país ou políticas relativas à avaliação económica que são reconhecidas ou exigidas pelas entidades de decisão de cuidados de saúde do mesmo país (ISPOR, 2018).

Portugal apresenta apenas diretrizes farmacoeconómicas criadas em 1998 pelo Infarmed, tendo como título: *Orientações metodológicas para estudos de avaliação económica de medicamentos* (da Silva *et al.*, 1998). Contudo, a farmacoeconomia tem vindo a ganhar poder e a adquirir um lugar na literatura internacional, sobretudo na área hospitalar (Secoli *et al.*, 2005).

Capítulo III – Avaliação de custos inerentes ao tratamento e prevenção da Leishmaniose em cães domésticos

1. Introdução

A LCan é uma doença transmitida por vetores de distribuição mundial e que está atualmente presente em 98 países (Sevá *et al.*, 2017). Os cães domésticos são considerados reservatórios naturais de *L. infantum* e, em determinados países onde esta doença é endémica, estes são a principal causa de disseminação de LVH (Dantas-Torres *et al.*, 2012). Atualmente em Portugal encontram-se disponíveis duas possíveis vacinas contra a Leishmaniose. Ambas as vacinas só podem ser administradas a animais que são negativos a *Leishmania* (Veterinária Atual, 2011; Ramalho, 2017). No entanto, não se deve colocar de parte as restantes opções preventivas, tais como os desparasitantes externos e os inseticidas que se colocam nos animais e nos locais onde os mesmos passam mais tempo.

2. Objetivos

Esta dissertação tem como objetivos:

- 1 - Estudar a LCan expondo, analisando e comparando os custos inerentes ao tratamento de cães com doença clínica com alguns métodos de prevenção, nomeadamente as duas vacinas disponíveis (A e B) e coleiras desparasitantes, bem como os benefícios daí decorrentes;
- 2 – A partir da análise benefício-custo, perceber se a prevenção é economicamente mais favorável que a realização do tratamento para a LCan (assumindo 100% de eficácia);
- 3 – Compreender qual a diferença monetária entre prevenir e não prevenir um animal que contrai LCan no segundo ano de vida, altura em que também inicia a terapêutica contra a mesma.

Passaremos agora a apresentar a metodologia aqui seguida, os cenários considerados e os dados que foram necessários recolher.

3. Materiais e Métodos

3.1. Recolha dos dados e descrição de cenários

De modo a proceder à análise económica, realizou-se, primeiramente, uma recolha de dados referentes aos preços dos medicamentos, métodos de diagnóstico e outros produtos, com recurso ao programa informático QVET. Os dados foram gentilmente cedidos pelo HEV-FMV e dizem respeito aos preços de venda ao público (PVP) em vigor no ano de 2017.

Posteriormente foi realizada uma avaliação de todos os valores associados ao tratamento e prevenção da LCan, numa folha de cálculo do Microsoft Office® Excel.

Em seguida, idealizaram-se 3 cenários distintos, de modo a retratar diversas possibilidades na prática clínica da LCan. O cenário 1 diz respeito a um animal que faz prevenção durante toda a sua vida e esta é 100% eficaz, não ocorrendo desenvolvimento da doença. No cenário 2 o animal é sujeito a prevenção, mas contrai a doença clínica no segundo ano de vida, altura em que inicia o tratamento, falecendo aos sete anos de idade. No cenário 3, assume-se que não é realizado qualquer tipo de prevenção e que o animal demonstra sinais de doença clínica aos dois anos de idade, falecendo, igualmente, aos sete de vida.

3.2. Descrição dos parâmetros utilizados na análise económica

3.2.1. Cenário 1: Prevenção com ausência de doença clínica

Perante este cenário, considerou-se relevante proceder à análise benefício-custo para averiguar a viabilidade económica associada a dois tipos de prevenção disponíveis atualmente no mercado. Sempre que se pretende aplicar uma prevenção, como seja uma vacina, cujos custos associados bem como os efeitos dela decorrentes, se prolongam no tempo, esta será a metodologia de análise económica adequada. A realização desta metodologia de análise benefício-custo envolve três passos fundamentais: enumerar os custos e os benefícios envolvidos, definir a taxa de atualização a usar (taxa de juro) e especificar os critérios de rentabilidade a utilizar.

De acordo com alguns estudos, o tempo médio de vida de um cão varia entre 6 e 12 anos (Bronson, 1982; Proschowsky, Rugbjerg & Ersbøll, 2003; Adams, Evans, Sampson & Wood, 2010; Michell, 1999). O tempo médio de vida considerado para os animais em questão nesta dissertação foi de 10 anos. A longevidade dos cães encontra-se muitas vezes associada ao peso corporal dos mesmos, sendo a relação inversamente proporcional. Quanto mais pesado é o animal, menor é o seu tempo de vida (Adams, Evans, Sampson & Wood, 2010). De modo a abranger diversos tamanhos de cães, foram escolhidos 3 valores de peso corporal: 10 kg, 20 kg e 30 kg.

Neste cenário os custos envolvidos dizem respeito aos custos diretos com a prevenção da LCan e que passamos a descrever:

1 – Custos das vacinas A e B, que contempla o custo do teste de diagnóstico que é necessário realizar previamente. Este custo contempla o protocolo vacinal que se inicia aos 6 meses de idade e inclui a primovacinação e 9 revacinações anuais.

2 – Custos com as coleiras desparasitantes C e D, podendo ser colocadas isoladamente ou em conjunto com a respetiva vacina. Para o cálculo do número de coleiras utilizadas pelos canídeos durante o tempo pretendido em cada cenário foi tido em consideração o tempo de ação de cada uma das coleiras desparasitantes. O número de aplicações ao longo da vida do

animal varia de acordo com o desparasitante usado. Assumindo que o cão é desparasitado pela primeira vez aos 2 meses e que usa o mesmo desparasitante durante 118 meses, irá usar, durante a sua vida, 19 coleiras em média. O valor obtido para o custo das coleiras resulta de uma média ponderada que tem em conta os preços em vigor no HEV-FMV no ano de 2017 (Anexo 1) e as coleiras desparasitantes utilizadas (Anexo 2).

No que aos benefícios diz respeito, assumimos aqui como principal benefício a perda que se evita pelo facto de o animal não ter contraído a doença, visto que a prevenção é 100% eficaz. Acresce a este benefício os benefícios intangíveis resultantes da prática de prevenção. Não tendo sido quantificado o seu valor económico, é, contudo, necessário enumerá-los aqui:

- (i) a melhor qualidade de vida e maior longevidade do animal, pelo facto de não contrair a doença e, desta forma, não vir a padecer da mesma;
- (ii) o tutor não sofrer emocionalmente com a doença do seu animal de estimação e com a sua morte prematura, e
- (iii) a não contribuição deste canídeo para a disseminação e transmissão da doença a outros seres vivos, incluindo o ser humano.

Voltemos agora ao benefício que aqui quantificámos como a perda que se evita pelo facto de não ter ficado doente. Para a sua quantificação, há que ter em conta o custo do tratamento que teria que existir caso a doença ocorresse. Passemos agora, então, à explicação da sua quantificação. Este tratamento envolve custos com diagnóstico, custos com os fármacos, custos de seguimento clínico e, ainda, custos de possíveis recidivas, bem como das coleiras desparasitantes.

Nos custos com o diagnóstico da LCan incluímos: consulta, análises sanguíneas e bioquímicas (hemograma, alanina-transferase (ALT), fosfatase alcalina (FAS), proteinograma, rácio UPC e urianálise) e teste de diagnóstico. Os custos com os fármacos dizem respeito ao protocolo A constituído pela combinação Antimoniato de Meglumina (100 mg/kg, sid, durante 30 dias) com Alopurinol (10 mg/kg, bid, durante 180 dias) e ao protocolo B constituído pela associação Miltefosina (2 mg/kg, sid, durante 28 dias) com Alopurinol, este último na mesma dose do protocolo A. Os protocolos de tratamento escolhidos foram adotados das *guidelines* elaboradas pelo grupo LeishVet (Tabela 3). Relativamente ao seguimento clínico, realizado com uma periodicidade de 6 meses, foi contabilizada a consulta de seguimento, a repetição das mesmas análises sanguíneas e bioquímicas e o método serológico. Relativamente aos custos com as recidivas, foi considerado, para efeitos de cálculo, que as recidivas ocorreriam com ano e meio de intervalo e, assim, o canídeo morreria no decorrer da última recidiva, com aproximadamente 7 anos de idade, tendo, ao todo, 3 recidivas. A bibliografia refere que as recidivas não são incomuns e tendem a ocorrer entre os 6 meses e os 2 anos após o término

da terapêutica, sendo mais frequente quando a duração do tratamento é inferior a 4 semanas (Oliva *et al.*, 2010; Campillo *et al.*, 1999; Alvar *et al.*, 2004; Manna *et al.*, 2004). O custo de uma recidiva inclui o preço de um novo tratamento, que se considera igual ao primeiro (protocolo A ou B), o preço de novas análises sanguíneas e bioquímicas e o custo de mais dois seguimentos clínicos. Finalmente, o custo da coleira desparasitante, com o objetivo de impedir a transmissão da doença para outros animais e humanos via vetor, bem como a reinfeção do cão, foi também contabilizado.

De salientar que a referência a tratamento A ou B corresponde ao conjunto dos parâmetros anteriormente referidos, diferindo somente nos protocolos utilizados (A ou B, respetivamente). Salientamos a necessidade de considerar os benefícios intangíveis decorrentes da prática da prevenção, que foram referidos anteriormente, os quais, não tendo sido contabilizados monetariamente na análise, acrescem ao valor total dos benefícios.

Como esta análise económica é retratada num período de tempo relativamente longo, foi necessário proceder à atualização dos valores monetários dos custos e dos benefícios, convertendo-os a um mesmo momento do tempo, de modo a que estes possam ser comparados (Avillez, Estácio & Neves, 1987). Assim, para calcular o VAC e o VAB é necessário proceder a uma atualização. Existe a preferência temporal do dinheiro, e receber uma determinada quantia hoje, no momento $t = 0$, é diferente de receber a mesma quantia daqui a um ano (Henriques, Carvalho, Branco & Bettencourt, 2004). Assim, foi aplicada a seguinte equação: $VAC = VC \times (1 + i)^{-t}$, em que VAC é o valor atualizado de custo, VC é o valor de custo no momento t , i é a taxa de juro real e t o número de anos. Relativamente à taxa de juro real o valor considerado foi 3% (B. Sá, comunicação pessoal, março 27, 2018). Como referimos, o VLA e o RBC foram os dois critérios de decisão tomados em consideração para avaliar o cenário 1 e auxiliar na tomada de decisão.

3.2.2. Cenário 2: Canídeo sujeito a prevenção e que contrai LCan aos 2 anos de idade

No cenário 2, como foi referido anteriormente, o canídeo inicia um método preventivo, mas contrai a doença aos 2 anos de idade, falecendo 5 anos depois com, aproximadamente, 7 anos de vida. Assim, foram contabilizados os custos de prevenção e de tratamento.

Visto que a prevalência desta afeção é bimodal, pois encontra-se com maior frequência em canídeos com idade inferior a 3 anos e com mais de 8 anos (Palatnik de-Sousa, 2012), a idade escolhida para os cálculos foi a de dois anos. Foram de novo considerados 3 valores de peso corporal de modo a abranger diversos tamanhos de cães: 10 kg, 20 kg e 30 kg.

Os tipos de prevenção aplicados ao animal são iguais ao do cenário 1. No entanto, estes apenas se encontram contabilizados durante os dois primeiros anos de vida no caso das

vacinas A ou B e para toda a vida do animal no que diz respeito às coleiras (Anexo 3). Assumindo que o cão é desparasitado pela primeira vez aos 2 meses e que usa o mesmo desparasitante durante 82 meses, irá usar durante a sua vida, em média, 13 coleiras. Uma vez mais, este valor foi calculado a partir de uma média ponderada relativa à proporção das respetivas coleiras compradas pelos tutores no HEV-FMV no ano de 2017 (Anexo 1), e, de seguida, uma média ponderada referente ao valor gasto em euros, de acordo com o número de anos que o canídeo usou as coleiras desparasitantes (Anexo 3). Os parâmetros incluídos no cálculo dos custos com o tratamento são iguais ao do cenário 1.

3.2.3. Cenário 3: Canídeo que contrai LCan sem nunca ter realizado um método de prevenção

No cenário 3, o canídeo não é alvo de qualquer tipo de prevenção contra a LCan e contrai a doença aos dois anos de idade (tal como no cenário 2), falecendo 5 anos depois com, aproximadamente, 7 anos de vida. Neste cenário foram somente contabilizados os custos com o tratamento do animal doente. Salienta-se que os parâmetros tidos em conta são os mesmos que os reportados no cenário 1 relativamente aos benefícios da análise benefício-custo. Tal como nos cenários anteriores, considerou-se os mesmos valores de peso corporal. A partir do momento em que inicia o tratamento, o animal usará também uma coleira desparasitante durante 60 meses com o objetivo de impedir a reinfeção do mesmo e também a disseminação da doença a outros possíveis hospedeiros. Neste período de tempo, o animal usará 10 coleiras. À semelhança dos cenários anteriores, este valor foi calculado a partir de uma média ponderada relativa à proporção das respetivas coleiras compradas pelos tutores no HEV-FMV no ano de 2017 (Anexo 1), e, de seguida, uma média ponderada referente ao valor gasto em euros, de acordo com o número de anos que o canídeo usou as coleiras desparasitantes (Anexo 4). Os parâmetros incluídos no cálculo dos custos com o tratamento são iguais ao do cenário 1.

4. Resultados e Discussão

4.1. Cenário 1: Prevenção com ausência de doença clínica

A aplicação da metodologia da ABC para averiguar a viabilidade económica associada à realização de prevenção a cães domésticos para prevenir a LCan, permitiu concluir que esta deverá ser realizada, quando se tem em conta os benefícios diretos e os benefícios intangíveis associados a tal prática. Os cálculos intermédios da média ponderada do número e do custo de coleiras desparasitantes usadas durante a vida do animal estão representados no Anexo 1 e 2 e a atualização dos respetivos custos no Anexo 5. Os custos atualizados da prevenção

durante a vida do animal estão representados na Tabela 7, encontrando-se os cálculos intermédios nos Anexos 5-7. Estes custos referem-se a dois tipos diferentes de prevenção, constatando-se que o uso de coleiras é menos dispendioso do que o uso exclusivo de vacinas. No entanto, há a salientar que ambos os métodos de prevenção deverão ser aplicados, voltaremos a este ponto mais adiante (capítulo 4). É de referir também que a diferença de custos entre vacinas analisadas neste estudo é muito próxima.

Tabela 7. Custos de prevenção atualizados para um animal de 10 anos de vida.

	Coleiras desparasitantes	Vacinas		Coleiras + Vacinas	
	Média ponderada ²	A	B	Coleiras+A	Coleiras+B
Custo Atualizado (€)	390,37	514,77	508,12	905,14	898,49

Na Tabela 8 encontram-se os valores atualizados do tratamento aplicado a um animal doente com LCan. O tratamento B (miltefosina e alopurinol) é menos dispendioso do que o tratamento A (antimoniato de meglumina e alopurinol) quando o peso do animal é de 20 kg ou 30 kg, registando-se o inverso quando o peso é de 10 kg. Contudo, a diferença observada entre tratamentos para o mesmo peso vivo é da mesma ordem de grandeza.

Para obtenção dos valores de tratamento da Tabela 8 foram calculados os custos de cada fármaco (Anexo 8), os custos de cada protocolo combinado (Anexo 9) e os custos de diagnóstico, seguimento e recidivas para cada protocolo (Anexo 10-12). O cálculo dos valores atualizados do tratamento realizado durante a vida do animal encontra-se no Anexo 13.

Os benefícios intangíveis da prática de prevenção durante a vida do animal (não calculados nesta análise), como aliás já referimos, derivam do facto do animal não contrair a doença e, desta forma, não vir a padecer da mesma, ter melhor qualidade de vida, maior longevidade, e o tutor não sofrer emocionalmente com a doença do seu animal de estimação e com a sua morte prematura. Para além destes, há a referir a não transmissão da doença a outros animais e ao Homem; desta forma, os valores da Tabela 8 seriam superiores aos apresentados.

² A média ponderada tem em conta o número de coleiras desparasitantes vendidas e o seu respetivo preço no HEV-FMV no ano de 2017.

Tabela 8. Valores atualizados dos benefícios de uma prática de prevenção 100% eficaz.

Peso (kg)	Tratamento A (€)	Tratamento B (€)
10	1558,77	1573,89
20	1868,30	1849,73
30	2177,83	2128,81

Na Tabela 9 encontram-se os valores líquidos atualizados a partir da ABC realizada. Como todos os valores são positivos (superiores a zero no VLA e superiores a 1 no caso do RBC que apresentamos na Tabela 10), estes indicam que os benefícios são superiores aos custos, verificando-se que a prevenção é sempre mais benéfica, devendo ser sempre realizada. A obtenção destes valores foi feita através da fórmula $\sum_t ((VB_t - VC_t) \times (1 + i)^{-t})$ usando os valores dos Anexos 5-7 e 13.

Tabela 9. Valores líquidos atualizados (valores em €).

		Prevenção					
		Peso (kg)	Coleiras	Vacina A	Vacina B	Coleira+ Vacina A	Coleira+ Vacina B
Tratamento A	10	1168,40	1044,00	1050,64	653,63	660,28	
	20	1477,93	1353,53	1360,17	963,16	969,81	
	30	1787,46	1663,06	1669,71	1272,69	1279,34	
Tratamento B	10	1183,52	1059,12	1065,76	668,75	675,40	
	20	1459,36	1334,96	1341,60	944,59	951,24	
	30	1738,44	1614,03	1620,68	1223,66	1230,31	

Os valores expressos na Tabela 9 representam o valor do VLA que um tutor tem ao optar pela realização dos diferentes tipos de prevenção. Analisando a mesma, constata-se que, dentro do mesmo peso, o valor do VLA é maior quando se utilizam apenas coleiras, sendo o valor máximo de VLA observado para um cão de 30 kg que optasse pelo tratamento A.

Por outro lado, o VLA é menor quando, dentro do mesmo peso, se escolhe a prevenção conjunta de coleiras com vacina A, sendo mínima para um cão de 10 kg que realize o tratamento A.

Os valores de VLA para cães de 30 kg são sempre maiores, comparativamente a cães de menor dimensão, pois o valor do benefício nesta situação é superior. Relembramos que os benefícios são aqui contabilizados como as perdas que se evitam (custo do tratamento), caso o animal ficasse doente e que será dado pelo valor do tratamento que se teria de realizar.

Na Tabela 10 estão referidos os valores do RBC, tendo sido calculados através do rácio dos valores expressos na Tabela 8 pelos valores expressos na Tabela 7.

Tabela 10. Rácios benefício-custo.

		Prevenção					
		Peso (kg)	Coleiras	Vacina A	Vacina B	Coleira+ Vacina A	Coleira+ Vacina B
Tratamento A	10	10	3,993	3,028	3,068	1,722	1,735
	20	20	4,786	3,629	3,677	2,064	2,079
	30	30	5,579	4,231	4,286	2,460	2,424
Tratamento B	10	10	4,032	3,057	3,097	1,739	1,752
	20	20	4,738	3,593	3,640	2,044	2,059
	30	30	5,453	4,135	4,190	2,352	2,369

Ao analisar a Tabela 10, verifica-se que o maior RBC, dentro do mesmo peso, está no uso de coleira como método de prevenção em qualquer um dos tratamentos, sendo máximo para um cão de 30 kg quando se opta pelo tratamento A. O menor valor do RBC, para o mesmo peso, é observado no uso de coleira juntamente com a vacina A, sendo mínimo para um canídeo com 10 kg que fique doente e seja submetido ao tratamento A. Devemos salientar que os dois critérios aqui calculados são sensíveis à taxa de actualização utilizada, pelo que sempre que possível se deve proceder a uma análise de sensibilidade alterando os valores da taxa utilizada. Neste trabalho esta análise não foi realizada

4.2. Cenário 2: Canídeo sujeito a prevenção e que contrai LCan aos 2 anos de idade

No Anexo 3 encontram-se os cálculos intermédios da média ponderada do número de coleiras e o seu respetivo custo durante o tempo de administração. Os custos atualizados dos diferentes tipos de prevenção encontram-se descritos na Tabela 11 (cálculos intermédios nos Anexos 6 e 15). A administração da vacina B apresenta um custo superior em comparação ao da vacina A, pois, apesar da administração da vacina apenas ser realizada nos primeiros dois anos de vida, a vacina B é administrada em 3 doses na primovacinação, o que contrasta a níveis económicos com a dose única da primovacinação da vacina A (cálculo intermédio no Anexo 16).

Tabela 11. Custos atualizados de um animal que faz prevenção e contrai a doença aos 2 anos de idade (valores em €).

Coleiras desparasitantes		Vacinas	
Média ponderada ³		Vacina A	Vacina B
N. °coleiras	Valor (€)	Primovacinação+1 Administração	
13	278,63	133,12	201,44

A Tabela 12 faz referência aos custos de acordo com os diferentes protocolos usados nas 3 diferentes opções de prevenção. Os cálculos auxiliares que permitiram chegar aos valores retratados na Tabela 12 encontram-se no Anexo 17.

Tabela 12. Custos atualizados totais de um animal que realiza a prevenção, mas contrai a doença aos 2 anos de idade (valores em €).

Peso animal (kg)	Tratamento A					Tratamento B				
	Coleira	Vacina A	Vacina B	Coleira+ Vacina A	Coleira+ Vacina B	Coleira	Vacina A	Vacina B	Coleira+ Vacina A	Coleira+ Vacina B
10	1629,32	1676,87	1745,19	1762,44	1830,76	1644,44	1691,99	1760,31	1777,56	1845,88
20	1938,85	1986,40	2054,72	2071,97	2140,29	1920,28	1967,81	2036,11	2053,40	2121,72
30	2248,38	2295,93	2364,25	2381,50	2440,83	2199,36	2246,90	2315,22	2332,48	2400,80

Ao analisar a Tabela 12 verifica-se que o tratamento B apresenta valores ligeiramente superiores aos do tratamento A para os cães de 10 kg, ocorrendo o inverso para cães com 20 ou 30 kg. Para além disso, quer individualmente quer em associação com a coleira desparasitante, a vacina A é sempre mais barata que a vacina B dentro do mesmo tratamento. Este facto poderá dever-se à periodicidade das aplicações das respetivas vacinas. Pois como já foi referido, estas diferem entre si no modo como é realizado a primo-vacinação.

4.3. Cenário 3: Canídeo que contrai LCan sem nunca ter realizado um método de prevenção

Neste cenário, o animal apenas inicia o uso de coleira desparasitante após diagnóstico de doença ativa, *i.e.* ao mesmo tempo que inicia o tratamento. Assim, os valores gastos com aplicação da coleira não são necessariamente custos de prevenção para o próprio animal, mas sim para os outros indivíduos, pois, o uso das coleiras desparasitantes tem como objetivo

³ Para a realização desta média ponderada, foi tido em conta o número total de coleiras utilizadas pelo animal durante a prevenção e durante o controlo da doença.

diminuir a possibilidade de transmissão, bem como a reinfeção por menor probabilidade de contacto com o vetor. No Anexo 4 está discriminada e calculada a média ponderada do número e respetivo custo das coleiras durante esse período. Na Tabela 13 encontra-se o valor atualizado gasto na compra de 10 coleiras desparasitantes durante 60 meses, estando os cálculos intermédios apresentados no Anexo 18.

Tabela 13. Custos atualizados do uso de coleiras desparasitantes aquando o início do tratamento para a LCan.

Coleiras desparasitantes	Média ponderada	
	Nº coleiras	Valor (€)
	10	208,08

Na Tabela 14 encontra-se o somatório dos valores atualizados dos diferentes tratamentos juntamente com a coleira desparasitante (cálculos intermédios no Anexo 14).

Tabela 14. Custos totais atualizados do tratamento com uso de coleira desparasitante.

Peso animal (kg)	Tratamento A (€)	Tratamento B (€)
10	1558,77	1573,89
20	1868,30	1849,73
30	2177,83	2128,81

À semelhança do que se verificou para o cenário 1, o tratamento A é menos dispendioso que o tratamento B para animais com 10 kg, verificando-se o inverso para canídeos com 20 ou 30 kg, embora a diferença entre os valores seja mínima (máximo de 49,02€ para um peso de 30 kg).

4.4. Comparação dos custos do cenário 2 com o cenário 3

Ao comparar os custos económicos que um tutor terá se optar pela prática de prevenção e o seu animal acabar por ficar doente no segundo ano de vida, com os custos que um tutor terá se não realizar qualquer tipo de prevenção e o seu animal contrair a doença no mesmo momento temporal, somos levados a concluir que o custo de tratamento de um animal associado a uma situação que nunca realizou qualquer prevenção, será mais baixo (Anexo 19). Contudo, há três aspetos a salientar:

- 1) O cenário 2 não tende a ocorrer com elevada frequência, pois, apesar dos métodos de prevenção não serem 100% eficazes, ainda têm uma eficácia considerável;

- 2) Ambos os cenários não têm em consideração custos adicionais (custos indiretos) que poderão vir a ocorrer de complicações clínicas secundárias ou cuidados clínicos terapêuticos, como, por exemplo, tratamento e manejo de insuficiência renal e/ou hepático, medicação de manejo da dor, internamentos hospitalares e custos inerentes, dietas alimentares específicas (renal, hepática), etc.;
- 3) Por fim, há também a salientar que esta comparação não tem em consideração os custos intangíveis. Um animal que contraia a doença, terá, à partida, um tempo de vida inferior e/ou uma menor qualidade de vida, que irá proporcionar um valor emocional ao tutor, dificilmente quantificado em valores económicos. Para além destes, existe também a possibilidade de transmissão do agente a outros hospedeiros suscetíveis, colocando nomeadamente, em causa a segurança e saúde pública do ser humano.

Capítulo IV – Conclusões e perspectivas futuras

Esta dissertação retrata uma nova temática que se encontra em expansão em medicina veterinária. Podemos dizer que a farmacoeconomia é uma disciplina muito útil no dia a dia do MV, pois, para além de todos os fatores clínicos que um MV tem em conta nas suas decisões clínicas, esta disciplina disponibiliza novas informações, permitindo, uma melhor e mais consciente tomada de decisões no que diz respeito à escolha dos produtos e serviços médico veterinários realizados na prática clínica.

A LCan é uma doença endémica em Portugal continental e existe uma grande variedade de ferramentas preventivas, incluindo diversas coleiras desparasitantes, unções punctiformes e mais recentemente vacinas. Perante tanta variedade, torna-se complexo para o próprio MV tomar uma decisão aquando da prevenção. Este trabalho demonstra em termos económicos qual a opção mais barata para 3 diferentes pesos vivos de canídeos. No geral, os custos tidos com a prevenção são sempre inferiores aos custos com o tratamento no caso de um animal não vir a contrair a doença. Se o MV/tutor preferirem fazer uma proteção combinada de coleira desparasitante com uma vacina, o tutor irá ter um custo superior do que somente com o uso de um tipo de prevenção, pois estará a combinar dois métodos. No entanto, há a referir que assim, estão a assegurar duplamente a segurança do animal de estimação em questão. Deste modo, a decisão deve ser ponderada entre o MV e o tutor do canídeo. Para que se possa escolher a melhor opção de prevenção, vários aspetos devem ser tidos em consideração, nomeadamente, a preferência do tutor, pois vai influenciar a *compliance* (aceitação do método preventivo), o estilo de vida do canídeo (se vive no exterior ou interior, a região geográfica onde vive, entre outros), os efeitos secundários da aplicação do mesmo e, por fim, o seu valor económico.

Este estudo demonstrou que o método de prevenção mais económico é o uso de coleiras. Há também a salientar, o seu papel importante, quer a nível da proteção do canídeo não infetado, quer a nível do controlo da doença, pois, estas não só impedem a transmissão da doença a outros hospedeiros, como também a reinfeção do mesmo canídeo. Assim, este método de prevenção não deve ser menosprezado, e, visto ser aquele que apresenta menos efeitos secundários com o seu uso, ter uma eficiência bastante elevada e capacidade de proteção contra outros vetores transmissores de outros agentes patogénicos deveria ser sempre utilizada ao longo da vida do animal. É de salientar que uma das limitações deste estudo está relacionado com a eficácia das prevenções, que foram consideradas como sendo de 100%.

De acordo com os resultados obtidos nos cenários 2 e 3 e numa análise simplista, a prática da prevenção leva-nos a considerar que esta não compensa, pois, a diferença monetária entre prevenção e não prevenção de um animal que contrai a doença aos dois anos, varia entre um valor mínimo de 70,55€ e um valor máximo de 272€ (Anexo 18). Contudo, estes valores não

traduzem os benefícios intangíveis que podem advir da prática de prevenção, nem o facto de esta ter uma eficácia tal que leve a que o animal não contraia a doença no seu segundo ano de vida. Há assim sempre que realizar um *trade off*, tendo em conta o risco de o animal contrair LCan, entre a totalidade dos custos e dos benefícios associados à prevenção.

Relativamente aos custos com o tratamento, pode-se concluir que o tratamento A (protocolo com antimoniato de meglumina e alopurinol) apresenta custos mais baixos para animais com 10 kg de peso vivo, enquanto que o tratamento B (protocolo miltefosina e alopurinol) tem valores mais baixos quando administrados a animais com 20 e 30 kg comparativamente ao tratamento anterior, porém os valores encontram-se na mesma ordem de grandeza. Novamente, não é tido em consideração a eficácia do tratamento.

No decorrer da análise económica foram surgindo novas questões de investigação, que eventualmente poderão vir a ser respondidas no futuro:

1. Dado que este estudo não tem em conta a eficácia de cada um dos métodos de prevenção e dos protocolos de tratamento, seria interessante realizar uma análise económica que a tivesse em consideração, *i.e.* acompanhar um grupo de animais ao longo da sua vida e verificar a eficácia dos diferentes tipos de prevenção aplicados, bem como, os custos económicos daí decorrentes. Relativamente à realização do tratamento, ter em conta qual o protocolo terapêutico adoptado, acompanhar os animais desde o início do tratamento, avaliando a sua evolução clínica, e apontar a resposta ao tratamento e o número de recidivas, contabilizando os diferentes tipos de custos implicados no mesmo período de tempo;
2. Seria de igual forma interessante realizar o estudo em áreas geográficas específicas, como por exemplo regiões endémicas da doença, onde se analise a frequência da doença e verifique qual é o protocolo mais usado e os respetivos resultados clínicos;
3. Nas áreas geográficas endémicas, de acordo com os dados obtidos, informar os colegas MV e sensibilizar os tutores dos animais a realizar práticas preventivas atempadamente;
4. A sensibilização à população pode ser realizada através de panfletos distribuídos durante a consulta MV, pósteres afixados em hospitais e clínicas médico veterinárias, farmácias, hospitais de medicina humana, anúncios televisivos ou até palestras realizadas em escolas.

Bibliografia

- Abranches, P., Silva-Pereira, M.C., Conceição-Silva, F.M., Santos-Gomes, G.M. & Janz, J.G. (1991). Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. *Journal Parasitology*, 77,557-561.
- Adams, E.R., Jacquet, D., Schoone, G., Gidwani, K., Boelaert, M. & Cunningham, J. (2012). Leishmaniasis direct agglutination test: using pictorials as training materials to reduce inter-reader variability and improve accuracy. *PLoS Neglected Tropical Disease*, 6(12): e1946. doi:10.1371/journal.pntd.0001946.
- Adams, V. J. Evans, K. M., Sampson, J. & Wood, J.L.N. (2010). Methods and mortality results of a health survey of purebred dogs in the UK. *Journal of Small Animal Practice*. 51, 512–524.
- Afonso, M.O. & Alves-Pires, C. (2008). Bioecologia dos vectores. In: G. Santos-Gomes e I.P. Fonseca (Eds.) *Leishmaniose Canina* (pp.27-40). Lisboa: Chaves Ferreira - Publicações S.A.
- Agut, A., Corzo, N., Murciano, J., Laedo, F.G. & Soler, M. (2003). Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Vet. Rec.* 153, 648–652
- Akhoundi M., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J., Marty, P, Delaunay, P. & Sereno, D. (2016). A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10, 1-40.
- Alam, M.Z., Yasin, G., Kato, H., Sakurai, T. & Katakura, K. (2013). PCR-based detection of *Leishmania donovani* DNA in a stray dog from visceral leishmaniasis endemic focus in Bangladesh. *J. Vet. Med. Sci.* 75, 75–78.
- Albuquerque, A., Campino, L., Cardoso, L. & Cortes, S. (2017). Evaluation of four molecular methods to detect *Leishmania* infection in dogs. *Parasite and Vectors*, 10, 1-5.
- Alexandre-Pires, G. & Correia, J.J. (2008). Patogenia e lesões da Leishmaniose canina. In G. Santos-Gomes & I. P. da Fonseca. *Leishmaniose Canina* (pp.53-68). Lisboa: Chaves Ferreira - Publicações S.A.
- Alvar, J., Aparicio, P., Aseffa, A., Den Boer, M., Cañavate, C., Dedet, J-P., Gradoni, L., Horst, R.T., López-Vélez, R. & Moreno, J. (2008) The relationship between leishmaniasis and AIDS: the second 10 years. *Clin. Microbiol. Vet.*, 21, 334–359.
- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., Moreno, J. & Nieto, J. (2004). Canine leishmaniasis. *Adv. Parasitol.*, 57,1–88.
- Álvarez, J. (2001). Estudios de farmacoeconomía: ¿por qué, cómo, cuándo y para qué? *Medifam*, 11,147-155. Acedido em jan. 17, 2018. Disponível em: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1131-57682001000300004
- Antoniou, M., Gramiccia, M., Molina, R., Dvorak, V. & Volf, P. (2013). The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. *Euro Surveillance*, 18, (30):pii=20540.
- Antoniou, M., Haralambous, C., Mazeris, A., Pralong, F., Dedet, J.P. & Soteriadou, K., (2008). *Leishmania donovani* leishmaniasis in Cyprus. *Lancet Infect. Dis.* 8, 6–7.

- Arede, C. A., Bonizio, R. C. & de Freitas, O. (2011). Pharmacoeconomy: an indispensable tool for the rationalization of health costs. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 47. Acedido a 17, Jan, 2018, disponível em: <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-82502011000200004>
- Aschar, M., de Oliveira, E. T., Laurenti, M. D., Marcondes, M., Tolezano, J.E., Hiramoto, R. M., Corbett, C. E. & da Matta, V. L. R. (2016). Value of the oral swab for the molecular diagnosis of dogs in different stages of infection with *Leishmania infantum*. *Veterinary Parasitology*, 225, 108-113.
- Avillez, F., Estácio, F. & Neves, M.C. (1987). Análise de projectos agrícolas no contexto da política agrícola comum. Banco Pinto & Sotto Mayor.
- Ballart, C., Alcover, M.M., Portús, M., Gállego, M. (2012). Is leishmaniasis widespread in Spain? First data on canine leishmaniasis in the province of Lleida, Catalonia, northeast Spain. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 106, 134-136.
- Baneth, G. & Solano-Gallego, L. (2012) Leishmaniasis. In Greene C. E. (Ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. (4th ed). Elsevier, USA, ISBN 978-1-455-75470-0, pp. 734-749.
- Baneth, G. (2006). Leishmaniasis. In C. E. Greene (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3rd edition). (pp. 685-698). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Baneth, G., Koutinas, A.F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P. & Ferrer, L., (2008). Canine leishmaniasis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol*, 24, 324–330.
- Baneth, G. & Shaw, S.E., (2002). Chemotherapy of canine leishmaniasis. *Vet. Parasitol*, 106, 315–324.
- Barbosa, S.D.N. (2011). A leishmaniose canina e os condicionalismos determinados pelas respectivas alterações renais. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de medicina veterinária - Universidade Técnica de Lisboa.
- Bates, P.A. (2007). Transmission of *Leishmania* metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. *International Journal for Parasitology*, 37 (10), 1097–1106. Acedido em set. 26, 2012, disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2675784/>
- Berman, J.D., (2005). Miltefosine to treat leishmaniasis. *Expert Opin. Pharmacother*, 6, 1381–1388.
- Beugnet, F., Halos, L. & Guillot, J. (2018). Internal non-gastrointestinal parasitosis – Disseminated parasitoses. *Textbook of clinical parasitology in dogs and cats*. (pp. 166-174).
- Bindseil, E., Larsen, S., Kristensen, H.M., Jørgensen, J.B. & Henriksen, S.A., (1985). Imported canine visceral leishmaniasis in Denmark. *Nord. Vet. Med.* 37,16–21.
- Bisson, M. P. (sd). Farmacoeconomia. Acedido em jan, 31, 2018, disponível em: <https://pt.slideshare.net/polacow/farmacoeconomia-conceitos-bsicos>
- Boggiatto, P.M., Gibson-Corley, K.N., Metz, K., Gallup, J.M., Hostetter, J.M., Mullin, K. & Petersen, C.A. (2011). Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a

- means for continued disease Incidence in north America. *PLoS Negl Trop Dis*, 5(4), 1-6.
- Bola de pêlo, (sd). Planos de Saúde – Mais vida para o seu amigo. Acedido em jan, 5, 2018, disponível em: <https://www.boladepelo.pt/planos-de-saude/>
- Bongiorno, G. Papparcone, R, Manzillo, V. F., Oliva, G., Cuisinier, A-M. & Gradoni, L. (2013). Vaccination with LiESP/QA-21(Can- iLeish®) reduces the intensity of infection in *Phlebotomus perniciosus* fed on *Leishmania infantum* infected dogs: a preliminary xenodiagnosis study. *Vet. Parasitol.* 197, 691–695.
- Branco, S.I.M. (2011). *Estudo dos flebótomos (Diptera, Phlebotominae), vectores de Leishmania sp. no Concelho de Torres Novas, Portugal*. Dissertação de Mestrado em Parasitologia Médica. Lisboa: Instituto de Higiene e Medicina Tropical - Universidade Nova de Lisboa
- Brazil, R.P., Passos, W.L., Brazil, B.G., Temeljkovitch, M. & Andrade-Filho J.D. (2010). Diptera, Psychodidae, Phlebotominae Rondani, 1840: Range extension and new records from lowland Bolivia. *Check List*, 6 (4): 587-588.
- Brianti, E., Gaglio, G., Napoli, E., Falsone, L., Prudente, C., Basano, F. S., Latrofa, M. S, Tarallo, V. D., Dantas-Torres, F., Capelli, G., Stanneck, D., Giannetto & Otranto, D. (2014) Efficacy of a slow-release imidacloprid (10%)/flumethrin (4.5%) collar for the prevention of canine leishmaniosis. *Parasit. Vectors* 7, 327–339.
- Bronson, R. T. (1982) Variation in age at death of dogs of different sexes and breeds. *American Journal of Veterinary Research* 43, 2057-2059.
- Burns, K., (2011). Some incomes rise, but others fall. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 238, 669-671.
- Calheiros, J. M., Casimiro, E., Almeida, A. P. G., Alves-Pires, C., Collares-Pereira, M., Cardoso, M. F., Santos-Silva, M., Afonso, M. O. & Sousa, R. (2006). 6.-Saúde Humana e Implicações para o Turismo. Alterações Climáticas em Portugal: Cenários, Impactos e Medidas de Adaptação – SIAM II. F D Sants e Miranda, Ed Gradiva, Lisboa, Portugal, 233-270. ISBN 989-616-081-3.
- Campillo, M.C., Vazquez, F.A.R., Fernandez, A.R.M., Acedo, M.C.S., Rodriguez, S.H., Lopez-Cozar, I.N., Baños, P.D., Romerom H.Q. & Varela, M.C. (1999). *Parasitología Veterinaria*. (pp.651-665). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- Campino, L. & Maia, C. (2010) Epidemiologia das leishmanioses em Portugal – Artigo de revisão. *Acta Med Port*, 23, 859–864.
- Campino, L. & Maia, C. (2013). The role of reservoirs: canine leishmaniasis. In: Ponte-Sucre, A., Padron-Nieves, M., Diaz, E., editors. Drug resistance in *Leishmania* parasites - consequences, molecular mechanism and possible treatments (pp45-64). Vienna: Springer Verlag.
- Campino, L. (2013b). Soluções para o controlo da Leishmaniose Canina. *Veterinária Atual*, 61, 46.
- Campino, L., Pratlong, F., Abranches, P., Rioux, J.A., Santos-Gomes, G., Alves-Pires, C., Cortes, S., Ramada, J., Cristovão, J.M., Afonso, M.O., Dedet, J.P. (2006). Leishmaniasis in Portugal: enzyme polymorphism of *Leishmania infantum* based on the identification of 213 strains. *Tropical Medicine & International Health*, 11.

- Campos, R., Santos, M., Tunon, G., Cunha, L., Magalhães, L., Moraes, J., Ramalho, D., Lima, S., Pacheco, J. A., Lipscomb, M., de Jesus, A. R. & de Almeida, R. P. (2017). Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil. *Geospatial Health*, 12. DOI: 10.4081/gh.2017.503
- Cardoso, L., Schallig, H.D., Neto, F., Kroon, N. & Rodrigues, M. (2004). Serological survey of *Leishmania* infection in dogs from the municipality of Peso da Regua (Alto Douro, Portugal) using the direct agglutination test (DAT) and fast agglutination screening test (FAST). *Acta Trop*, 91(2), 95-100.
- Carlos, I.C.C. Siqueira, R.L.C.L., Pessoa, M.T.F.C. & Almeida, R.F.C. (2001). *Farmacoeconomia: guia breve*. Fortaleza: Secretaria da Saúde do Estado do Ceará. 56.
- Carson, C., Quinnell, R. J., Holden, J., Garcez, L. M., Deborggraeve, S. & Courtenay, O. (2010). Comparison of *Leishmania* OligoC-Test PCR with conventional and real-time PCR for Diagnosis of canine *Leishmania* infection. *J. Clin. Microbiol.* 48: 3325±3330. <https://doi.org/10.1128/JCM.02331-09> PMID: 20631112
- Carvalho, D., Oliveira, T. M.F.S., Baldani, C. D. & Machado, R. Z., (2009). An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of IgM antibodies against *Leishmania chagasi* in dogs. *Pesq. Vet. Bras.*, 29,120-124.
- Casimiro, E. & Calheiros, J.M., (2002). Human health. In: F.D. Santos, K. Forbes. e R. Moita, ed. *Climate change in Portugal*. Scenarios, Impacts and Adaptation Measures- SIAM Project. Gradiva, Lisbon: 241-300.
- Casimiro, E., Calheiros, J., Santos, F.D. & Kovats, S., (2006). National assessment of Human health effects of climate change in Portugal: approach and key findings. *Environmental Health Perspectives*, 114 (12), 1950-1956.
- Castanheira, A.R.F. (2013). *A farmacoeconomia aplicada à medicina veterinária: análise de custos comparada entre o tratamento e a vacinação da Leishmaniose canina*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade de Lisboa.
- Chamaillé, L., Tran, A., Meunier, A., Bourdoiseau, G., Ready, P. & Dedet, J.P. (2010). Environmental risk mapping of canine leishmaniasis in France. *Parasit Vectors*, 3, 1-8.
- Ciaramella, P. Pelagalli, A., Cotese, L., Pero, M. E., Corona, M., Lombardi, P., Avallone, L. & Persechino, A. (2005) Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet. J.* 169, 465–467.
- Cortes, S., Vaz, Y., Neves, R., Maia, C., Cardoso, L. & Campino, L. (2012). Risk factors for canine leishmaniasis in an endemic Mediterranean region. *Vet. Parasito.*, 189,189–96.
- Cortese, L., Annunziatella, M., Palatucci, A.T., Lanzilli, S., Rubino, V., Di Cerbo, A., Centenaro, S., Guidetti, G., Canello, S. & Terrazzano, G. (2015). An immune-modulating diet increases the regulatory T cells and reduces T helper 1 inflammatory response in Leishmaniosis affected dogs treated with standard therapy. *BMC Vet. Res*, 11, 1-11.
- 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.

- Da Silva, E.A., Pinto, C.G., Sampaio, C., Pereira, J.A., Drummond, M., Trindade, R. (1998). Infarmed-Orientações metodológicas para estudos de avaliação económica de medicamentos. Acedido em jan, 28, 2018, disponível em: https://www.ispor.org/PEguidelines/source/Orien_Metodologicas_EAEM.pdf
- Dantas-Torres, F. (2011). Ticks as vectors of *Leishmania* parasites. *Trends Parasitol*, 27, (4), 155-159.
- Dantas-Torres, F., Lorusso, V., Testini, G., de Paiva-Cavalcanti, M., Figueredo, L. A., Stanneck, D., Mencke, N., Brandão-Filho, S.P., Alves, L.C. & Otranto, D. (2010). Detection of *Leishmania infantum* in *Rhipicephalus sanguineus* ticks from Brazil and Italy. *Parasitol. Res.*; 106: 857–60. doi: 10.1007/s00436-010-1722-4 .
- Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V.M., de Paiva-Cavalcanti, M. & Otranto, D. (2012). Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: Unveiled similarities and differences. *Trends Parasitol*. Elsevier;28 531–538.
- David, J.R., Stamm, L. M., Bezerra, H. S., Souza, R. N., Killick-Kendrick, R. & Lima, J. W. O. (2001). Deltamethrin-impregnated dog collars have a potente anti-feeding and insecticidal effect on *Lutzomyia longipalpis* and *Lutzomyia migonei*. *Mem. Inst. OswaldoCruz*, 96, 839–847.
- de Freitas, E., Melo, M.N., da Costa-Val, A.P. & Michalick, M.S. (2006). Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. *Vet. Parasitol.*, 137,159-167.
- de Oliveira, V.V.G., Alves, L.C., & Junior, V.A. S. (2015). Transmission routes of visceral leishmaniasis in mammals. *Ciência Rural*, 45, 1622-1628.
- Del Rio, L., Chitimia, L., Cubas, A., Victoriano, I., de la Rúa, P., Gerrikagoitia, X., Barral, M., Muñoz-García, C.I., Goyena, E., García-Martínez, D., Fisa, R., Riera, C., Murcia, L., Segovia, M., Berriatua, E. & (2014). Evidence forwidespread *Leishmania infantum* infection among wild carnivores in *L. infantum* periendemic northern Spain. *Prev. Vet. Med.* 113, 430–435.
- Dereure, J., Vanwanbeke, S.O., Malé, P., Martinez, S., Pratlong, F., Balard, Y. & Dedet, J.P. (2009). The potential effects of global warming on changes in canine leishmaniasis in a focus outsider the classical área of the disease in Southern France. *Vector Borne Zoonotic Dis.*, 9, 687-694.
- DeSanVicente-Célis, Z., Salazar, J., Pineda-Tamayo, R. & Anaya, J. (2011). Sobre la necesidad de la farmacoeconomía. Comenzar por los principios. *Revista Colombiana de Reumatología*, 18 (3), 187-202. Acedido em jan.16, 2018, disponível em: www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0121-81232011000300005
- Díaz, M., Andrés, J. & Carrera-Huesoc, F. (2011). Aplicación de la farmacoeconomía en la gestión clínica. *Farmacia Hospitalaria*, 35 (2), 18-24. Acedido em jan. 28, 2018, disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1130-6343\(11\)70018-6](https://doi.org/10.1016/S1130-6343(11)70018-6)
- Dincer, E., Gargari, S., Ozkul, A. & Ergunay, K. (2015). Potential animal reservoirs of Toscana virus and coinfections with *Leishmania infantum* in Turkey. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 92,690–697.
- Drummond, M.F., O'brien, B., Stoddart, G.L. & Torrance, G.W. (1997). Methods for the economic evaluation of health care programmes. 2.ed. New York: Oxford University Press, 181.

- Dujardin, J.C., Campino, L., Cañavate, C., Dedet, J.P., Gradoni, L., Soteriadou, K., Mazeris, A., Ozbek, Y. & Boelaert, M. (2008). Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerg. Infect. Diseases*, 14, 1013–1018.
- Dumitrache, M.O., Nachum-Biala, Y., Gilad, M., Mircean, V., Cazan, C. D., Mihalca, A.D. & Baneth, G. (2016). The quest for canine leishmaniasis in Romania: the presence of an autochthonous focus with subclinical infections in an area where disease occurred. *Parasite and Vectors*, 9, 1-7. DOI 10.1186/s13071-016-1583-5
- Dumont, P., Fankhauser, B., Bouhsira, E., Liénard, E., Jacquiet, P., Beugnet, F. & Franc, M. (2015). Repellent and insecticidal efficacy of a new combination of fipronil and permethrin against the main vector of canine leishmaniasis in Europe (*Phlebotomus perniciosus*). *Parasit. Vectors*, 8:49, 1-6.
- Duprey, Z.H., Steurer, F.J., Rooney, J.A., Kirchhoff, L.V., Jackson, J.E., Rowton, E.D. & Schantz, P.M. (2006). Canine visceral leishmaniasis, United States and Canada, 2000-2003. *Emerg. Infect. Dis.*, 12(3):440-446.
- EMA, 2011. European Medicines Agency. Scientific discussion. Acedido em jan, 25, 2018, disponível em: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/EPAR_-_Public_assessment_report/veterinary/002232/WC500104953.pdf
- ESCCAP, (2012). Prevention and Control of vector-borne diseases in ESCAAP, *ESCAAP Guideline 05. Control of Vector-Borne Diseases in Dogs and Cats*. (2nd ed). (8-14).
- Fernández-Pérez, F. J., Gómez- Muñoz, M. T., Méndez, S. & Alunda, J. M. (2003). *Leishmania*-specific lymphoproliferative responses and IgG1/IgG2 immunodetection patterns by Western blot in asymptomatic, symptomatic and treated dogs. *Acta trop.* 86, 83-91.
- Ferrer, L. (1999). Leishmaniosis canina: actualización en diagnóstico y terapêutica. *Actas do Congresso de Neurologia e Dermatologia em animais de companhia*; 1-7, 74-82.
- Ferrer, L. (2011). Treatment was successful... What next? In Proceedings of Southern European Veterinary Conference, Symposium: Advanced management of Canine Leishmaniosis, Barcelona, Spain, pp. 22-23.
- Franc, M., Liénard, E., Jacquiet, P., Bonneau, S., Navarro, C. & Bouhsira, E. (2015) Efficacy of a new combination of fipronil and permethrin (Effitix1) against *Phlebotomus perniciosus* in dogs. *Vet. Parasitol.* 212, 156–160.
- Franco, A.O., Davies, C.R., Mylne, A., Dedet, J.-P., Gállego, M., Ballart, C., Gramiccia, M., Gradoni, L., Molina, R., Gálvez, R., Morillas-Márquez, F., Barón-López, S., Pires, C.A., Afonso, M.O., Ready, P.D. & Cox, J., (2011). Predicting the distribution of canine leishmaniasis in western Europe based on environmental variables. *Parasitology*, 138, 1878–1891.
- Frenais, R., Flochlay-Sigognault, A. & Milon-Harnois, G. (2014) Anti-feeding efficacy of Activyl® Tick Plus topical treatment of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Parasit. Vectors*, 7, 217–223.
- Freund, D.A. & Dittus, R.S. (1992). Principles of pharmacoeconomic analysis of drug therapy. *Pharmacoeconomics*, 1, 20-32.
- Galati, E.A.B. (1995). Phylogenetic systematics of Phlebotominae (Diptera, Psychodidae) with emphasis on American groups. *Bol. Dir. Malariol. Saneam. Amb.* 35, 133-142.

- Galati, E.A.B., (2003). Classificação de phlebotominae. In: E.F. Rangel e R. Lainson ed. Flebotomíneos do Brasil. Fiocruz, Rio de Janeiro: 23-51.
- Goldstein, R.E., Brovida, C., Fernández-del Palacio, M.J., Littman, M.P., Polzin, D.J., Zatelli, A. & Cowgill, L. D. (2013). Consensus recommendations for treatment for dogs with serology positive glomerular disease. *J. Vet. Intern. Med*, 27, 60-66.
- Gómez-Ochoa, P., Castillo, J. A., Gascón, M., Zarate, J.J., Alvarez, F. & Couto C.G. (2009). Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: a clinical trial. *Vet. J*, 179, 259–263.
- Gramiccia, M. (2011). Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. *Veterinary Parasitology*, 181 (1), 23-30.
- Gramiccia, M., Gradoni, L. (2005). The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. *Int. J. Parasitol.* 35, 1169-1180.
- Greene, C.E. (2012). Infectious diseases of the dog and cat. (4th edition). (pp.735-749). Philadelphia: Saunders Elsevier.
- Guernaoui, S., Boussaa. S., Pesson. B., Boumezzough, A. (2006). Nocturnal activity of phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) in a cutaneous leishmaniasis focus in Chichaoua, Morocco. *Parasitol. Res.*98, 184-188.
- Guichon, P.T., Jim, G.K., Booker, C.W., Schunicht, O.C., Wildman, B.K. & Brown, J.R. (2000). Relative cost-effectiveness of treatment of feedlot calves with ivermectin versus treatment with a combination of fenbendazole, permethrin, and fenthion. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216, 1965-1969.
- Halbig, P., Hodjati, M. H., Mazloumi-Gavgani, A. S., Mohite H. & Davies, C.R. (2000). Further evidence that deltamethrin-impregnated collars protect domestic dogs from sandfly bites. *Med. Vet. Entomol.* 14, 223–226.
- Harhay, M.O., Olliaro, P.L., Costa, L.D., Costa, C.H.N, (2011). Urban parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in Parasitology*, 27, 403-409.
- Haycox, A., & Baguet, A. (2005). "Farmacoeconomía" [versión en español], 1a ed., Elsevier España, Madrid, 127-140.
- Helhazar, M. F. (2012). *Avaliação do papel dos roedores das espécies Mus musculus e Rattus norvegicus como hospedeiros reservatórios de Leishmania infantum nos concelhos de Sesimbra e Sintra*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina Veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Helhazar, M., Leitão, J., Duarte, A., Tavares, L. & da Fonseca, I.P., (2013). Natural infection of synanthropic rodent species *Mus musculus* and *Rattus norvegicus* by *Leishmania infantum* in Sesimbra and Sintra-Portugal. *Parasites Vectors* 6, 88.
- Henriques, D., Carvalho, M. L. S., Branco, M. C. & Bettencourt, E. M., (2004). Análise económica da política de saúde animal. In *Economia da Saúde e da Produção Animal*. Lisboa, Edições Silabo.
- Herrera, M. C. & Lorenzo, I. S. (2011). La farmacoeconomía: Debe ser de interés para evaluar la eficiencia en la toma de decisiones? *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 40, 54-66.

- Hirve, S., Boelaert, M., Matlashewski, G., Mondal, D., Arana, B., Kroeger, A. & Olliaro, P. (2016). Transmission Dynamics of Visceral Leishmaniasis in the Indian Subcontinent - A Systematic Literature Review. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 10(8): e0004896. doi: 10.1371/journal.pntd.0004896
- ISPOR, Pharmacoeconomic guidelines around the world. (2018) Acedido em jan.28, 2018, disponível em: <https://www.ispor.org/PEguidelines/index.asp>
- Kamhawi, S. (2006). Phlebotomine sand flies and Leishmania parasites: friends or foes? *Trends Parasitol.* 22, 339-445.
- Killick-Kendrick, R. Killick-Kendrick, M., Focheux, C., Dereure, J., Puech, M-P. & Cadiergues, M. C., (1997). Protection of dogs from bites of phlebotomine sandflies by deltamethrin collars for control of canine leishmaniasis. *Med. Vet.Entomol.* 11, 105–111.
- Killick-Kendrick, R., (1999). The biology and control of phlebotomine sand flies. *Clin. Dermatol.*, 17 (3): 279-289.
- Koutinas, A.F., Polizopoulou, Z.S., Saridomichelakis, M. N., Argyriadis, D., Fytianoi, 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.
- Kumar, S. & Baldi, A. (2013). Pharmacoeconomics: Principles, Methods and Economic Evaluation of Drug Therapies. *Ph. Tech. Med.*, 2, 362-369.
- Lèger, N. & Depaquit, J. (1999). Les phlébotomes. In J.P. Dedet (Ed.), *Les leishmanioses*, (pp. 89-108). Paris: Ellipes. ISBN 2-7298-4820-7.
- Léger, N. & Depaquit, J. (2001). Les phlebotomes et leur role dans la transmission des leishmanioses. *Rev. Fr. Lab.*, 338: 41-48
LeishVet, (2017). *LeishVet Guidelines. Practical management of canine & feline leishmaniosis*, Madrid: LeishVet.
- Leonard, R., Hardy, J., van Tienhoven, G., Houston, S., Simmonds, P., David, M. & Mansi, J., (2001). Randomized, double-blind, placebo-controlled, multicenter trial of 6% miltefosine solution, a topical chemotherapy in cutaneous metastases from breast cancer. *J. Clin. Oncol.* 19, 4150–4159.
- Liénard, E., Bouhsira, E., Jacquiet, P., Warin, S. Kaltsatos, V. & Franc, M. (2013). Efficacy of dinotefuran, permethrin and pyriproxyfen combination spot-on on dogs against *Phlebotomus perniciosus* and *Ctenocephalides canis*. *Parasitol. Res.* 112, 3799–3805.
- Maia, C., Altet, L., Serrano, L., Cristóvão, J. M., Tabar, M.D, Francino, O., Cardoso, L., Campino, L. & Roura, X. (2016). Molecular detection of *Leishmania infantum*, filariae and *Wolbachia* spp. in dogs from southern Portugal. *Parasit Vectors*, 9, 1-6.
- Maia, C., Alwassouf, S., Cristóvão, J.M., Ayhan, N., Pereira, A., Charrel, R.N. & Campino, L. (2017). Serological association between *Leishmania infantum* and sand fly fever Sicilian (but not Toscana) virus in sheltered dogs from southern Portugal. *Parasites & Vectors*, 10:92, DOI 10.1186/s13071-017-2023-
- Maia, C. & Cardoso, L. (2015). Spread of *Leishmania infantum* in Europe with dog travelling. *Vet. Parasitol.* 30,2-11.

- Maia, C., Maurício, I., Campino, L., Cardoso, L., Madeira de Carvalho, L., Afonso, O., Neves, R. & Vila de Brito., T. (2011). Primeiro relatório regular da LEISHnet: ONLeish – Observatório Nacional das Leishmanioses. *Veterinary Medicine*, 22–26.
- Manna, L., Corso, R., Galiero, G., Cerrone, A., Muzj, P. & Gravino, A.E., (2015). Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasit. Vectors*, 8: 289, 1-9.
- Manna, L., Reale, S., Vitale, F., Caracappa, S., Pavone, L. M., Della Morte, R., Cringoli, G., Staiano, N. & Gravino, A. E. (2004). Comparisson of diferente tissues samplíc for PCR-based diagnosis and follow-up of canine visceral leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, 125, 251-262.
- Marques, A.C.F. (2008). O Medicamento Veterinário em Portugal: do registo à comercialização. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Faculdade de Medicina veterinária. Universidade Técnica de Lisboa.
- Marques, C.S., Ramilo, D., Meireles, J., Duarte, A., Gomes, G.S., Tavares, L., Fonseca, I.P. (2013). Detection of *Leishmania* DNA in *Culicoides* (DIPTERA: CERATOPOGONIDAE) collected in Leishmaniosis endemic regions of Portugal. *Worldleish 5: Fifth World Congress On Leishmaniasis, Porto Galinhas, Pernambuco, Brazil, 13-17 de maio 2013*, O 220.
- Maroli, M., Gradoni, L., Oliva, G., Castagnaro, M., Crotti, A., Lubas, G., Paltrinieri, S., Roura, X., Zini, E. & Zatelli, A. (2010). Guidelines for prevention of leishmaniasis in dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 236 (11), 1200-1206.
- Martin, V., Vouldoukis, I., Moreno, J., McGahie, D, Gueguen, S. & Cuisinier, A. M. (2014) The protective immune response produced in dogs after primary vaccination with the LiESP/QA-21 vaccine (CaniLeish®) remains effective against an experimental challenge one year later. *Veterinary Research*, 45:69, 1-15.
- Mattin, M.J., Solano-Gallego, L., Dhollander, S., Afonso, A. & Brodbelt, D.C. (2014). The frequency and distribution of canine leishmaniasis diagnosed by veterinary practitioners in Europe. *Vet. J.* 200, 410–419.
- Meireles, J.A.F.S. (2008). Terapêutica e profilaxia da Leishmaniose canina. In G. Santos-Gomes & I. P. da Fonseca. *Leishmaniose Canina*. (pp.93-104). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Meltzer, M. (2001). Introduction to health economics for physicians. *The Lancet*; 358. Acedido em abr. 2, 2008. Disponível em: <http://www.ppge.ufrgs.br/ats/disciplinas/1/meltzer-2001.pdf>
- Meng, M. C. (2008). Farmacoeconomia- Um instrumento para a tomada de decisão. Monografia de conclusão do Curso de Especialização em Administração Industrial da Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Acedido em jan, 3, 2018, disponível em: http://www.vanzolini.org.br/download/TCC_Miriam%20Meng%209,0.pdf
- Mettler, M., Grimm, F., Naucke, T.J., Maasjost, C. & Deplazes, P. (2005). Canine Leishmaniose en Mitteleuropa: retrospektive Umfrage und serologische Untersuchung importierter und reisebegleitender Hunde. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, 118, 37–44. [In German].
- Michell A.R. (1999). Longevity of British breeds of dog and its relationships with sex, size, cardiovascular variables and disease. *Vet. Rec.*, 145, 625–629

- Millán, J., Ferroglio, E. & Solano-Gallego, L., (2014). Role of wildlife in the epidemiology of *Leishmania infantum* infection in Europe. *Parasitol. Res.*113, 2005–2014.
- 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*, 24, (8), 371-377.
- Miró, G., Checa, R., Montoya, A., Hernández, L., Dado, D., Gálvez, R., (2012). Current situation of *Leishmania infantum* in shelter dogs in northern Spain. *Parasites & Vectors*, 5, 1-7.
- Miró, G., Oliva, G., Cruz, I., Cañavate, C., Mortarino, M., Vischer, C. & Bianciardi, P. (2009). Multicentric controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*, 20(5-6), 397-404.
- Miró, G., Petersen, C., Cardoso, L., Bourdeau, P., Baneth, G., Solano-Gallego, L., Pennisi, M.G.G., Ferrer, L. & Oliva, O. (2017). Review Novel Areas for Prevention and Control of Canine Leishmaniosis. *Trends Parasitol*, 33, 718-730.
- Molina, R., Miró, G., Gálvez, R., Nieto, J. & Descalzo, M. A. (2006) Evaluation of a spray of permethrin and pyriproxyfen for the protection of dogs against *Phlebotomus perniciosus*. *Vet. Rec.* 159, 206–209
- Mondelaers, A., Sanchez-Cañate, M.P., Hendrickx, S., Eberhardt, E., Garcia-Hernandez, R., Lachaud, L., Cotton, J., Sanders, M., Cuypers, B., Imamura, H., Dujardin, J.C., Delputte, P., Cos, P., Caljon, G., Gamarro, F., Castanys, S., Maes, L., (2016). Genomic and molecular characterization of miltefosine resistance in *Leishmania infantum* strains with either natural or acquired resistance through experimental selection of intracellular amastigotes. *PLoS One* ,11,1-15
- Moreno, I., Álvarez, J., García, N., de la Fuente, S., Martínez, I., Marino, E., Toraño, A., Goyache, J., Vilas, F. & Domínguez, M., (2014). Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. *Vet Parasitol.* 2014; 199,264-267.
- Naranjo, C., Fondevila, D., Leiva, M., Roura, X. & Peña, T. (2005) Characterization of lacrimal gland lesions and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. *Vet. Parasitol*, 133, 37–47.
- Nicolle C & Comte C. (1908). Recherche sur le kala-azar enterprises al Institute Pasteur de Tunis.IV: origine canine kala-azar. *Arch Inst Pasteur Tunis*, 3, 59–62.
- 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.
- Oliva, G., Roura, X., Crotti, A., Maroli, M., Castagnaro, M., Gradoni, L., Lubas, G., Paltrinieri, S., Zatelli, A. & Zini, E. (2010) Guidelines for treatment of leishmaniasis in dogs. *J. Am..Vet..Med. Assoc.*, 236, 1192–1198.
- Oliveira, E., Saliba, J.W., Oliveira, D., Dias, E.S. & Paz, G.F. (2016) A prototype of the direct agglutination test kit (DAT-Canis) for the serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* 221, 9-13.
- OMS, (2017). Media Centre. Leishmaniasis. Acedido em Nov, 18, 2017. Disponível em: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs375/en/>

- OMS, (2018a). World Health Organization. WHO responds to visceral leishmaniasis outbreak in Kenya. Acedido em Out, 25, 2017, disponível em: https://www.who.int/leishmaniasis/news/WHO_responds_to_VL_outbreak_kenya/en/
- OMS, (2018b). World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) data. Leishmaniasis. Acedido em out. 25, 2017, disponível em: www.who.int/gho/neglected_diseases/leishmaniasis/en/
- OMS. (2010). Control of the Leishmaniasis: Report of a Meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. WHO Technical Reports Series, No.949, World Health Organization.
- Otte, M.J., Chilonda, P. (2001). Animal Health Economics:an introduction. Livestock information, Sector analysis and policy branch, Animal Production and Health Division (AGA), FAO. *Introduction to Animal Health Economics*, 1-12.
- Otranto, D. & Dantas-Torres, F. (2013). The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitology*, 29, 339-345.
- Owens, S.D., Oakley, D.A., Marryott, K., Hatchett, W., Walton, R., Nolan, T.J., Newton, A., Steurer, F., Schantz, P. & Giger, U. (2001). Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs. *J. Am Vet Med Assoc*, 219(8):1076-1083.
- Palatnik-de Sousa, C. B. (2008). Vaccines for leishmaniasis in the fore coming 25 years. *Vaccine*, 26, 1709–1724.
- Palatnik-de-Sousa, C.B. (2012). Vaccines for Canine Leishmaniasis. *Frontiers in Immunology*, 3, 69. Acedido em fev. 19, 2018, disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3342354/>
- Pangrazio, K.K., Costa, E.A., Amarilla, S.P., Cino, A.G., Silva, T.M., Paixão, T.A., Costa, L.F., Dengues, E.G., Diaz, A.A. & Santos, R.L. (2009). Tissue distribution of *Leishmania chagasi* and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and asymptomatic naturally infected bitches. *Vet. Parasitol*, 165, 327-331.
- Pennisi, M.G. (2014). Leishmaniosis of companion animals in Europe: An update. *Vet. Parasitol*, 208, 35-47.
- Pennisi, M.G., Cardoso, L., Baneth, G., Bourdeau, P., Koutinas, A., Miró, G., Oliva, G., Solano-Gallego, L. (2015). LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit Vectors*, 8, 302. doi: 10.1186/s13071-015-0909-z.
- Pereira da Fonseca, I., Saraiva-Marques, C., Basso, A., & Garrido, J. (2013). Leishmaniose Felina. *Medicina veterinária*, 67, 15-25.
- Pereira da Fonseca, I. M. & Villa de Brito, M. T. (2008). Diagnóstico. In G. Santos-Gomes & I. P. da Fonseca. *Leishmaniose Canina*. (pp.83-92). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Pereira, M. A. M. (2008). Epidemiologia da leishmaniose canina. In G. Santos-Gomes & I. P. Fonseca (Eds), *Leishmaniose Canina* (pp 41-52). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Perelman, J., Feliz, S. & Santana, R., (2015). The great recession in Portugal: Impact on hospital care use. *Health Policy*, 119, 307-315.
- Peters, N., Sacks, D. (2006). Immune privilege in sites of chronic infection: *Leishmania* and regulatory T cells. *Immunol Rev*, 213,159-179.

- Pierantozzi, M., Roura, X., Paltrinieri, S., Poggi, M., Zatelli, A., (2013). Variation of proteinuria in dogs with leishmaniasis treated with meglumine antimoniate and allopurinol: a retrospective study. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.* 49, 231–236.
- Pineda, C., Aguilera-Tejero, E., Morales, M.C., Belinchon-Lorenzo, S., Gomez-Nieto, L.C., Garcia, P., Martinez-Moreno, J.M., Rodriguez-Ortiz, M.E. & Lopez, I. (2017). Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. *PLoS ONE*, 12, 1-17.
- Proschowsky, H.F., Rugbjerg, H. & Ersbøll, A. K. (2003) Mortality of purebred and mixed-breed dogs in Denmark. *Preventive Veterinary Medicine*, 58, 63-74.
- Ramalho, S. (2017). Como atua a Letifend, a nova vacina contra a Leishmaniose Canina? *Veterinária Atual*. Acedido em fev, 10, 2018, disponível em: <https://www.veterinaria-atual.pt/na-clinica/atua-letifend-nova-vacina-leishmaniose-canina/>
- Ready, P.D., (2008). Leishmaniasis emergence and climate change. *Rev. Sci. Tech.*, 27, 399-412.
- 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.
- Reis, A. B., Martins-Filho, O. A., Teixeira-Carvalho, A., Carvalho, M.G., Mayrink, W., Franca-Silva, J. C., Giunchetti, R. C., Genaro, O. & Correa-Oliveira, R. (2006). Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with sever clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Res. Vet. Sci.*, 81, 68-75.
- Reithinger, R., Dujardin, J., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B. & Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect. Dis.*, 7(9): 581–96.
- Resumo das Características do Medicamento CaniLeish®. (s/d). Acedido em dez. 20, 2017. Disponível em: <http://www.medvet.simpodium.pt/RCM/Index/1077>
- Resumo das Características do Medicamento Leisguard®. (2017). Acedido em jun. 12, 2018. Disponível em: <http://www.medvet.simpodium.pt/RCM/Index/4437>
- Resumo das Características do Medicamento Letifend®. (s/d). Acedido em dez. 20, 2017. Disponível em: <http://www.medvet.simpodium.pt/RCM/Index/3488>
- Resumo das Características do Medicamento Milteforan®. (2007). Acedido em dez. 20, 2017. Disponível em: <https://pt.virbac.com/cao/produtos-cao/desparasitantes-internos/milteforan.html>
- Ribeiro de Andrade, A. S. & Melo, M. N., (2015). Non invasive molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis using conjunctival swab samples. In D. Claborn (Ed.), *Leishmaniasis – Trends in Epidemiology, Diagnosis and Treatment*.
- Rispail, P. & Léger, N. (1998). Numerical taxonomy of Old World Phlebotomine (Diptera, Psychodidae). 2, Restatement of classification upon subgeneric morphological characters. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 93: 787-793.
- Rivière, J., Le Strat, Y., Hendrikx, P. & Dufour, B. (2017). Cost-effectiveness evaluation of bovine tuberculosis surveillance in wildlife in France (Sylvatub system) using scenario trees. *PLoS One*, 12, e183126.

- Rosypal, A.C., Troy, G.C., Zajac, A.M., Frank, G. & Lindsay, D.S. (2005). Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in na experimentally infected beagle. *J. Parasitol.*, 9,1970-972.
- Rougier, S., Hasseine, L., Delaunay, P., Michel, G., Marty, P. (2012). One-year clinicaland parasitological follow-up of dogs treated with marbofloxacin for canineleishmaniasis. *Vet. Parasitol*, 186, 245–253.
- Rougier, S., Vouldoukis, I., Fournel, S., Pérès, S., Woehrlé, F., (2008). Efficacy ofdifferent treatment regimens of marbofloxacin in canine visceralleishmaniosis: a pilot study. *Vet. Parasitol.* 153, 244–254.
- Roura, L. X. (2007). Diagnóstico de leishmaniosis. Livro de Ponencias Suthern European Veterinary Conference, 42 Congresso Nacional AVEPA, 253-255.
- Roze, M. (2005). Canine leishmaniasis. A spreading disease. Diagnosis and treatment. *The European Journal of Companion Animal Practice*, 15 (1), 39-52.
- Ruiz, L.P., Herrera, M.C. & Iznaga-Escobar, N. (2014). Importancia de la farmacoeconomía en los ensayos clínicos con productos biotecnológicos. *Revista Colombiana Ciencias Quimico-Farmacéuticas*, 43, 120-136.
- 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.
- Santos-Gomes, G.M., Rodrigues, O. R. & Marques, C. (2008). Resposta Imunológica. In G. Santos-Gomes & I. P. da Fonseca. *Leishmaniose Canina*. (pp.69-82). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Saridomichelakis, M.N. (2009). Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. *Veterinary Dermatology*, 20 (5-6), 471-89.
- Saridomichelakis, M.N., Mylonakis, M.E., Leontides, L.S., Billinis, C., Koutinas, A.F., Galatos, A.D., Gouletsou, P., Diakou, A., Kontos, V.I., (2005). Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in the endemic areas. *Vet. Parasitol*, 130, 199–205.
- Schlein, Y. & Warburg, A. (1986). Phytophagy and the feeding cycle of *Phlebotomus papatasi* (Diptea: Psychoidea) under experimental conditions. *J. Med. Entomol.* 23, 11-15.
- Schumock, G.T., Butler, M.G. & Meek, P.D. (2003). Evidence of economic benefit of clinical pharmacy services: 1996–2000. *Pharmacotherapy*, 23,113–132.
- Schumock, G.T., Meek, P.D., Ploetz, P.A. & Vermeulen, L.C. (1996) Economic evaluations of clinical pharmacy services—1988–1995. *Pharmacotherapy*, 16, 1188–1208.
- Schurer, J. M., Rafferty, E., Farag, M., Zeng, W. & Jenkins, E. J., (2015). Echinococcosis: an economic evaluation of a veterinary public health intervention in rural Canada. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 9, e0003883.
- Secoli, S., Padilha, K., Litvoc, J. & Maeda, S. (2005). Farmacoeconomia: perspectiva emergente no processo de tomada de decisão. *Ciência e Saúde Coletiva*, 10, 287-296. Acedido em jan. 27, 2018, disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1413-81232005000500029

- Segarra, S., Miró, G., Montoya, A., Pardo-Marín, L., Boqué, N., Ferrer, L. & Cerón, J. (2017). Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine Leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* 239, 50-56.
- Segarra, S., Miró, G., Montoya, A., Pardo-Marín, L., Teichenné, J., Ferrer, L. & Cerón, J.J. (2018). Prevention of disease progression in *Leishmania infantum*-infected dogs with dietary nucleotides and active hexose correlated compound. *Parasit Vectors*, 11, 103. doi: 10.1186/s13071-018-2705-z.
- Semião-Santos, S.J., Harith, A., Ferreira, E., Pires, C.A., Sousa, C. & Gusmão., R. (1995). Évora district as a new focus for canine leishmaniasis in Portugal. *Parasitol. Res.*,81, 235-239.
- Serviço Nacional de Saúde (sd). Saiba como nasceu o Serviço Nacional de Saúde e quais os desenvolvimentos dos últimos 35 anos. Acedido em jan. 31, 2018, disponível em: <https://www.sns.gov.pt/sns/servico-nacional-de-saude/>
- Sevá, A. P., Martcheva, M., Tuncer, N., Fontana, I., Carrilo, E., Moreno, J. & Keesling, J. (2017) Efficacies of prevention and control measures applied during na outbreak in Southwest Madrid, Spain. *PLOS one*, 12, e0186372.
- Shaw, S.E., Langton, D.A. & Hillman, T.J. (2009). Canine leishmaniosis in the United Kingdom: A zoonotic disease waiting for a vector? *Vet. Parasitol.*, 163, (4), 281-285).
- Silva, F.L., Oliveira, R.G., Silva, T.M., Xavier, M.N., Nascimento, E.F., Santos, R.L. (2009). Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet. Parasitol*,160, 55–59.
- Singh, O. P. & Sundar, S. (2014). Immunotherapy and targeted therapies in treatment of visceral leishmaniasis: current status and future prospects. *Front. Immunol.* doi: 10.3389/fimmu.2014.00296
- Slama, D., Haouas, N., Remadi, L., Mezhouh, H., Babba, H. & Chaker, E. (2014). First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasites Vectors*, 7: 51.
- Slappendel, R.J., (1988). Canine leishmaniasis: a review based on 95 cases in the Netherlands. *Vet. Q.* 10, 1–16.
- Sobrinho, R., Ferroglio, E., Oleaga, A., Romano, A., Millán, J., Revilla, M., Arnal, M.C., Trisciuglio, A. & Gortázar, C., (2008). Characterization of widespread canine leishmaniasis among wild carnivores from Spain. *Vet. Parasitol.*, 155, 198–203.
- Solano-Gallego, L., Guadalupe, M., Koutinas, A., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, F., Bourdeau, P., Oliva, G. & Baneth, G. (2011). LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 4, 2-6.
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., Cardoso, L., Pennisi, M.G., Ferrer, L., Bourdeau, P., Oliva, G. & Baneth, G. (2009). Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*, 165(1-2),1-18.
- Solano-Gallego, L., Llull, J., Ramos, G., Riera, C., Arboix, M., Alberola, J. & Ferrer, L., (2000). The Ibiza hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet. Parasitol.*, 90, 37–45.

- Solano-Gallego, L., Rossi, L., Scroccaro, A.M., Montarsi, F., Caldin, M., Furlanello, T. & Trotta, M. (2012). Detection of *Leishmania infantum* DNA mainly in *Rhipicephalus sanguineus* male ticks removed from dogs living in endemic areas of canine leishmaniasis. *Parasites Vectors*. 2012; 5: 98. doi: 10.1186/1756-3305-5-98.
- Solano-Gallego, L., Saz, S.V., Cardoso, L., Esteve, L.O., Corrales, G.M., Fondati, A., Giménez, M.T.P., Repiso, M.L., Freixa, C.N., Dantas-Torres, F., Otranto, D. & Pennisi, M.G. (2013) Leishmaniasis – Una revisión actualizada. Servet, Zaragoza, Espanha. ISBN: 978-8-494-13891-1.
- Solano-Gallego, L., Villanueva-Saz, S., Carbonell, M., Trotta, M., Furlanello, T., & Natale, A. (2014). Serological diagnosis of canine leishmaniasis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan, ID Screen and Leishmania 96), a rapid test (Speed Leish K) and an in-house IFAT. *Parasites & Vectors*, 7, 111. doi: 10.1186/1756-3305-7-111.
- Sousa, S., Lopes, A., P, Cardoso, L., Silvestre, R., Schallig, H., Reed, S.G. & da Silva, A. C. (2011) Seroepidemiological survey of *Leishmania infantum* infection in dogs from northeastern Portugal. *Acta Tropica* 120, 82-87.
- Strauss-Ayali, D., Jaffe, C.L., Burshtain, O., Gonen, L. & Baneth, G. (2004) Polymerase chain reaction using noninvasively obtained samples, for the detection of *Leishmania infantum* DNA in dogs. *Journal of Infectious Diseases* 189, 1729-1733.
- Tavares, C.A., Fernandes, A.P. & Melo, M.N. (2003). Molecular diagnosis of leishmaniasis. *Expert Review of Molecular Diagnostic*, 3, 657-667.
- Tisdell, C. (2010). Animal Health Economics. What can it do? What are the big questions? Economic theory, Applications and Issues. Australia: The University of Queensland.
- Tomás, A. M. & Romão, S. F. (2008). Biologia do Parasita. In G. Santos-Gomes, I. P. Da Fonseca (Ed.), *Leishmaniose Canina* (pp.7-26). Lisboa: Chaves Ferreira.
- Torres, M., Bardagí, M., Roura, X., Zanna, G., Ravera, I., Ferrer, L., (2011). Long term follow-up of dogs diagnosed with leishmaniasis (clinical stage II) and treated with meglumine antimoniate and allopurinol. *Vet. J.* 188, 346–351.
- Torres-Guerrero, E., Quintsnills-Cedillo, M. R., Ruiz_Esmenjau, J. & Arenas, R. (2017). Leishmaniasis: a review. *F1000Research*. (doi: 10.12688/f1000research.11120.1)
- Trask, L. (2011). Chapter 1-Pharmacoeconomics: Principles, Methods, and Applications. The McGraw-Hill Companies. Acedido em jan. 25, 2018, disponível em: <http://accesspharmacy.mhmedical.com/content.aspx?bookid=462§ionid=41100767>
- Travi, B. L., Cordeiro-da-Silva, A., Dantas-Torres, F. & Miró, G. (2018). Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 12. (1): e0006082.
- Trindade, R., Silva, E., Pinto, C., Sampaio, C., Pereira, J. & Drummond, M. (1998). Guidelines for economic drug evaluation studies. Instituto Nacional da Farmácia e do Medicamento [INFARMED]. Acedido em jan. 27, 2018, disponível em: https://www.ispor.org/PEguidelines/source/Orien_Metodologicas_EAEM.pdf
- Vamvakidis, C.D., Koutinas, A.F., Georgiadis, G. & Saridomichelakis, M. (2000). Masticatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). *Vet. Rec*, 146, 698–703.

- Veterinária Atual. (2011). CaniLeish lançada em Portugal. Acedido em fev, 10, 2018, disponível em: <http://www.veterinaria-atual.pt/na-clinica/canileish-lancada-em-portugal/>
- Vilas, F., Carpintero, J., Sevilla, S., Martínez, A., Gavín, M. O., Bernal, J., Díaz, R., Iriso, A., Fernández, O. S., Sainz, C. E., De la Fuente, S., Arce, A., Estirado, A., Frutos, J. & Fúster, F. (2012). Brote de leishmaniasis en la zonasuroeste de la Comunidad de Madrid. Medidas de investigación y control medioambiental. *Prof Vet.*, 17, 6-15. [In Spanish].
- Virbac. (2009). Milteforan® Perguntas e Respostas mais frequentes. Virbac Animal Health.
- Volf, P., Hajmova, M., Sadlova, J. & Votypka, J. (2004). Blocked stomodeal valve of th insect vector: Similar mechanism of transmission in two trypanosomatid models. *Int J Parasitol.* 34, 1221-7.
- Vouldoukis, I., Rougier, S., Dugas, B., Pino, P., Mazier, D. & Woehrlé, F., (2006). Canine visceral leishmaniasis: comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. *Vet.Parasitol.* 135, 137–146.
- Werneck, G.L., Costa, C.H., de Carvalho, F.A., Pires e Cruz Mdo, S., Maguire, J.H. & Castro, M.C. (2014). Effectiveness of insecticide spraying and culling of dogs on the incidence of *Leishmania infantum* infection in humans: a cluster randomized trial in Teresina, Brazil. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 8, e3172.
- Werneck, G.L., Costa, C.H., Walker, A.M., David, J.R., Wand, M. & Maguire, J.H. (2002) The urban spread of visceral leishmaniasis: clues from spatial analysis. *Epidemiology*, 13, 364-367.
- Zamite, C. A. Q. M. (2015). Clínica de animais de companhia. Relatório de estágio. Dissertação de mestrado em Medicina Veterinária. Évora: Escola de Ciências e Tecnologia – Universidade de Évora.
- Zanini, A.C., Farhat, F.C.L.G., Ribeiro, E. & Follador R, W. (2001). Farmacoeconomia: conceitos e aspectos operacionais. *Rev. Bras. Cienc. Farm.*, 37(3), 225-237.
- 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, 558-561.

Anexos

Anexo 1 - Cálculo da média ponderada da proporção de uma coleira no HEV-FMV no ano de 2017.

Coleiras desparasitantes	Peso animal	N.º vendas	% de vendas	Preço da coleira (€)
C	10, 20 kg	169	36,74	20,50
	30 kg	202	43,91	22
D	10, 20 e 30 kg	89	19,35	32
	Total	460	100	

Anexo 2 - Cálculo da média ponderada do número e do respetivo custo de uma coleira no HEV-FMV no ano de 2017 para 118 meses.

Média ponderada do custo de 1 coleira em 2017 no HEV-FMV	$\bar{x} = \frac{(169 \times 20,5) + (202 \times 22) + (89 \times 32)}{460} = 23,38 \text{ €}$
Cálculos auxiliares	1 ano = 12 meses; 10 anos = 120 meses; 120 - 2 = 118 meses de uso de coleira; 118 m ÷ 6 m = 20 coleiras; 118 m ÷ 8 m = 15 coleiras
Média ponderada do número de coleiras utilizadas durante 118 meses	$\bar{x} = \frac{20 + 20 + 15}{3} = 18,3(3) \approx 19 \text{ coleiras}$
Média ponderada do custo de coleiras anualmente	$\bar{x} = 19 \times 23,38 = 444,29 \text{ €}$ $\bar{y} = \frac{444,29}{10} = 44,43 \text{ €}$

Anexo 3 - Cálculo da média ponderada do número e respetivo custo de uma coleira no HEV-FMV no ano de 2017 para 82 meses.

Média ponderada do custo de 1 coleira em 2017 no HEV-FMV	$\bar{x} = \frac{(169 \times 20,5) + (202 \times 22) + (89 \times 32)}{460} = 23,38 \text{ €}$
Cálculos auxiliares	1 ano = 12 meses; 7 anos = 84 meses; 84 - 2 = 82 meses de uso de coleira; 82 ÷ 6 m = 14 coleiras; 118 m ÷ 8 m = 11 coleiras
Média ponderada do número de coleiras utilizadas durante 82 meses	$\bar{x} = \frac{14 + 14 + 11}{3} = 13 \text{ coleiras}$
Média ponderada do custo de coleiras anualmente	$\bar{x} = 13 \times 23,38 = 303,94 \text{ €}$ $\bar{y} = \frac{303,94}{7} = 43,42 \text{ €}$

Anexo 4 - Cálculo da média ponderada do número e respetivo custo de uma coleira no HEV-FMV no ano de 2017 para 60 meses.

Média ponderada do custo de 1 coleira em 2017 no HEV-FMV	$\bar{x} = \frac{(169 \times 20,5) + (202 \times 22) + (89 \times 32)}{460} = 23,38 \text{ €}$
Cálculos auxiliares	2 anos = 24 meses; 7 anos = 84 meses; 84 – 24 = 60 meses de uso de coleira; 60 ÷ 6 m = 10 coleiras; 60 m ÷ 8 m = 8 coleiras
Média ponderada do número de coleiras utilizadas durante 60 meses	$\bar{x} = \frac{10 + 10 + 8}{3} = 10 \text{ coleiras}$
Média ponderada do custo de coleiras anualmente	$\bar{x} = 10 \times 23,38 = 233,80 \text{ €}$ $\bar{y} = \frac{233,80}{5} = 46,76 \text{ €}$

Anexo 5 – Atualização dos custos das coleiras desparasitantes para um canídeo que vive 10 anos.

Coleiras		$i=3\%$	0,03
Ano	Custo (€)	$(1+i)^{-t}$	VAC (€)
0	44,43	1	44,43
1	44,43	0,97	43,14
2	44,43	0,94	41,88
3	44,43	0,92	40,66
4	44,43	0,89	39,48
5	44,43	0,86	38,33
6	44,43	0,84	37,21
7	44,43	0,81	36,13
8	44,43	0,79	35,07
9	44,43	0,77	34,05
TOTAL	444,30	TOTAL	390,37

Legenda: VAC – Valor atualizado de custo

Anexo 6 – Atualização dos custos das vacinas Letifend® e Canileish® para um canídeo que vive 10 anos.

Vacina A				Vacina B			
		i=3%	0,03			i=3%	0,03
Ano	Custo (€)	$(1+i)^{-t}$	VAC (€)	Ano	Custo (€)	$(1+i)^{-t}$	VAC (€)
0	78,75	1,00	78,75	0	157,75	1,00	157,75
1	56	0,97	54,37	1	45	0,97	43,69
2	56	0,94	52,79	2	45	0,94	42,42
3	56	0,92	51,25	3	45	0,92	41,18
4	56	0,89	49,76	4	45	0,89	39,98
5	56	0,86	48,31	5	45	0,86	38,82
6	56	0,84	46,90	6	45	0,84	37,69
7	56	0,81	45,53	7	45	0,81	36,59
8	56	0,79	44,21	8	45	0,79	35,52
9	56	0,77	42,92	9	45	0,77	34,49
TOTAL	582,75	TOTAL	514,77	TOTAL	562,75	TOTAL	508,12

Legenda: VAC – Valor atualizado de custo

Anexo 7 – Somatório dos custos atualizados da combinação da coleira desparasitante com as respetivas vacinas.

Coleira + Vacina A		Coleira + Vacina B	
Ano	VAC (€)	Ano	VAC (€)
0	123,18	0	202,18
1	97,50	1	86,83
2	94,66	2	84,30
3	91,91	3	81,84
4	89,23	4	79,46
5	86,63	5	77,14
6	84,11	6	74,90
7	81,66	7	72,71
8	79,28	8	70,60
9	76,97	9	68,54
TOTAL	905,14	TOTAL	898,49

Legenda: VAC – Valor atualizado de custo

Anexo 8 - Custos dos fármacos em t=0.

Antimoniato de Meglumina			
Peso animal (kg)	Dados	Cálculos intermédios	Custo total (€)
10	Protocolo: Antimoniato de meglumina (100mg/kg, sid, durante 30 dias) Preço de 1 ampola: 3,90€ 1 ampola = 5 ml = 1,5 gr de substância ativa	$100 \text{ mg} \times 10 \text{ kg} = 1 \text{ g}$ $\frac{5 \text{ ml}}{1,5 \text{ g}} = 3,33 \text{ ml}$ $3,33 \times 30 \text{ d} = 100 \text{ ml}$ $\frac{100 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = 20 \text{ ampolas}$	$= 20 \times 3,90$ $= 78$
20		$100 \text{ mg} \times 20 \text{ kg} = 2 \text{ g}$ $\frac{2 \times 5}{1,5} = 6,67 \text{ ml}$ $6,67 \times 30 \text{ d} = 200 \text{ ml}$ $\frac{200 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = 40 \text{ ampolas}$	$= 40 \times 3,90$ $= 156$
30		$100 \text{ mg} \times 30 \text{ kg} = 3 \text{ g}$ $\frac{3 \times 5}{1,5} = 10 \text{ ml}$ $10 \times 30 \text{ d} = 300 \text{ ml}$ $\frac{300 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} = 60 \text{ ampolas}$	$= 60 \times 3,90$ $= 234$

Miltefosina			
Peso animal (kg)	Dados	Cálculos intermédios	Custo total (€)
10	Protocolo: Miltefosina (2mg/kg, sid, durante 28 dias) = 1ml/10 kg dia	$= 1 \text{ ml} \times 28 \text{ d} = 28 \text{ ml}$ = 1 frasco de 30 ml	82,25
20		$= 20 \div 10 = 2 \text{ ml}$ $= 2 \text{ ml} \times 28 \text{ d} = 56 \text{ ml}$ = 1 frasco de 60 ml	150,78
30		$= 30 \div 10 = 3 \text{ ml}$ $= 3 \text{ ml} \times 28 \text{ d} = 84 \text{ ml}$ = 1 frasco de 90 ml	220,22

Alopurinol			
Peso animal (kg)	Dados	Cálculos intermédios	Custo total (€)
10	Protocolo: Alopurinol (10mg/kg, bid, durante 180 dias) 1 comprimido = 300 mg = 0,10€	$= 10 \times 10 \times 2 = 200 \text{ mg}$ $= 200 \div 300 = 0,67 \approx 1 \text{ comprimido/dia}$ $= 0,10 \times 180 \text{ d}$	18
20		$= 10 \times 20 \times 2 = 400 \text{ mg}$ $= 400 \div 300 = 1,33 \approx 1,5 \text{ comprimido /dia}$ $= 1,5 \times 0,10 \times 180 \text{ d}$	27
30		$= 10 \times 30 \times 2 = 600 \text{ mg}$ $= 600 \div 300 = 2 \text{ comprimido /dia}$ $= 2 \times 0,10 \times 180 \text{ d}$	36

Anexo 9 - Custo de cada protocolo combinado.

Peso animal (kg)	Protocolo	Cálculos auxiliares	Custo total (€)
10	A: A. Meglumina + Alopurinol	$= 78 + 18$	96
	B: Miltefosina+ Alopurinol	$= 82,25 + 18$	100,25
20	A: A. Meglumina + Alopurinol	$= 156 + 27$	183
	B: Miltefosina+ Alopurinol	$= 150,78 + 27$	177,78
30	A: A. Meglumina + Alopurinol	$= 234 + 36$	270
	B: Miltefosina+ Alopurinol	$= 220,22 + 36$	256,22

Legenda: A. Meglumina – Antimoniato de Meglumina

Anexo 10 - Custos de diagnóstico e do seguimento clínico.

	Item	Cálculos Auxiliares	Custo total (€)
Diagnóstico	Consulta + Análises sanguíneas e bioquímicas + Teste de diagnóstico	= 30 + 66,22 + 17	113,22
Seguimento clínico	Consulta seguimento + Análises sanguíneas e bioquímicas + Teste de diagnóstico	= 15 + 83,22	98,22

Anexo 11 - Custo no primeiro ano de tratamento.

Peso animal (kg)	Item	Cálculos auxiliares	Custo total (€)
10	Dx + Protocolo A + Seg	= 113,22 + 96 + 92,22	307,44
	Dx + Protocolo B + Seg	= 113,22 + 100,25 + 98,22	311,69
20	Dx + Protocolo A + Seg	= 113,22 + 183 + 98,22	394,44
	Dx + Protocolo B + Seg	= 113,22 + 177,78 + 98,22	389,22
30	Dx + Protocolo A + Seg	= 113,22 + 270 + 98,22	481,44
	Dx + Protocolo B + Seg	= 113,22 + 256,22 + 98,22	467,66

Legenda: Dx – Diagnóstico; Seg – Seguimento.

Anexo 12 – Custos de recidivas para cada peso animal.

	Item	Cálculos auxiliares	Custo total (€)	
Recidiva	10 kg	Dx + Tx Prot. A (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 96 + (2 x 98,22)	405,66
		Dx + Tx Prot. B (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 100,25 + (2 x 98,22)	409,91
	20 kg	Dx + Tx Prot. A (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 183 + (2 x 98,22)	492,66
		Dx + Tx Prot. B (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 177,78 + (2 x 98,22)	487,44
	30 kg	Dx + Tx Prot. A (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 270 + (2 x 98,22)	579,66
		Dx + Tx Prot. B (1.º ano) + (2 x seg. clínico)	= 113,22 + 256,22 + (2 x 98,22)	565,88

Legenda: Tx – Tratamento; Prot – Protocolo; Seg – Seguimento; Dx – Diagnóstico.

Anexo 13 – Valores atualizados anuais dos benefícios de uma prática de prevenção 100% eficaz.

Tratamento A			Tratamento B		
10kg	Ano	VAC (€)	10kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	333,74		2	337,75
	3	414,26		3	418,15
	4	41,62		4	41,89
	5	390,14		5	393,80
	6	379,01		6	382,57
	7	*		7	*
	8	*		8	*
	9	*		9	*
	TOTAL	1558,77		TOTAL	1573,89
20kg	Ano	VAC (€)	20kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	415,75		2	410,83
	3	493,87		3	489,10
	4	41,62		4	41,62
	5	465,18		5	460,68
	6	451,87		6	447,50
	7	*		7	*
	8	*		8	*
	9	*		9	*
	TOTAL	1868,30		TOTAL	1849,73
30kg	Ano	VAC (€)	30kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	497,75		2	484,76
	3	573,49		3	560,88
	4	41,62		4	41,62
	5	540,23		5	528,34
	6	524,74		6	513,20
	7	*		7	*
	8	*		8	*
	9	*		9	*
	TOTAL	2177,83		TOTAL	2128,80

Legenda: VAC-Valor atualizado de custo.

* Benefícios intangíveis que não foram contabilizados como um valor físico, mas que representam um valor económico que irá crescer no valor global dos benefícios. Estes dizem respeito a perda evitada pela contração da doença, *i.e.*, *e.g.*, a morte prematura do canídeo, o sofrimento do mesmo e do seu tutor.

Anexo 14 - Atualização dos custos dos tratamentos durante a vida do animal.

Tratamento A			Tratamento B		
10kg	Ano	VAC (€)	10kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	333,74		2	337,75
	3	414,26		3	418,15
	4	41,62		4	41,89
	5	390,14		5	393,80
	6	379,01		6	382,57
	TOTAL	1558,77		TOTAL	1573,89
20kg	Ano	VAC (€)	20kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	415,75		2	410,83
	3	493,87		3	489,10
	4	41,62		4	41,62
	5	465,18		5	460,68
	6	451,87		6	447,50
	TOTAL	1868,30		TOTAL	1849,73
30kg	Ano	VAC (€)	30kg	Ano	VAC (€)
	0	0		0	0
	1	0		1	0
	2	497,75		2	484,76
	3	573,49		3	560,88
	4	41,62		4	41,62
	5	540,23		5	528,34
	6	524,74		6	513,20
	TOTAL	2177,83		TOTAL	2128,80

Legenda: VAC-Valor atualizado de custo.

Anexo 15 – Cálculos intermédios do custo atualizado de coleiras desparasitantes no cenário 2.

Coleiras		$i=3\%$	0,03
Ano	Custo (€)	$(1+i)^{-t}$	VAC (€)
0	43,42	1,0	43,42
1	43,42	0,97	42,16
2	43,42	0,94	40,93
3	43,42	0,92	39,74
4	43,42	0,89	38,58
5	43,42	0,86	37,45
6	43,42	0,84	36,36
TOTAL	303,94	TOTAL	278,63

Anexo 16 – Cálculos intermédios dos custos de vacinação no $t = 0$ no cenário 2.

	Vacinas	Cálculos intermédios	Custos (€)
Primovacinação + Teste Diagnóstico	A	= 56 + 22,75	78,75
	B	= (3 × 45) + 22,75	157,75

Anexo 17 - Atualização dos custos totais no cenário 2.

Prevenção até aos 2 anos + Tratamento A						
		Coleira	Vacina A	Vacina B	C+ Vacina A	C+ Vacina B
10kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	45	96,52	85,84
	2	330,72				
	3	410,97				
	4	38,58				
	5	387,38				
	6	376,10				
	TOTAL	1629,32	1676,87	1745,19	1762,44	1830,76
20kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	45	96,52	85,84
	2	412,73				
	3	490,59				
	4	38,58				
	5	462,43				
	6	448,96				
	TOTAL	1938,85	1986,40	2054,72	2071,97	2140,29
30kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	45	96,52	85,84
	2	494,73				
	3	570,21				
	4	38,58				
	5	537,47				
	6	521,82				
	TOTAL	2248,38	2295,93	2364,25	2381,50	2449,83

Legenda: C-Coleira.

Prevenção até aos 2 anos + Tratamento B						
		Coleira	Vacina A	Vacina B	C+ Vacina A	C+ Vacina B
10kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	43,69	96,52	85,84
	2	334,73				
	3	414,86				
	4	38,58				
	5	391,05				
	6	379,66				
	TOTAL	1644,44	1691,99	1760,31	1777,56	1845,88
20kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	43,69	96,52	85,84
	2	407,80				
	3	485,81				
	4	38,58				
	5	457,92				
	6	444,59				
	TOTAL	1920,28	1967,81	2036,11	2.053,40	2121,72
30kg	Ano	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)	VAC (€)
	0	43,42	78,75	157,75	122,17	201,17
	1	42,16	54,37	43,69	96,52	85,84
	2	481,74				
	3	557,60				
	4	38,58				
	5	525,59				
	6	510,28				
	TOTAL	2199,36	2246,90	2315,22	2332,48	2400,80

Legenda: C-Coleira.

Anexo 18 – Cálculos intermédios do custo atualizado de coleiras desparasitantes no cenário 3.

Coleiras		i=3%	0,03
Ano	Custo (€)	$(1+i)^{-t}$	VAC (€)
0	0	1	0
1	0	1	0
2	46,76	0,94	43,95
3	46,76	0,92	43,02
4	46,76	0,89	41,62
5	46,76	0,86	40,21
6	46,76	0,84	39,28
TOTAL	233,8	TOTAL	208,08

Anexo 19 – Diferença de custos entre os cenários 2 e 3 (valores em €).

Peso animal (kg)	Tratamento A					Tratamento B				
	Coleira	Vacina A	Vacina B	C + Vacina A	C + Vacina B	Coleira	Vacina A	Vacina B	C + Vacina A	C + Vacina B
10	70,55	118,10	186,42	203,67	271,99	70,55	118,10	186,42	203,67	271,99
20	70,56	118,10	186,42	203,67	271,99	70,55	118,08	186,42	203,67	271,99
30	70,56	118,10	186,42	203,68	272	70,55	118,09	186,41	203,67	271,99

Legenda: C-Coleira