

Leishmaniose visceral em cães

Visceral Leishmaniasis in Dogs

Nathalia Saynovich Dutra Silveira¹, Eduarda Mariana Mendes¹, Marcy Lancia Pereira²,
Alexandre de Oliveira Tavela³, Angela Patricia Medeiros Veiga³ & Francielli Cordeiro Zimmermann³

ABSTRACT

Background: Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a zoonosis of variable clinical presentation, either in systemic or cutaneous form. Clinical signs include anorexia, ophthalmopathies, and chronic kidney disease. In the state of Santa Catarina, the foci are concentrated in the capital and its adjacencies, in the east side of the state. The objective of this study is to outline the first three reported cases of CVL in the municipality of Curitibanos, since there are no reports to date in the region of the mountainous plateau, in the middle west of Santa Catarina.

Cases: All dogs were treated at the Veterinary Clinic School of the Federal University of Santa Catarina, *Campus* Curitibanos. The animals, two males and one female, belonged to the same tutor, resided in Curitibanos, and were attended between 2016 and 2020. In the first case, attended in 2016, the complaint was of eye and skin changes about three months ago. The animal lived in an urban environment and came from Uruguaiana, Rio Grande do Sul. On physical examination, the animal presented skin peeling, wet and crusty lesions, bloody discharge in the ears and nasal hyperkeratosis, as well as signs suggestive of uveitis. In this case, euthanasia was carried out. The second case had complaints of respiratory, eye changes, hyporexia, and polydipsia. The dog was prostrate, dehydrated, with lymphadenomegaly and respiratory disorders, compatible with bacterial pneumonia. Bilateral corneal edema confirmed uveitis. Upon return, the animal remained dehydrated with enlarged lymph nodes. In the aspiration of the lymph nodes, suggestive forms of *Leishmania* sp. were observed. The recommended confirmatory tests were performed, leading to a definitive diagnosis of CVL. The patient was treated with miltefosine, but later died. The third case was attended for general evaluation after a positive diagnosis for CVL during an epidemiological survey of the second case. The animal was alert, tachycardic, and tachypneic with hyperemic mucous membranes. Miltefosine-based treatment and permanent use of deltamethrin-impregnated collar were prescribed and ovariohysterectomy was carried out. The patient is clinically well. In the search for vectors, in no place or moment of search, referring to the cases, vectors for CVL were found.

Discussion: It is suggested that patients 2 and 3 are autochthonous cases, whose transmission form has not been fully elucidated, and vector transmission cannot be ruled out, as well as other less common forms of transmission. For case 1, it is suggested that it is an allochthone case, probably imported from the Uruguaiana region, where the disease is endemic. The conduct of a positive result for CVL is euthanasia, with the exception of dogs that have guardians who wish to perform treatment, but not always possible due to the high cost of miltefosine, the only drug approved for dog therapy in Brazil. In the first case, the owner opted for euthanasia, since in 2016 there was no possibility of treatment. For the last two cases, a treatment cycle was performed as recommended by the guidelines. Regarding the municipality of Curitibanos, in the first case diagnosed in 2016, the animal came from Uruguaiana. In conclusion, this study aimed to report the clinical and epidemiological characteristics related to the first three patients with CVL reported in Curitibanos.

Keywords: leishmaniasis, Santa Catarina, allochthone, autochthonous, dog.

Descritores: leishmaniose, Santa Catarina, alóctone, autóctone, cão.

DOI: 10.22456/1679-9216.106853

Received: 5 September 2020

Accepted: 30 December 2020

Published: 27 February 2021

¹Graduação em Medicina Veterinária, ²Coordenadoria Especial de Biociências e Saúde Única & ³Departamento de Agricultura, Biodiversidade e Florestas, Centro de Ciências Rurais, Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Curitibanos, SC, Brazil. CORRESPONDENCE: M.L. Pereira [marcy.pereira@ufsc.br]. Rodovia Ulysses Gaborardi, km 3. CEP 89520-000 Curitibanos, SC, Brazil.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é considerada uma zoonose de caráter endêmico de importância para a saúde pública. O protozoário *Leishmania infantum* é transmitido principalmente pelo flebotômico *Lutzomyia longipalpis* e a doença tem o cão como principal reservatório [40].

A manifestação clínica da doença é variável, expressando-se de forma sistêmica, por vezes cutânea, sendo a linfadenopatia e as lesões cutâneas os sinais clínicos mais evidentes. Outros sinais incluem onicogribose, anorexia, perda de peso e massa muscular, diarreia, oftalmopatias [1,13,32].

O diagnóstico da LVC consiste na associação de parâmetros clínicos, inquérito epidemiológico e exames laboratoriais [13,14]. O diagnóstico confirmatório considerado pelo Ministério da Saúde consiste em dois testes sorológicos e o parasitológico. Dos testes sorológicos, realiza-se um de triagem (teste rápido imunocromatográfico TR DPP®) e outro confirmatório (ELISA), sendo considerado soropositivo o cão que apresentar resultado positivo em ambos os testes. O teste parasitológico é considerado padrão ouro no diagnóstico de LVC [9,13].

A situação epidemiológica da LVC no Brasil é estável nas regiões norte e nordeste e emergente no sul. Em Santa Catarina, os casos são crescentes, sendo o município de Florianópolis considerado como área de transmissão da doença no estado [13].

O objetivo deste trabalho é relatar os três primeiros casos de leishmaniose visceral canina no município de Curitiba, Santa Catarina, de modo a contribuir com o levantamento de dados epidemiológicos da região do planalto serrano, visto que não há relatos até o presente momento nessa região do estado de Santa Catarina.

CASOS

Caso 1. O atendimento do primeiro animal ocorreu em 2016. Tratava-se de um cão macho da raça Border Collie, não castrado, 8 anos de idade, com 16,4 kg. O tutor relatou presença de secreção ocular e cegueira após 2 episódios traumáticos em ambos os olhos, além de lesões cutâneas em região tóraco lombar dorsal, plano nasal e pinas auriculares há 3 meses. O cão havia passado por consulta prévia com outro profissional, que instituiu tratamento ocular tópico à base de prednisolona e tratamento dermatológico

tópico com antisséptico e pomada cicatrizante, ambos sem resultado satisfatório. A vacinação polivalente e a vermifugação estavam em dia. O animal vivia em ambiente urbano com quatro contactantes caninos saudáveis por cerca de 2 anos e tinha procedência de Uruguaiana, Rio Grande do Sul.

Ao exame físico, o animal apresentava-se alerta, com linfonodo submandibular direito aumentado, além de descamação em toda extensão toracolombar, lesões úmidas, crostosas, secreção sanguinolenta nas extremidades das orelhas e hiperqueratose nasal. Quanto aos olhos, havia bilateralmente opacidade de lente e secreção ocular mucopurulenta, neovascularização e edema corneais e ausência de resposta ao reflexo de ameaça, concluindo diagnóstico de uveíte. Como diagnósticos diferenciais para as lesões dermatológicas, houve suspeita de rangeliose, doença autoimune, hipersensibilidade e neoplasia a esclarecer.

Como exames complementares, foram solicitados hemograma completo, pesquisa de hemoparasitos, avaliação bioquímica sérica (ALT, AST, FA, creatinina e ureia), citologia de uma das lesões auriculares e urinálise, com urina coletada por cateterização transuretral.

Inicialmente, para tratamento tópico foi prescrito colírio à base de acetato de prednisolona a 1% (Pred Fort®¹ - BID, até novas recomendações), xampu manipulado à base de peróxido de benzoíla a 2% e ácido salicílico 2% para banhos uma vez por semana até novas recomendações e também uso de ômega 3 [Ômega 3®² - 60 mg/kg, VO, SID, até novas recomendações].

Ao hemograma, observou-se anemia normocítica normocrômica [$4,56 \times 10^6$ hemácias/ μL , ref: $5,7-7,4 \times 10^6$ hemácias/ μL ; hemoglobina 10,0 g/dL, ref: 14-18 g/dL; hematócrito 32,2%, ref: 37-55 %; VCM 70,7 fL, ref: 63-77 fL e CHCM 31%, ref: 31-35%], poiquilocitose, associadas a leucopenia [4000 leucócitos/ μL , ref: 8000-16000 leucócitos/ μL], linfopenia [840 células/ μL , ref: 1040-6400 células/ μL], eosinopenia [40 células/ μL , ref: 80-1440 células/ μL] e trombocitopenia [101×10^3 plaquetas/ μL , ref: $180-400 \times 10^3/\mu\text{L}$ células]. Na avaliação do esfregaço sanguíneo, detectou-se a presença de microfírias, sugerindo positividade para *Dirofilaria immitis*. Na urinálise, observaram-se isostenúria [densidade urinária de 1,018], proteinúria à fita [30 mg/dL] e presença de cristais de fosfato triplo. A citologia da orelha foi sugestiva de dermatite bacteriana. Na bioquímica

sérica, todos os valores apresentavam-se dentro da referência para a espécie.

A reavaliação ocorreu após 60 dias, na qual o tutor relatou melhora com o tratamento instituído, porém persistência da lesão cutânea na região nasal e início de dispneia. Como havia suspeita inicial de rangeliose devido às lesões em pinas, foi prescrito doxiciclina [Doxitrat^{®3} - 10 mg/kg VO SID por 21 dias] e aplicado dipropionato de imidocarb [Imizol^{®4} - 5 mg/kg SC em dose única com repetição após 14 dias]. Orientou-se a continuidade do tratamento instituído anteriormente e, devido à persistência das lesões cutâneas e ao animal ser procedente de Uruguaiana, local endêmico para LVC, solicitou-se teste sorológico (TR DPP^{®5} e ELISA⁵) para leishmaniose realizado pelo Laboratório Central de Saúde Pública (LACEN) de Santa Catarina. Ainda, novos exames complementares, como hemograma completo e ecocardiograma foram solicitados, sendo o último não realizado pelo tutor.

O hemograma demonstrou persistência de anemia normocítica normocrômica [5,08 x 10⁶ hemácias/ μ L, ref: 5,7-7,4 x 10⁶ hemácias/ μ L; hemoglobina 10,9 g/dL, ref: 14-18 g/dL; hematócrito 34,9% ref: 37-55%; VCM 68,8 fL, ref: 63-77 fL e CHCM 31,2%, ref: 31-35%], leucopenia [6.300 leucócitos/ μ L, ref: 8.000-16.000 leucócitos/ μ L], linfopenia [567 células/ μ L, ref: 1040-6400 células/ μ L] e eosinopenia [63 células/ μ L, ref: 80-1440 células/ μ L]. Os testes sorológicos (imunocromatográfico e ELISA) foram reagentes para LVC.

Desta forma, devido a não haver a possibilidade de terapia na época, foi realizada a eutanásia do paciente com posterior análise necroscópica. O resultado da necropsia evidenciou as seguintes alterações macroscópicas: seborreia no tegumento, principalmente na região dorso-caudal, lesões crostosas no pavilhão auricular esquerdo, congestão e edema nos pulmões, linfadenomegalia dos linfonodos pré escapulares, poplíteos e mandibulares, esplenomegalia associado a inflamação crônica, hepatomegalia associada a edema e congestão, hidronefrose no rim esquerdo, hiperemia e opacidade da córnea e fibrose da região da dura máter. A avaliação microscópica evidenciou congestão e edema difusos acentuados nos pulmões, dermatite crostosa linfoplasmohistiocitária difusa acentuada associada a formas amastigotas de *Leishmania* sp. no pavilhão auricular, linfadenite histiocítica associada à rarefação linfóide e edema difuso com presença de formas amastigotas de *Leishmania* sp., hepatite linfoplasmocitária

multifocal leve sub aguda, glomerulonefrite membranaosa difusa moderada, uveíte linfoplasmocitária difusa acentuada crônica e blefarite linfoplasmocitária difusa moderada associada a focos de hemorragia.

Com o diagnóstico de LVC deste cão, o primeiro na cidade de Curitiba-SC, a Vigilância Epidemiológica do município realizou busca ativa na residência e no entorno do domicílio, sendo todos os testados negativos. Verificou-se ainda, na ocasião, não haver vetores para LVC.

Caso 2. O segundo paciente foi atendido em 2019. Tratava-se de um cão macho da raça Komondor, 7 anos de idade, não castrado, com 37 kg. Segundo o tutor, a queixa principal era de dispnéia, secreção nasal purulenta bilateral e hiporexia há cerca de 2 semanas. Também foram relatados emagrecimento progressivo, polidipsia e secreção ocular mucosa há quase 1 ano. A vacinação polivalente estava atrasada e a vermifugação em dia. O cão possuía mais 4 contactantes saudáveis e habitava em sítio há cerca de 1 ano, tendo morado antes em casa na zona urbana, quando convivia com o cão apresentado no caso 1.

Ao exame físico, o animal apresentava-se prostrado, com desidratação leve, escore corporal 2 (escala de 1 a 5), secreção mucopurulenta em narina direita, além de crepitação em campos dorsais caudais pulmonares bilateralmente à auscultação, com consequente suspeita de pneumonia bacteriana. Quanto aos olhos, havia alopecia periocular, entrópio em canto medial bilateral, secreção ocular mucosa e edema de córnea bilateral, levando à suspeita de uveíte. Foram realizados Teste de Schirmer e fluoresceína em ambos os olhos, não havendo alterações. Para a pneumonia, foi prescrito amoxicilina associada a clavulanato [Clavulin^{®6} - 15 mg/kg, BID, por 30 dias] e nebulização com solução fisiológica durante 10 min uma vez ao dia, até melhora dos sinais clínicos respiratórios. Para a uveíte, indicou-se tratamento tópico com diclofenaco sódico 0,1% [Stil^{®1} - 1 gota em cada olho, TID, por 7 dias]. Indicou-se também uso de dieta pastosa altamente palatável com aumento da oferta proteica.

Como exames complementares, foram solicitados hemograma completo, avaliação bioquímica sérica (albumina, ALT, FA, creatinina e ureia) e urinálise, com urina coletada por cateterização transuretral. Também, pediram-se radiografias de tórax em 3 projeções (não realizadas pelo tutor) e agendou-se retorno para sete dias.

O hemograma revelou anemia normocítica normocrômica [hemácias $3,68 \times 10^6/\mu\text{L}$, ref: 5,5-8,5 $\times 10^6/\mu\text{L}$; VCM 60 fL, ref: 60-77 fL; CHCM 33,1 g/dL, ref: 32-36 g/dL], linfopenia [552 células/ μL , ref: 1000-4800 células/ μL]; eosinopenia [69 células/ μL , ref: 150-1350 células/ μL]; trombocitose [761×10^3 plaquetas/ μL , ref: 200-500 $\times 10^3/\mu\text{L}$]. No ensaio bioquímico, foi detectada hipoalbuminemia [1,13 g/dL, ref 2,3-3,8 g/dL], sem outras alterações. Na urinalise, observaram-se proteinúria à fita, isostenúria [densidade urinária de 1,010]; bacteriúria discreta, presença de células epiteliais isoladas e em clusters. Com esses resultados, houve suspeita diagnóstica de doença renal crônica.

O retorno foi realizado somente após 50 dias, em que tutor relatou melhora do estado geral e do aspecto ocular. A terapia antimicrobiana havia sido descontinuada após 20 dias. Ao exame físico, o animal apresentava-se alerta, porém permanecia com desidratação leve, além de aumento de volume dos linfonodos poplíteos e submandibulares. Foi feita punção aspirativa dos linfonodos para citologia, cujo resultado, para todas as amostras, foi a observação de linfócitos pequenos a médios (90%) e grandes (10%), bem como poucos plasmócitos e macrófagos, além da presença de formas livres e intra macrofágicas sugestivas de *Leishmania* sp. (Figura 1).

Após diagnóstico de LVC, o tutor recebeu as orientações gerais sobre a doença e as opções de realização de tratamento ou eutanásia, sendo que a primeira foi aceita. Inicialmente, prescreveu-se uso de coleira impregnada com deltametrina (Scalibor^{®4}) para o paciente e todos os cães contactantes. Quanto à terapia, o paciente teve prescrição de miltefosina

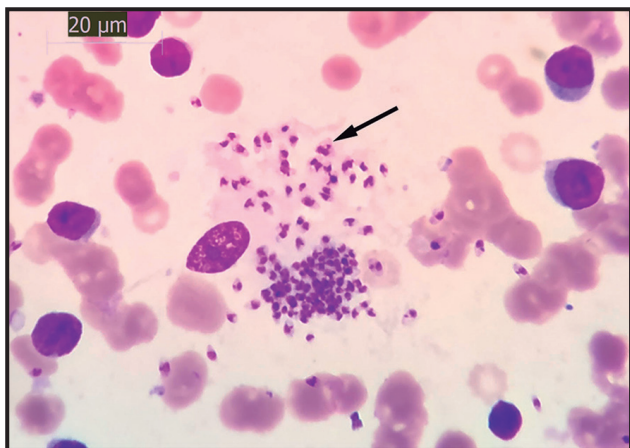


Figura 1. Citologia de aspirado de linfonodo do paciente do caso 2. Formas livres (seta) sugestivas de *Leishmania* sp. [Panótico; obj.100x].

[Milteforan^{TM7} - 2 mg/kg SID VO durante 28 dias]. Já nos primeiros dias, o cão apresentou melhora do estado geral, ganho de peso, com melhora do apetite, regressão da blefarite e da secreção ocular. O tutor foi orientado a fazer reavaliação do paciente após término do ciclo, mas não retornou mais até que houvesse piora do quadro geral, cerca de 4 meses após finalização da terapia.

À avaliação, o paciente estava com anorexia havia 3 dias, emagrecimento e, ao exame físico, havia apatia intensa, edema submandibular e desidratação moderada. Foram solicitados hemograma, bioquímica sérica e avaliação urinária (urinalise e relação proteína creatinina urinária - RPCU, com coleta por cistocentese). O hemograma apontou anemia normocítica hipocrômica [hemácias $2,49 \times 10^6/\mu\text{L}$, ref: 5,5-8,5 $\times 10^6/\mu\text{L}$; VCM 68,3 fL, ref: 60-77 fL; CHCM 28,2 g/dL, ref: 30-36 g/dL], linfopenia [770 células/ μL , ref: 1000-4800 células/ μL]; hiperproteinemia [PPT 8,6 g/dL, ref: 6-8 g/dL], além da presença de estruturas intra plaquetárias compatíveis com família Anaplasmataceae e neutrófilos tóxicos. Na bioquímica sérica, os resultados obtidos foram: hipoalbuminemia [1,15 g/dL, ref: 2,6-3,3 g/dL], azotemia [creatinina de 5,28 mg/dL, ref 0,5-1,4 mg/dL; ureia 148 mg/dL, ref 15-40 mg/dL] e hiperfosfatemia [8,47 mg/dL, ref: 2,6-6,2 mg/dL]. A urinalise mostrou hipostenúria (densidade de 1,006), com proteinúria à fita (100 mg/dL), traços de sangue oculto e sedimento inativo. A RPCU foi de 3,12 (ref < 0,5). A partir disso, a principal suspeita era de síndrome nefrótica por glomerulonefrite secundária à LVC. Indicou-se a internação do paciente, com tratamento à base de fluidoterapia para reposição da hidratação com solução ringer lactato, terapia para gastrite à base de ranitidina [Cloridrato de Ranitidina^{®8} - 2,2 mg/Kg BID SC], doxiciclina [Doxitrat^{®3} - 30 mg/Kg BID VO por 21 dias] associada a dipropionato de imidocarb [Imizol^{®4} - 5 mg/kg SC em dose única com repetição após 14 dias], benazepril (Lotensin^{®9} - 0,5 mg/kg SID) e ração úmida altamente palatável e de alto valor biológico. O animal veio a óbito uma semana após a última consulta e foi submetido a exame necroscópico.

Como alterações macroscópicas, foram encontradas: presença de endoparasita na cavidade abdominal com cerca de 45 cm, de coloração vermelho-escura e de forma cilíndrica (*Diocetophyma renale*). Na cavidade oral (Figura 2A) e estômago (Figura 2B) havia presença de úlceras, petéquias na região do piloro estomacal e congestão hepática.

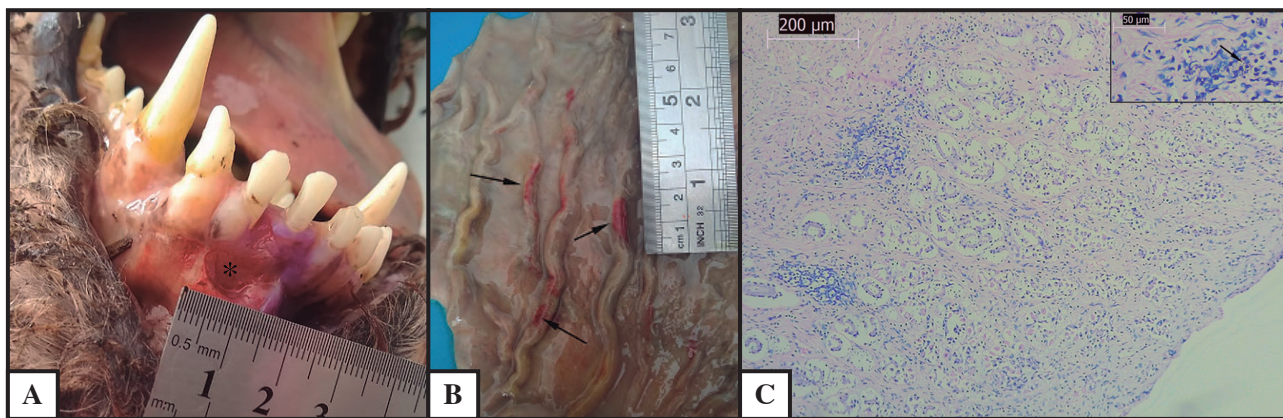


Figura 2. A- Área de ulceração (asterisco) na mucosa oral da mandíbula inferior associada a hemorragia. B- Áreas de ulceração na mucosa gástrica associadas a hemorragia (setas). C- Histologia do estômago. Gastrite linfohistiocítica multifocal moderada associada a perda do epitélio superficial da mucosa com exposição da lâmina própria (úlceras multifocais moderadas) [HE; obj.10x]. Canto superior direito, ampliações da imagem C, demonstrando linfócitos e histiócitos contendo amastigotas sugestivas de *Leishmania* sp. (seta) [HE; obj.40x].

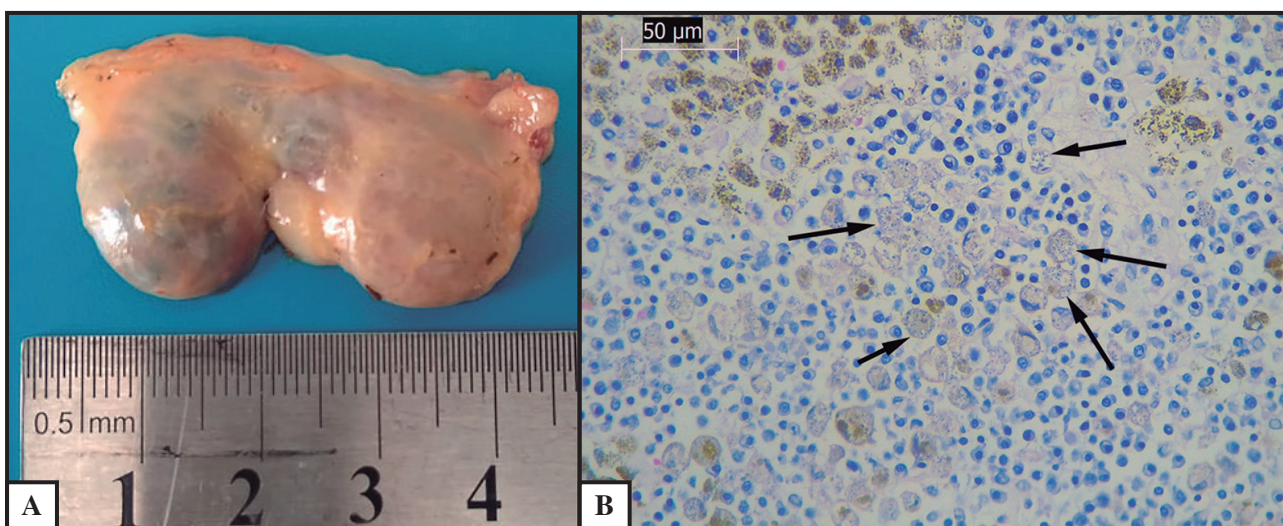


Figura 3. A - Linfonodo aumentado e brilhante. B- Histologia do linfonodo. Linfadenite histiocítica e hemossiderose multifocais acentuadas. Histiócitos contendo amastigotas de *Leishmania* sp. [HE; obj.40x].

Em sistema respiratório, observaram-se presença de líquido espumoso na traquéia, além de protrusão de líquido espumoso ao corte do parênquima pulmonar, nódulos multifocais bem delimitados de cor levemente enegrecida e aspecto maciço nos lóbulos pulmonares. No coração, havia endocardite. Também, observou-se linfadenomegalia do linfonodo axilar direito (Figura 3A). Os rins apresentavam-se amarelo-pálidos por toda sua extensão (Figura 4A) e o rim direito havia perdido a definição corticomedular. Na vesícula urinária, havia hemorragia com petéquias multifocais a coalescentes. Os testículos estavam macios à palpação, atrofiados (Figura 5A), com edema e presença de material purulento nos tecidos adjacentes ao testículo direito. Quanto ao sistema músculo esquelético, evidenciou-se atrofia generalizada.

Os achados microscópicos foram: linfadenite histiocítica e hemossiderose multifocais acentuadas (Figura 3B) com depleção linfóide difusa moderada, esplenite histiocítica multifocal acentuada com depleção linfóide difusa moderada, mielite histiocítica multifocal acentuada, gastrite linfohistiocítica multifocal moderada associada a úlceras multifocais moderadas (Figura 2C), enterite histiocítica multifocal moderada em intestino grosso, hepatite histiocítica multifocal acentuada, orquite histiocítica granulomatosa multifocal moderada associada a necrose do epitélio germinativo multifocal acentuada (Figura 5B), blefarite e ceratoconjuntivite histiocíticas multifocais moderadas e em todas essas vísceras citadas acima, associado à inflamação, havia formas amastigotas sugestivas de *Leishmania* sp. Também foram observadas endocardite

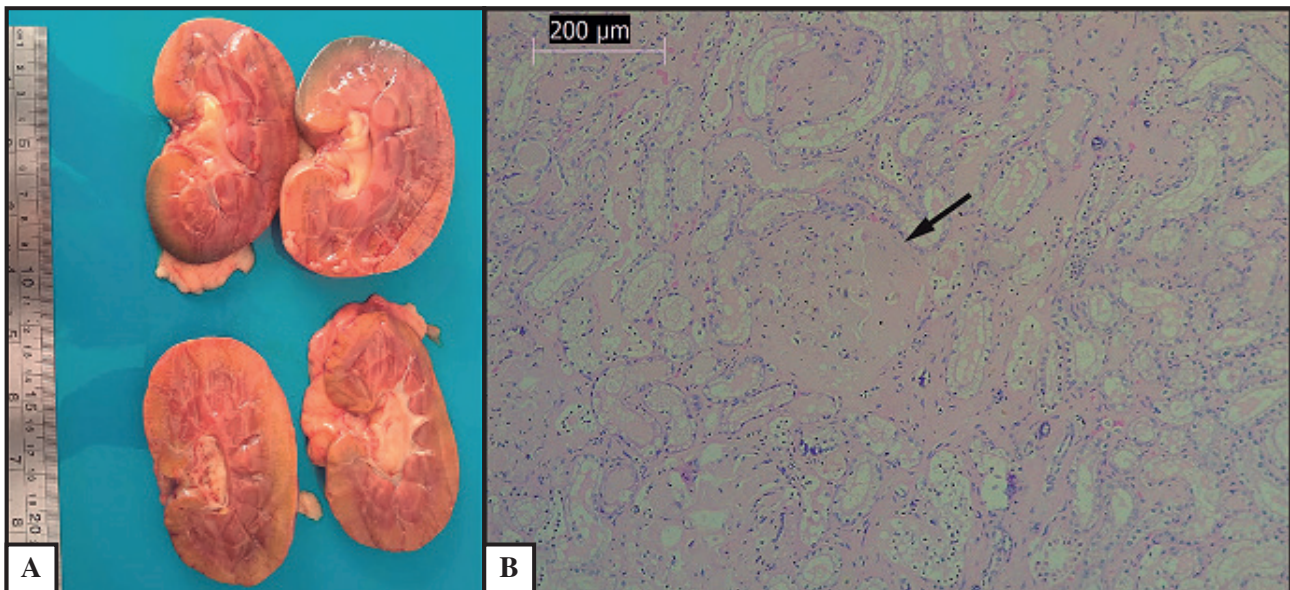


Figura 4. A- Rins difusamente amarelo-pálidos. B- Histologia do rim, glomeruloesclerose acentuada (seta) [HE; obj.10x].

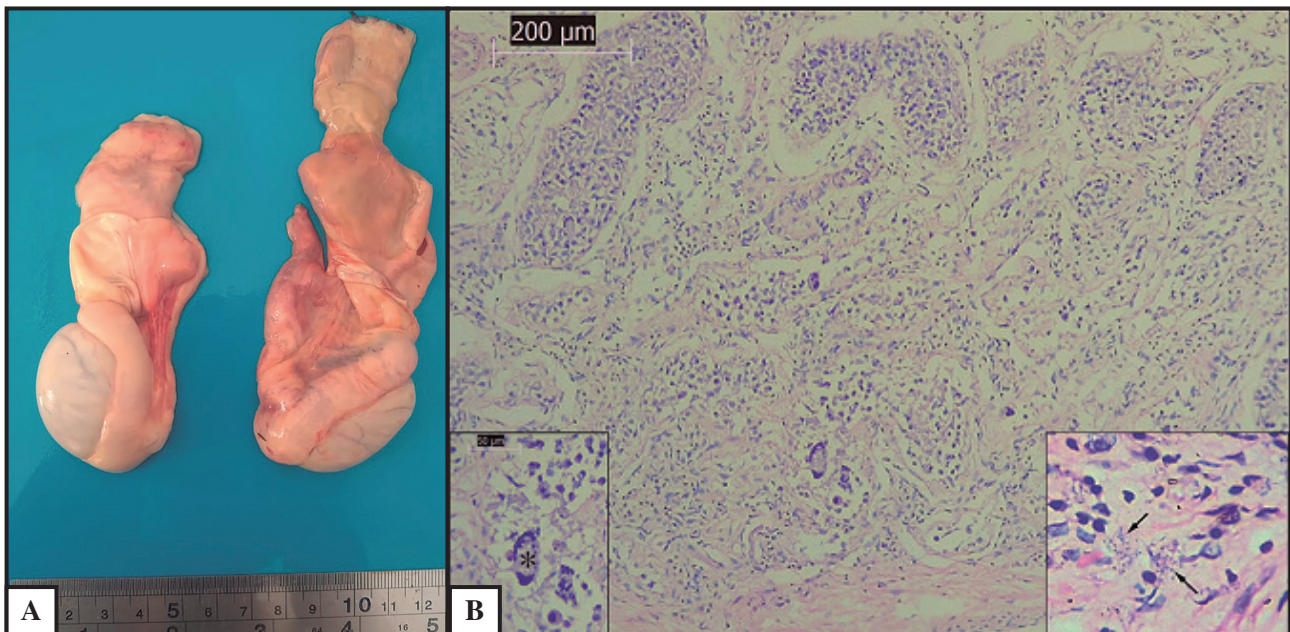


Figura 5. A- Testículos atrofiados. B- Histologia de testículo. Orquite histiocítica granulomatosa multifocal moderada associada a necrose do epitélio germinativo multifocal acentuada [HE; obj.10x]. Canto inferior esquerdo, ampliação da imagem B, demonstrando célula gigante multinucleada (asterisco) [HE; obj.40x]. Canto inferior direito, ampliação da imagem B, demonstrando amastigotas sugestivas de *Leishmania* sp. no interior de histiócitos (setas) [HE; obj.40x].

valvular supurativa multifocal acentuada, glomeruloesclerose multifocal acentuada (Figura 4B) associada à necrose tubular multifocal moderada e calcificação tubular multifocal leve, periorquite supurativa difusa acentuada, edema pulmonar multifocal acentuado e atrofia músculo-esquelética difusa acentuada associada à necrose multifocal moderada.

Após a confirmação do diagnóstico de LVC do paciente do caso 2, realizou-se busca ativa de animais

positivos na propriedade e seu entorno. Assim, dos 4 cães assintomáticos contactantes, 1 contactante canino teve resultado positivo em ambos os testes (imunocromatografia e ELISA) para LVC (caso 3) e os outros 3 testados foram negativos.

Caso 3. O terceiro caso foi diagnosticado em 2019. Um canino, fêmea, da raça Komondor, 4 anos de idade, não castrado, com 41 kg, foi atendido para avaliação geral após diagnóstico positivo para LVC

em busca ativa na propriedade em que vivia o cão do caso 2. Não havia queixas e a vacinação polivalente e vermifugação estavam em dia. Ao exame físico, o animal apresentava-se alerta, taquicárdico, taquipneico e com mucosas hiperêmicas. Foi prescrito tratamento à base de miltefosina [MilteforanTM 2 mg/kg, VO, SID, por 28 dias]. Como exames complementares, foram solicitados hemograma completo, avaliação bioquímica sérica (albumina, ALT, FA, creatinina e ureia) e urinálise, com urina coletada por cateterização transuretral.

Não houve alterações nos exames bioquímicos e o hemograma evidenciou trombocitose associada a agregação plaquetária [514 x 10³ células/μL ref: 200-500 x 10³ células/μL], linfopenia [665 células/μL, ref: 1000-4800 células/μL] e neutrofilia madura com desvio à direita [11837 células/μL, ref: 3000-11500 células/μL]. Na urinálise foram detectadas células epiteliais pavimentosas (até 4/cga), células de transição (até 8/cga) e células caudatas (até 2/cga, normal é ausência).

O retorno foi agendado para ocorrer ao final do ciclo de tratamento, mas foi realizado somente após 90 dias. Ao exame físico, o animal havia ganho 3 kg em relação à avaliação inicial, pesando 44 kg, apresentava-se alerta, com mucosas hiperêmicas, hidratado e observou-se a presença de pulgas. A miltefosina havia sido administrada conforme prescrição e não se observaram novas queixas. Solicitou-se repetição de hemograma, bioquímica sérica (creatinina, ureia, proteínas plasmáticas totais e frações) e urinálise, com urina coletada por cistocentese.

Não houve alterações nos exames bioquímicos e o hemograma evidenciou eritrocitose [HT de 58%, ref: 37 a 55%], eosinofilia [1377 células/μL, ref: 100-1250 células/μL], presença de neutrófilos tóxicos e estruturas intra plaquetárias compatíveis com *Anaplasma platys*. Na urinálise, observou-se bacteriúria discreta, sem mais alterações. Foi instituído tratamento para anaplasmose com doxiciclina [Doxitrat[®], 10 mg/kg, VO, SID, por 21 dias] e dipropionato de imidocarb [Imizol[®], 5 mg/kg SC em dose única com repetição após 14 dias], tendo sido recomendado ao tutor que retornasse após os 21 dias para reavaliação clínica e avaliação pré-operatória para ovariohisterectomia. Entretanto, tutor não retornou e, após contato telefônico realizado dois meses após, informou que a cadela estava bem clinicamente e que havia passado por ovariohisterectomia.

DISCUSSÃO

A Leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença de distribuição mundial considerada endêmica na Ásia, África, nas Américas e na região do Mediterrâneo. No Brasil, a transmissão já foi descrita em vários estados, sendo antes tida como de caráter rural, mas atualmente encontrada em grandes centros populacionais [18,38]. O processo de transformação ambiental, os movimentos migratórios, o aumento da população de canídeos (reservatórios da doença) e a verticalização das áreas urbanas contribuíram para a mudança nesse perfil epidemiológico, chegando aos grandes centros urbanos [10,18,27]. Em Santa Catarina, nos últimos anos, tem aumentado a preocupação com os casos de LVC devido ao aumento de casos documentados, principalmente na região leste do estado (Grande Florianópolis) [13].

Com relação ao município de Curitiba, no primeiro caso diagnosticado em 2016, o animal era proveniente de Uruguaiana. Durante o inquérito epidemiológico, no mesmo ano, os animais contactantes deste apresentaram-se negativos ao teste de triagem. Posteriormente, o segundo e o terceiro caso, em 2019, tiveram resultado positivo para LVC nos 2 testes sorológicos (de triagem e confirmatório). Devido ao histórico de origem de outra cidade caso 1, associado à ausência de informações entomológicas do vetor na região de Curitiba-SC e o contato dos animais diagnosticados em 2019 com o cão de origem de outra localidade, sugere-se que os casos 2 e 3 tratam-se de casos autóctones, cuja forma de transmissão não foi inteiramente elucidada, não podendo ser descartada a transmissão vetorial, bem como outras formas de transmissão menos comuns. Já para o caso 1, sugere-se que seja um caso alóctone, provavelmente importado da região de Uruguaiana, onde a doença é endêmica. Além disso, o caso 2 apresentou em 2016 sorologia negativa para LVC, sendo positivo posteriormente em 2019. De acordo com alguns estudos, o período de soroconversão nos cães naturalmente infectados é bastante variável [15,31,36], o que pode ser uma das possíveis causas de dois testes com resultados diferentes no intervalo de 3 anos, visto que em 2016 o cão do caso 2 estava a pouco tempo em contato com o cão do caso 1. Além disso os testes sorológicos não são 100% sensíveis e podem falhar na detecção de cães infectados no período pré-patente e antes da soroconversão [15].

Com relação à manifestação clínica na LVC, esta se apresenta como ampla e variável, sendo determinada por diversos fatores, como a resposta imunológica do hospedeiro, carga parasitária e fatores ambientais [35]. Alguns animais desenvolvem imunidade protetora, outros apresentam a infecção subclínica com recidiva posterior e outros ainda manifestam a síndrome clínica clássica [32].

Os sintomáticos podem apresentar manifestações cutâneas, renais, hepatoesplênicas, ortopédicas, oftálmicas e neurológicas [20]. Os sinais clínicos mais evidentes são a onicogribose, linfadenopatias e lesões cutâneas [4,32]. Outros sinais clínicos inespecíficos incluem hiporexia a anorexia, perda de peso e massa muscular, vômito e diarreia [27,32]. Dos 3 casos relatados, somente os 2 primeiros eram sintomáticos e apresentavam alterações cutâneas, oftálmicas, renais e hepatoesplênicas, além dos sinais clínicos inespecíficos, como perda de peso, emagrecimento progressivo e hiporexia. Os sinais clínicos associados à perda de peso e hiporexia a anorexia estão associados à multiplicação de parasitos no fígado, especialmente nas células de Kupffer, com consequente alterações hepáticas que levam aos sinais clínicos [27].

Com relação às dermatopatias, essas ocorrem em mais de 80% dos casos de LVC, sendo muitas vezes a principal queixa clínica [3]. São descritos na LVC os padrões dermatológicos esfoliativo, ulcerativo e nodular, sendo mais comuns os padrões esfoliativo e ulcerativo [20,29]. As regiões de maior acometimento são orelhas, focinho, plano nasal, cauda e articulações [30,32]. Outras manifestações cutâneas podem ocorrer, como a hipotricose, hiperqueratose, hiperpigmentação, alopecia periocular e infecções secundárias oportunistas [30]. Dos casos clínicos relatados, apenas o primeiro caso apresentava alterações cutâneas descamativas e ulcerativas, sendo a descamação por toda extensão toracolombar, lesões úmidas, crostosas nas extremidades das orelhas e plano nasal, além de presença de secreção sanguinolenta nas extremidades das orelhas. As lesões estavam acompanhadas de hiperqueratose nasal e infecção secundária (bacteriana). O segundo caso apresentou apenas a alopecia periocular, sem demais alterações cutâneas evidentes e o terceiro caso não apresentou lesões cutâneas.

As manifestações oftálmicas no LVC são relativamente frequentes, podendo estar presentes mesmo na ausência de sinais clínicos sistêmicos [5]. As principais

alterações descritas são a blefarite, conjuntivite, ceratoconjuntivite, panoflmitite e uveíte [12,27]. Nos casos 1 e 2, observou-se quadro de uveíte. Ambos os casos apresentaram no exame histopatológico blefarite, sendo linfoplasmocitária difusa moderada associada a focos de hemorragia no caso 1 e histiocítica multifocal moderada no caso 2. Além disso, o caso 2 apresentou ceratoconjuntivite histiocítica multifocal moderada.

Injúrias renais nos quadros de LVC são comuns e decorrentes principalmente da deposição de imunocomplexos nos glomérulos, levando a anormalidades da função renal com consequente alterações nos níveis séricos de ureia e creatinina [27,41]. De acordo com [41], 80% dos animais avaliados apresentaram lesões renais intersticiais, sendo a fibrose e a presença de infiltrado linfoplasmocitário as alterações mais encontradas. Com relação às alterações tubulares, o estudo relata a presença de hiperplasia de túbulo contorcido proximal, calcificação tubular e degeneração hidrópica. A doença renal pode progredir de proteinúria assintomática a síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica com glomerulonefrite, nefrite tubulointersticial e amiloidose [21]. Nos casos 1 e 2, chegou-se ao diagnóstico de doença renal crônica, corroborando com os achados da literatura. No primeiro caso, alterações urinárias foram observadas (isostenúria, proteinúria, não tendo sido realizado o RPCU) e a avaliação necroscópica indicou glomerulonefrite membranosa difusa a moderada. No segundo caso, houve, à urinálise, hipostenúria, proteinúria, presença de sangue oculto e na bioquímica sérica azotemia, hiperfosfatemia e RPCU > 0,5. De acordo com [19,37] os distúrbios eletrólitos são comuns em quadros de insuficiência renal, sendo normalmente observados hiperfosfatemia nos estágios 3 e 4 da DRC. A consequência posterior é o desenvolvimento do hiperparatireoidismo secundário renal, relacionado à hiperplasia da paratireoide e calcificação metastática (inclusive renal) [16]. Já o terceiro caso, da paciente assintomática, não apresentou alterações compatíveis com quadro de doença renal pela urinálise e creatinina sérica. Entretanto, importante salientar que não foi realizado teste de bioquímica sérica s-dimetilarginina simétrica (SDMA), que detectaria mais precocemente a doença renal crônica (DRC), com perda de função renal ao redor de 25% comparado com a creatinina, que só aumenta com perda de função renal a partir de 75% [19].

Alterações hepatoesplênicas em cães com LVC são bastante variáveis, porém comuns. Com relação ao baço, os parasitos induzem a desorganização na estrutura celular do órgão, levando à hiperplasia da polpa branca e polpa vermelha e, conseqüentemente, esplenomegalia em graus variados. No fígado, as lesões variam conforme a cronicidade da doença, podendo ser inicialmente restritas aos sinusóides, progredindo para área portal e cápsula e podendo se difundir. A histopatologia hepática na LVC normalmente infiltrado inflamatório histiocítico e linfoplasmocítico, lesões degenerativas e congestivas [6,27].

Nas avaliações necroscópicas foram evidenciadas, no caso 1, esplenomegalia associada a inflamação crônica, hepatomegalia associada a edema e congestão e hepatite linfoplasmocitária multifocal leve sub aguda; no caso 2 houve esplenite histiocítica multifocal acentuada, hepatomegalia associada a congestão e hepatite histiocítica multifocal acentuada, além do achado laboratorial de hipoalbuminemia.

A linfadenopatia é relatada por [1] na maioria dos casos de em cães com LV. De acordo com [23,26] essa alteração se deve à presença de infiltrado inflamatório de macrófagos e células plasmáticas, ressaltando a importância da imunidade celular e humoral [39]. No caso 1, observou-se a linfadenomegalia dos linfonodos pré-escapulares, poplíteos e mandibulares e a linfadenite histiocítica associada a rarefação linfóide. O caso 2 apresentou apenas na avaliação macroscópica linfadenomegalia do linfonodo axilar direito.

Dentre as alterações hematológicas, encontrou-se no primeiro caso anemia normocítica normocrômica associada a leucopenia, linfopenia, eosinopenia e trombocitopenia. O segundo caso revelou anemia normocítica hipocrômica associada a linfopenia. O terceiro caso não apresentava quadro de anemia, porém o hemograma acusou trombocitose associada a agregação plaquetária, linfopenia e neutrofilia madura com desvio à direita. As alterações hematológicas mais comuns nos casos de LVC são a anemia não regenerativa, normalmente normocítica normocrômica, e trombocitopenia [25,38]. No estudo de [25], 60% dos cães com LVC apresentavam anemia, destes 47% do tipo normocítica normocrômica. A anemia arregerativa na LVC ocorre em decorrência da invasão da medula óssea pelo parasito capaz de levar a hipoplasia dos eritrócitos [11]. Já a trombocitopenia ocorreu em 53,1% nesse estudo, sendo decorrente de diferentes

eventos patológicos, como a vasculite causada pelos imunocomplexos circulantes, distúrbios na trombocitopoiese e destruição plaquetária [34].

Dentre as alterações na bioquímica sérica descritas na literatura, estão incluídas a azotemia, hiperproteinemia (por ativação dos linfócitos B), hiperglobulinemia e hipoalbuminemia, sendo a hipoalbuminemia e azotemia relatada no segundo caso [17,24,25]. Importante salientar que o valor de creatinina sérica estava aumentado no caso 2; todavia, este valor poderia estar subestimado devido ao baixo escore corporal em virtude da perda de peso e massa muscular que este animal apresentava. Neste caso o mais indicado seria a realização do SDMA, visto que este não está relacionado aos valores de creatinina e portanto não sofre influência da massa muscular.

As alterações pulmonares nos quadros de LVC são incomuns, sendo descrita a pneumonia intersticial crônica, com infiltrado linfoplasmocitário e, ocasionalmente, a presença de macrófagos nos septos alveolares [27]. O paciente do segundo caso apresentou sinais clínicos e alterações pulmonares durante exame físico compatíveis com quadro de pneumonia, sendo esta alteração evidenciada no exame histopatológico por edema multifocal acentuado associado a presença de nódulos nos pulmões.

Os demais sinais clínicos, como a perda de peso e massa muscular, observados nos casos 1 e 2, estão presentes na maioria dos casos de LVC, devido ao desequilíbrio protéico em virtude da proteinúria associada à deficiência imunológica crônica [2].

O diagnóstico da LVC é complexo, sendo necessária a associação entre os parâmetros clínicos, epidemiológicos e laboratoriais para o diagnóstico definitivo [13,14]. A confirmação da enfermidade é feita por meio de exames sorológicos e parasitológicos, em que o Ministério da Saúde (MS) preconiza duas técnicas sorológicas, a primeira de triagem (teste imunocromatográfico - TR DPP® e a segunda (ELISA) confirmatória. O teste parasitológico pode ser associado aos testes sorológicos, sendo aceito o esfregaço de aspirado de medula óssea e aspirado de linfonodo. Além das técnicas sorológicas e parasitológicas, ainda há a técnica molecular (PCR) e a imunológica (imunohistoquímica) realizadas nos cães que apresentam resultado positivo nas técnicas anteriores e que passarão por tratamento, sendo necessário assim acompanhamento e monitoramento durante o tratamento. Os 3

casos clínicos apresentados passaram pelo protocolo de diagnóstico sorológico recomendado pelo MS, sendo no segundo caso ainda realizado o exame parasitológico (citologia aspirativa de punção de linfonodo) [13].

A conduta diante de um resultado positivo para LVC é de eutanásia, com exceção os cães que possuem tutores que desejam realizar o tratamento [13]. No primeiro caso, o proprietário optou pela eutanásia, visto que, em 2016 não existia a possibilidade de tratamento. No segundo caso, apesar do tratamento, o animal veio a óbito e o terceiro caso passou por um ciclo de tratamento com miltefosina e segue com coleira com inseticida/repelente. Como tratamento, a única droga leishmanicida aprovada para tratamento da LVC no Brasil é a miltefosina e uso ininterrupto da coleira impregnada com deltametrina 4%, além de realização de castração, o que também foi realizado neste caso [7,13].

O estadiamento clínico do paciente deve em levado em consideração para a tomada da conduta terapêutica. Níveis de anticorpos e carga parasitária são fatores a serem analisados antes da decisão bem como deve ser feito o acompanhamento desses parâmetros ao longo do tratamento, uma vez que, alguns animais apresentam somente alterações laboratoriais, sem sinais clínicos [8].

Com relação às comorbidades, observou-se que os 3 casos relatados apresentavam alguma comorbidade parasitária, sendo no primeiro caso a dirofilariose, no segundo e terceiro caso a trombocitopenia cíclica canina e ainda no segundo caso a presença do

parasita adulto de *Diocetophyma renale*. Em um estudo comprovou-se a maior incidência de carrapatos *Rhipicephalus sanguineus* em cães com sorologia positiva para LVC quando comparado a cães com sorologia negativa [28], o que contribui significativamente com a maior probabilidade de adquirirem alguma comorbidade parasitária. Além disso, os hábitos de vida e local onde os animais residiam (área rural) contribuem para maior probabilidade de adquirirem outras enfermidades como a dirofilariose e a diocetofimose [22,33].

Em conclusão, este relato descreve os três primeiros casos de Leishmaniose Visceral Canina no município de Curitiba-SC, sendo um caso alóctone e dois autóctones, contribuindo assim com dados clínicos, sorológicos e epidemiológicos da região serrana catarinense.

MANUFACTURERS

¹Allergan Produtos Farmacêuticos Ltda. Guarulhos, SP, Brazil.

²Laboratório Catarinense Ltda. Joinville, SC, Brazil.

³Agener União Distribuidora de Medicamentos Ltda. São Paulo, SP, Brazil.

⁴Merck Sharp & Dohme Saúde Animal Ltda. Montes Claros, MG, Brazil.

⁵Fundação Oswaldo Cruz - Instituto de Tecnologia em Imunobiológicos Bio-Manguinhos. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁶Glaxosmithkline Brasil Ltda. Rio de Janeiro, RJ, Brazil.

⁷Virbac SA. Carros, France.

⁸EMS S/A. Hortolândia, SP, Brazil.

⁹Novartis Biociências S.A. Taboão da Serra, SP, Brazil.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Cruz F.A.C.S., Dahroug M.A.A., Figueiredo F.B. & Madeira M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 21(4): 359-365. DOI: 10.1590/S1984-29612012005000005.
- 2 Alvar J., Canavate C., Molina R., Moreno J. & Nieto J. 2004. Canine leishmaniasis. *Advances in Parasitology*. 57: 1-88. DOI: 10.1016/S0065-308X(04)57001-X.
- 3 Azevedo R.C.F. & Marcili A. 2020. Alterações cutâneas secundárias à infecção por *Leishmania* sp.: revisão de literatura. *Brazilian Journal of Development*. 6(4): 19328-19346. DOI: 10.34117/bjdv6n4-195.
- 4 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 in Parasitology*. 7(24): 324-330. DOI: 10.1016/j.pt.2008.04.001.
- 5 Barbosa V.T., Silva M.A.G., Sousa M.G., Gering A.P., Santos H.D. & Laus J.L. 2012. Detecção de formas amastigotas em exame parasitológico de esfregaço obtido a partir de suabe conjuntival de cães com leishmaniose visceral. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 64(6): 1465-1470. DOI: 10.1590/S0102-09352012000600009.
- 6 Barros R.M. 2011. Caracterização Histopatológica da Leishmaniose Visceral Canina no Distrito Federal. 103f. Brasília, DF. Tese (Mestrado em Saúde Animal) - Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Brasília.
- 7 Brasil. MAPA. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários. 2016. NOTA TÉCNICA Nº 11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA. PROCESSO Nº 21000.042544/2016-

94. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-11-2016-cpv-dfip-sda-gm-mapa-de-1-09-2016.pdf/view>
- 8 Brasileish. 2018.** Diretrizes para o diagnóstico, estadiamento, tratamento e prevenção da Leishmaniose Canina. Disponível em: https://www.brasileish.com.br/assets/files/DIRETRIZES_Brasileish_2.pdf.
- 9 Conselho Regional de Medicina Veterinária. 2015.** Manual Técnico de Leishmanioses Caninas Leishmaniose Tegumentar Americana e Leishmaniose Visceral. 2015. Disponível em: <https://www.crmv-pr.org.br/uploads/publicacao/arquivos/Manual-tecnico-de-leishmanioses-caninas.pdf>
- 10 Costa C.H.N., Tapety C.M.M. & Werneck G.L. 2007.** Controle da leishmaniose visceral em meio urbano: estudo de intervenção randomizado fatorial. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 40(4): 415-419. DOI: 10.1590/S0037-86822007000400009.
- 11 Costa Val A.P., Cavalcanti R.R., Gontijo N.F., Michalick M.S.M., Alexander B., Williams P. & Melo M.N. 2007.** Canine visceral leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. *The Veterinary Journal*. 174(3): 636-643. DOI: 10.1016/j.tvjl.2006.11.006
- 12 Cunha M.C. 2015.** Alterações clínicas e oculares em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*. 108f. Manguinhos, RJ. Dissertação (Mestrado em Medicina Tropical) - Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz.
- 13 Estado de Santa Catarina. Diretoria de Vigilância Epidemiológica. 2018.** Guia de orientação para vigilância de leishmaniose visceral canina (LVC), 2018. Disponível em: http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/publicacoes/Guia_Basico_de_Orientacao_LVC_2018.pdf
- 14 Freitas J.C., Nunes Pinheiro D.C., Neto B., Santos G., Abreu C., Braga R., Campos R.M. & Oliveira L.F. 2012.** Alterações clínicas e laboratoriais em cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 45(1): 24-29. DOI: 10.1590/S0037-86822012000100006.
- 15 Ferrer L., Aisa M.J., Roura X. & Portús M. 1995.** Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. *The Veterinary Record*. 136(20): 514-516. DOI:10.1136/vr.136.20.514.
- 16 Giovaninni L.H. 2015.** Hiperparatireoidismo secundário renal. In: Jericó M.M., Andrade Neto J.P. & Kogika M.M. (Eds). *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. Rio de Janeiro: Roca, pp.4245-4261.
- 17 Gontijo C.M.F. & Melo M.N. 2004.** Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. *Revista Brasileira Parasitologia Veterinária*. 7(3): 338-349.
- 18 Harhay M.O., Olliaro P.L., Costa D.L. & Costa C.H.N. 2011.** Urban Parasitology: visceral leishmaniasis in Brazil. *Trends in parasitology*. 27(9): 403-409. DOI: 10.1016/j.pt.2011.04.001
- 19 IDEXX. IDEXX Reference Laboratories. International Renal Interest Society. 2016.** Como Diagnosticar, Estadiar e Tratar a Doença Renal Crônica em Cães e Gatos. Disponível em: <https://www.idexx.com.br/files/iris-biblioteca-sdma-pt-br.pdf>
- 20 Koutinas A.F. & Koutinas C.K. 2014.** Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Veterinary Pathology Online*. 51(527): 1-13. DOI: 10.1177/0300985814521248
- 21 Koutinas A.F., Polizopoulou Z.S., Saridomichelakis M.N., Argyriadis D., Fytianou A. & Plevraki K.G. 1999.** Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989 - 1996). *Journal of the American Animal Hospital Association* 35(5): 376-383. DOI: 10.5326/15473317-35-5-376.
- 22 Larsson M.H.A. 2015.** Dirofilariose canina. In: Jericó M.M., Andrade Neto J.P. & Kogika M.M. (Eds). *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. Rio de Janeiro: Roca, pp.2206-2255.
- 23 Lima W.G., Michalick M.S.M., Melo M.N., Tafuri W. L. & Tafuri W.L. 2004.** Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica*. 92(1): 43-53. DOI: 10.1016/j.actatropica.2004.04.007.
- 24 Mattos Jr. D.G., Pinheiro J.M., Menezes R.C. & Costa D.A. 2004.** Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 56(1): 119-122. DOI: 10.1590/S0102-09352004000100019.
- 25 Medeiros C.M.O., Melo A.G.C., Lima A.K.F., Silva I.N.G., Oliveira L.C. & Silva M.C. 2008.** Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. *Ciência Animal*. 18(1): 43-50.
- 26 Moreira P.R.R., Bandarra M.B., Magalhães G.M., Munari D.P., Machado G.F., Pandrini M.M., Alessi A.C. & Vasconcelos R.O. 2013.** Influence of apoptosis on the cutaneous and peripheral lymph node inflammatory response in dogs with visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*. 192(1): 149-157. DOI: 10.1016/j.vetpar.2012.09.029

- 27 Nogueira E.S. & Ribeiro V.M. 2015. Leishmaniose visceral. In: Jericó M.M., Andrade Neto J.P. & Kogika M.M. (Eds). *Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos*. Rio de Janeiro: Roca, pp.2206-2255.
- 28 Paz G.F., Ribeiro M.F.B., Magalhães D.F., Sathler K.P.B., Morais M.H.F., Fiúza V.O.P., Brandão S.T., Werneck G.L., Fortes Dias C.L. & Dias E.S. 2010. Association between the prevalence of infestation by *Rhipicephalus sanguineus* and *Ctenocephalides felis felis* and the presence of anti-*Leishmania* antibodies; a case-control study in dogs from a Brazilian endemic area. *Preventive Veterinary Medicine*. 97(2): 131-133. doi.org/10.1016/j.prevetmed.2010.08.006
- 29 Perego R., Proverbio D., Giorgi G.B. & Spada E. 2014. Prevalence of Dermatological Presentations of Canine Leishmaniasis in a Nonendemic Area: A Retrospective Study of 100 Dogs. *Veterinary Medicine International*. 21: 1-5. DOI: 10.1155/2014/374613
- 30 Queiroz N.M.G.P., Assis J., Oliveira T.M.F.S., Machado R.Z., Nunes C.M. & Starke-Buzetti W.A. 2010. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online)*. 19(1): 32-38. DOI: 10.4322/rbpv.01901006.
- 31 Quinnell R.J., Courtney O., Garcez L.M., Kaye P.M., Shaw M.A., Dye C. & Day M.J. 2003. IgG subclass responses in a longitudinal study of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 91(3-4): 161-168. DOI:10.1136/vr.136.20.514.
- 32 Ramsey I.K., Gunn-Moore D. & Shaw S. 2010. Sistema hematopoético e linforreticular. In: Ramsey I.K. & Tennant B.J. (Eds). *Manual de Doenças Infeciosas em Cães e Gatos*. São Paulo: Roca Editora, pp.90-93.
- 33 Rappeti J.C.S., Mascarenhas C.S., Perera S.C., Müller G., Grecco F.B., Silva L.M.C., Sapin C.F., Rausch S.F.M. & Cleff B. 2017. *Dioctophyma renale* (Nematoda: Enoplida) in domestic dogs and cats in the extreme south of Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology*. 26(1): 119-121. DOI: 10.1590/S1984-29612016072.
- 34 Russel K. E. 2010. Platelet kinetics and laboratory evaluation of thrombocytopenia. In: Weiss D.J. & Wardrop K.J. (Eds). *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th edn. Ames: Blackwell Publishing, pp.576-586.
- 35 Saridomichelakis M.N. 2009. Advances in the pathogenesis of canine leishmaniasis: epidemiologic and diagnostic implications. *Veterinary Dermatology*. 20(5-6): 471-489. DOI:10.1111/j.1365-3164.2009.00823.x.
- 36 Solano-gallego L., Llull J., Ramis A., Fernandez-Bellon H., Rodriguez A., Ferrer L. & Alberola J. 2005. Longitudinal study of dogs living in an area of Spain highly endemic for leishmaniasis by serologic analysis and the leishmanin skin test. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 72(6): 815-818.
- 37 Thrall M.A., Baker D.C., Campbell T.W., DeNicola D., Fettman M.J., Lassen E.D., Rebar A. & Weiser G. 2015. *Hematologia e Bioquímica Clínica Veterinária*. 2.ed. São Paulo: Roca, pp.108-119.
- 38 Torres-Guerrero E., Quintanilla-Cedillo M.R., Ruiz-Esmenjaud J. & Arenas R. 2017. Leishmaniasis: a review. *F1000 Research*. 6: 750. DOI: 10.12688/f1000research.11120.1.
- 39 Weiss D.J. 2010. Chronic inflammation and secondary myelofibrosis. In: Weiss D.J. & Wardrop K.J. (Eds). *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th edn. Ames: Blackwell Publishing, pp.112-118.
- 40 World Health Organization. 2010. Expert Committee on the Control of the Leishmaniasis. Control of the leishmaniasis: report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva. (WHO-Technical Report Series, 949). 202p. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/44412>
- 41 Xavier Jr. F.A.F., Silva F.M.O., Morais G.B., Barbosa K.D.S.M., Freitas V.M.L., Silva I.N.G., Viana D.A. & Evangelista J.S.A.M. 2016. Caracterização das alterações morfológicas em rins de cães soropositivos para leishmaniose visceral. *Revista Ciência Animal*. 26(3): 24-36.