

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TATIANE NEVES POOLI

**Leishmaniose visceral canina:** Estudo de casos em cães domésticos,  
durante o ano de 2023, no Serviço de Patologia Animal do Hospital  
Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo

São Paulo

2024

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA  
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

TATIANE NEVES POOLI

**Leishmaniose visceral canina:** Estudo de casos em cães domésticos,  
durante o ano de 2023, no Serviço de Patologia Animal do Hospital  
Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da  
Universidade de São Paulo

Monografia apresentada como Trabalho de  
Conclusão do Programa de Residência em  
Área Profissional da Saúde – Modalidade  
Uniprofissional: Anatomia Patológica  
Veterinária do Hospital Veterinário da  
Faculdade de Medicina Veterinária e  
Zootecnia da Universidade de São Paulo.

**Orientador:**

Prof. Dr. Frederico Azevedo da Costa Pinto

São Paulo

2024

## FOLHA DE AVALIAÇÃO

Autor: Pooli, Tatiane Neves

Título: Leishmaniose visceral canina: Estudo de casos em cães domésticos, durante o ano de 2023, no Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo

Monografia apresentada como Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Modalidade Uniprofissional: Anatomia Patológica Veterinária do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

### Banca Examinadora

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Instituição: \_\_\_\_\_ Julgamento: \_\_\_\_\_

## **AGRADECIMENTOS**

*Agradeço aos meus pais, Márcia e Celso, e ao meu irmão, César, por me apoiarem nas minhas escolhas e me darem muito amor e carinho.*

*Agradeço ao meu parceiro de vida, Gabriel, que sempre me incentivou e acreditou em mim.  
Agradeço, também, a sua família, a qual sempre me acolheu.*

*Agradeço aos amigos e colegas que fiz durante esse processo, Ana Flávia, Artur, Natalia e Carol, com os quais as 12h de serviço passavam mais rápido, eram mais engraçadas e leves.*

*Agradeço aos meus amigos da turma de residentes 2023, Adriano, Aline, Caio, Enrico, Gabi, Giovanna, Isabella, Júlia, Letícia, Livia e Victor, que compartilhavam comigo o que acontecia fora das terras da patologia.*

*Agradeço a todos os professores que atuaram nessa fase: Claudia Momo, Lilian Sá, José Catão, Maria Lucia e, ao meu orientador, Frederico Costa, os quais tiveram muita paciência durante o processo de aprendizagem.*

*Agradeço à minha preceptora, Ana Paula, pelas transmissões de conhecimento, reflexões e experiências pessoais.*

*Aos técnicos Raymundo e Edson, que me auxiliaram em muitas necropsias. Ao técnico Mauro, que sempre atendeu aos meus pedidos de última hora. Às secretárias Vilma e Juliana, por aliviarem a tensão diária. Ao Jorge, que sempre foi solícito, mesmo não sendo do serviço de patologia.*

## RESUMO

POOLI, T. N. Leishmaniose visceral canina: Estudo de casos em cães domésticos, durante o ano de 2023, no Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. 2024. 71 f. Trabalho de Conclusão do Programa de Residência em Área Profissional da Saúde – Modalidade Uniprofissional: Anatomia Patológica Veterinária do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, 2024.

A leishmaniose é uma zoonose amplamente difundida, causada por protozoários intracelulares obrigatórios do gênero *Leishmania*. Essa enfermidade afeta animais, dentre os quais, cães e seres humanos e a forma visceral é letal quando não tratada. O objetivo do trabalho foi realizar uma breve revisão de literatura, ressaltando a epidemiologia da doença, o seu ciclo biológico, destacando a participação do cão doméstico, manifestações clínicas, diagnóstico e tratamento. Foram selecionados três casos de leishmaniose visceral em cães domésticos, do Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Faculdade de Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, para que fosse realizada análise das alterações *ante e post-mortem*, macro e microscópicas, correlacionando com os achados histopatológicos relatados em literatura. Os três animais apresentaram padrões de lesões relatados e formas amastigotas de *Leishmania* sp. em diversos órgãos; no cão do caso 1, foram observadas amastigotas intracitoplasmáticas em medula óssea, linfonodo, baço, fígado, pele, intestino delgado, córnea, pâncreas, musculatura, tecido subcutâneo e rim. No cão do caso 2, em baço, linfonodo, medula óssea, coração e pele e, no cão do caso 3, em baço, fígado, linfonodo, adrenal, rim e pele. Dessa maneira, é necessário que o médico-veterinário patologista consiga correlacionar as informações sobre o histórico do animal, manifestações clínicas, achados em exames laboratoriais com os achados histopatológicos, para facilitar sua interpretação diagnóstica, uma vez que há lesões comumente encontradas em cães doentes, porém, sem a forma amastigota intracelular.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral. Histopatologia. Amastigota. Cães. *Leishmania infantum*.

## ABSTRACT

POOLI, T. N. Canine visceral leishmaniasis: Study of cases in domestic dogs, during the year 2023, at the Animal Pathology Service of the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo. 2024. 71 f. Conclusion Work of the Professional Residency Program in Health Area - Uniprofessional Modality: Veterinary Pathological Anatomy at the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo, 2024.

Leishmaniasis is a widely spread zoonosis caused by obligatory intracellular protozoa of the genus *Leishmania*. This disease affects various animals, including dogs and humans, and the visceral form can be fatal if untreated. The aim of this study was to conduct a brief literature review highlighting the epidemiology of the disease, its lifecycle, the role of domestic dogs, clinical manifestations, diagnosis, and treatment. Three cases of canine visceral leishmaniasis from the Veterinary Pathology Service of the Veterinary Hospital of the Faculty of Veterinary Medicine and Animal Science of the University of São Paulo were selected for analysis of *ante-* and *post-mortem* alterations, both macro and microscopic, correlating with histopathological findings reported in the literature. All animals exhibited patterns of lesions that were reported and forms of *Leishmania* sp. amastigotes in various organs; in the dog from case 1, intracellular amastigotes were observed in bone marrow, lymph node, spleen, liver, skin, small intestine, cornea, pancreas, muscle, subcutaneous tissue, and kidney. In the dog from case 2, amastigotes were found in the spleen, lymph node, bone marrow, heart, and skin and, in the dog from case 3, spleen, liver, lymph node, adrenal gland and skin. Therefore, it is essential for the veterinary pathologist to correlate the patient history, clinical manifestations, laboratory findings, and histopathological results to facilitate diagnostic interpretation, as there are lesions commonly found in sick dogs, albeit without the intracellular amastigote form.

Keywords: Visceral leishmaniasis. Histopathology. Amastigote. Dogs. *Leishmania infantum*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo biológico da <i>Leishmania</i> sp. ....	18
Figura 2. Exame citológico e histopatológico da medula óssea .....	34
Figura 3. Exame histopatológico do linfonodo poplíteo.. ....	34
Figura 4. Exame histopatológico do baço. ....	35
Figura 5. Exame histopatológico do pulmão e coração. ....	36
Figura 6. Exame histopatológico do rim. ....	37
Figura 7. Exame histopatológico do fígado .....	38
Figura 8. Exame histopatológico do intestino delgado e do pâncreas. ....	39
Figura 9. Exame histopatológico do olho. ....	39
Figura 10. Exame histopatológico da pele, tecido subcutâneo e musculatura sobrejacentes à articulação coxofemoral direita. ....	40
Figura 11. Exame externo.....	45
Figura 12. Exame interno.....	45
Figura 13. Exame citológico e histopatológico da medula óssea. ....	48
Figura 14. Exame histopatológico do linfonodo mesentérico.....	49
Figura 15. Exame histopatológico do baço. ....	49
Figura 16. Exame histopatológico do pulmão e coração. ....	50
Figura 17. Exame histopatológico do fígado e do intestino delgado.....	50
Figura 18. Exame histopatológico do rim. ....	51
Figura 19. Exame histopatológico do encéfalo.....	51
Figura 20. Exame histopatológico da pele e do tecido subcutâneo. ....	52
Figura 21. Exame histopatológico da pele de pavilhão auricular. ....	57
Figura 22. Exame histopatológico do baço. ....	58
Figura 23. Exame histopatológico do linfonodo.....	58
Figura 24. Exame histopatológico do fígado. ....	59
Figura 25. Exame histopatológico do coração e do pulmão. ....	59
Figura 26. Exame histopatológico do intestino e do pâncreas.....	60
Figura 27. Exame histopatológico da adrenal e rim. ....	60
Figura 28. Exame imuno-histoquímico.....	61

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Principais características das espécies de <i>Leishmania</i> spp. que causam leishmaniose visceral.....	14
Quadro 2. Exame de eritrograma do paciente do caso 1, realizado em 09/05/2023 .....	28
Quadro 3. Exame de leucograma do paciente do caso 1, realizado em 08/05/2023 .....	28
Quadro 4. Exame de coagulograma do paciente do caso 1, realizado em 09/05/2023 .....	28
Quadro 5. Exame de bioquímica sérica do paciente do caso 1, realizado em 10/05/2023 ...	29
Quadro 6. Exame de teste de imunodiagnóstico - SNAP 4DX do paciente do caso 2, realizado em 08/05/2023 .....	29
Quadro 7. Exame de eritrograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023 .....	41
Quadro 8. Exame de leucograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023 .....	42
Quadro 9. Exame de coagulograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023 .....	42
Quadro 10. Exame de bioquímica sérica do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023 .	42
Quadro 11. Exame de teste de imunodiagnóstico do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023.....	43



## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. OBJETIVOS .....	11
3. REVISÃO DE LITERATURA .....	12
3.1. Epidemiologia.....	12
3.2. Agente etiológico.....	13
3.3. Reservatórios .....	15
3.4. Vetores.....	16
3.5. Transmissão.....	17
3.6. Patogenia .....	18
3.7. Manifestações clínicas .....	19
3.8. Diagnóstico .....	22
3.9. Tratamento.....	23
3.10. Prevenção .....	23
3.11. Medidas de controle .....	24
4. MATERIAL E MÉTODOS.....	26
5. RESULTADOS.....	27
5.1. Caso 1.....	27
Histórico .....	27
Exames complementares .....	27
Exame necroscópico .....	29
5.2. Caso 2.....	41
Histórico .....	41
Exames complementares .....	41
Exame necroscópico .....	43
5.3. Caso 3.....	53
Histórico .....	53
Exame necroscópico .....	53
5.4. Exame imuno-histoquímico dos casos .....	61
6. DISCUSSÃO.....	62
7. CONCLUSÕES.....	66
REFERÊNCIAS.....	67

## 1. INTRODUÇÃO

Leishmaniose é uma zoonose amplamente disseminada, causada pelo gênero *Leishmania*, constituído por protozoários intracelulares obrigatórios (Mann et al. 2021). O seu ciclo biológico é complexo e inclui diferentes espécies de parasitas, reservatórios e vetores (Pan American Health Organization 2019). Em humanos e cães, podem comprometer a pele, as mucosas e vísceras (Jambulingam et al. 2017; Baneth et al. 2022).

A forma mais letal da leishmaniose, e tema deste trabalho, é a leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar ou barriga d'água (Brasil. Ministério da Saúde 2014). É uma enfermidade sistêmica que afeta, principalmente, fígado, baço e sistemas hematológico e linfático (Baneth et al. 2008; Brasil. Ministério da Saúde 2014; Mann et al. 2021).

A leishmaniose visceral faz parte do grupo de Doenças Tropicais Negligenciadas (DTNs), no qual há mais de vinte doenças e agravos, cuja ocorrência está relacionada a desigualdade e vulnerabilidade social, econômica e ambiental de comunidades e pessoas, principalmente, em áreas tropicais e subtropicais (Brasil. Ministério da Saúde 2018). Como consequência, há perpetuação da precariedade das condições de vida e saúde e aumento da ocorrência da enfermidade em territórios não endêmicos, em virtude da globalização e, também, das mudanças climáticas (Molyneux et al. 2017; Brasil. Ministério da Saúde 2024).

O aumento dos casos de LV no país é resultante da adaptação da transmissão rural para urbana, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste; 15% dos casos do país são representados por Belo Horizonte (Minas Gerais), Araguaína (Tocantins), Campo Grande (Mato Grosso do Sul), Bauru (São Paulo) e Palmas (Tocantins) (Thomaz-Soccol et al. 2018).

Como o cão é o reservatório principal da *Leishmania infantum*, principal causadora da LV no Brasil (Burza et al. 2018), o estudo dessa enfermidade nesses animais é de extrema importância para a saúde pública.

## **2. OBJETIVOS**

O objetivo deste trabalho é realizar breve revisão de literatura para evidenciar a leishmaniose visceral no contexto de Uma Só Saúde, a importância do cão na manutenção dessa enfermidade, as medidas de prevenção adotadas no Brasil e comparar os achados anatomopatológicos em cães descritos na literatura com os encontrados no Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo.

### 3. REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1. Epidemiologia

Segundo a Organização Mundial da Saúde (World Health Organization – (WHO) 2023), dentre os fatores de risco para a leishmaniose visceral, estão:

- Condições socioeconômicas: a falta de saneamento básico e a gestão inadequada de resíduos favorecem a reprodução dos flebotomíneos. Além disso, um maior número de pessoas em um mesmo domicílio atrai esses insetos, enquanto o hábito de dormir ao ar livre aumenta o contato entre esses e humanos;
- Má-nutrição: a ingestão reduzida de nutrientes essenciais como proteínas, vitamina A, ferro e zinco pode resultar na progressão da infecção para a forma de doença;
- Mobilidade populacional: o deslocamento de indivíduos sem imunidade para áreas com alta taxa de transmissão pode resultar em surtos da doença;
- Mudanças ambientais: a incidência da doença aumenta com a ocorrência de desmatamento e urbanização;
- Mudanças climáticas: alterações na temperatura e nos padrões de precipitação afetam a distribuição e a densidade populacional dos flebotomíneos.

Em 2015, 90% dos casos de leishmaniose visceral foram reportados em sete países, sendo eles Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão e Sudão do Sul, porém, é uma afecção endêmica em mais de 60 países (Burza et al. 2018). A incidência global da LV diminuiu de 200.000 a 400.000 novos casos em 2012, para 50.000 a 90.000 em 2017 (World Health Organization (WHO) 2023). Em 2005, Índia, Nepal e Bangladesh, que detinham 50% dos casos de LV no mundo, comprometeram-se a eliminar a doença como problema de saúde pública até 2015 (Burza et al. 2018).

O Brasil reporta mais de 99% dos estimados 3.500 casos anuais na América Latina. Do total de 583.960 casos de DTNs registrados no quinquênio 2016-2020, 8,2%, ou seja, 47.609 casos, foram de LV, a qual foi registrada em 53,3% dos municípios brasileiros (N=2.970), ressaltando-se sobreposição com hanseníase, leishmaniose tegumentar, esquistossomose e acidente ofídico; nesse mesmo período, as leishmanioses foram responsáveis por 2.261 óbitos (Brasil. Ministério da Saúde 2024).

Em relação à população indígena, o Ministério da Saúde (2022) informa os

casos de acordo com os dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN) e do Sistema de Informação da Atenção à Saúde Indígena (SIASI).

Pelo SINAN, no período de 2015 a 2019, 225 novos casos foram confirmados, 1,4% do total de casos de LV registrados no mesmo período no país (16.448). 44,4% foram registrados no estado do Maranhão, seguido dos estados de Roraima (13,8%) e Minas Gerais (11,1%). De maneira geral, as crianças menores de cinco anos foram as mais acometidas no período, sendo que, a faixa etária de 1 a 4 anos representa 37,8% dos casos e, os menores de um ano de idade, 22,2%. 63,1% dos casos evoluíram para a cura clínica e foram registrados 21 óbitos por LV no mesmo período.

Já o SIASI registrou 167 casos de LV em populações indígenas, de 2015 a 2019, 35,3% registrados no Distrito Sanitário Especial Indígena (DSEI) Maranhão, seguido dos DSEIs Leste de Roraima e Pernambuco, com 14,4% e 12,6%. Os casos de LV atendidos pelo Subsistema de Atenção à Saúde Indígena (SASISUS) foram, principalmente, de crianças menores de 5 anos de idade (43,7%). Nesse mesmo período, foram registrados 25 óbitos por LV.

Em relação a cães, o número desses animais infetados na América do Sul é estimado em milhões; no Brasil, a alta prevalência da infecção em cães está associada ao risco da LV em humanos (Werneck et al. 2006).

Em estudo realizado por Oliveira et al. (2021), no estado de Sergipe, onde, anualmente, são registrados 70 casos de LV em humanos, obteve-se 34,69% (162) de positividade para LV em 467 cães avaliados. As maiores taxas de positividade foram em cães de caça (54%) e em cães de guarda (42,14%). Em contrapartida, a maior percentagem de cães sintomáticos foi observada em animais errantes (85%).

### 3.2. Agente etiológico

O agente causador da leishmaniose é um protozoário pertencente à Família *Trypanosomatidae* e ao gênero *Leishmania*, que abrange, aproximadamente, 22 espécies patogênicas para os seres humanos (Pan American Health Organization 2019). Essas espécies são categorizadas nos subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, e apresentam diferentes tropismos: visceral, cutâneo ou mucoso (Herwaldt 1999).

No caso da leishmaniose visceral, que é a forma sistêmica, mais grave dentre as leishmanioses e fatal quando não tratada, os agentes etiológicos são *L. donovani* na Ásia e na África e *L. infantum* (sinônimo da *L. chagasi*) na Bacia do Mediterrâneo, Oriente Médio, Ásia Central, América do Sul e América Central (Burza et al. 2018).

Quadro 1. Principais características das espécies de *Leishmania* spp. que causam leishmaniose visceral.

	Subgênero	Forma clínica	Principais manifestações clínicas	Progressão natural	Grupos de risco	Principais reservatórios	Regiões com grande ocorrência	Estimativa da incidência anual no mundo	
	<b>L. infantum</b>	Leishmania	LV e LC	LV: febre persistente, esplenomegalia LC: nódulos isolados e mínima inflamação	LV: fatal em 2 anos sem tratamento LC: cura espontânea dentro de 1 ano	LV: crianças com menos de 5 anos e adultos LC: crianças e jovens adultos	Cães, humanos e lebres	LV: China, sul da Europa, Brasil e América do Sul LC: América Central	LV: 6.200-12.000 casos no Velho Mundo e 4.500-6.800 casos no Novo Mundo LC: número de casos desconhecido
	<b>L. donovani</b>	Leishmania	LV e LDPC	LV: febre persistente, esplenomegalia, perda de peso e anemia LDPC: múltiplas máculas, pápulas ou lesões nodulares não dolorosas	LV: fatal em 2 anos sem tratamento LDPC: cura espontânea em 85% dos casos na África, porém, raramente na Ásia	LV: adolescentes e crianças LDPC: crianças	Humanos	Índia, Bangladesh, Etiópia, Sudão e Sudão do Sul	LV: 50.000-90.000 LDPC: número de casos desconhecido
	<b>L. tropica</b>	Leishmania	LC, raramente, LV	Lesões não dolorosas, não ulceradas e, frequentemente, múltiplas	Lesões com cura espontânea dentro de 1 ano	Não é bem definido	Humanos	Mediterrâneo Oriental, Oriente Médio e nordeste e sul da África	200.000-400.000

Fonte: adaptado de Burza et al. (2018). LV = leishmaniose visceral. LC = leishmaniose cutânea. LDPC = leishmaniose dérmica pós-calazar.

A espécie *L. tropica* que, geralmente, provoca leishmaniose cutânea, foi identificada em militares que apresentaram sintomas sistêmicos durante o conflito do Golfo Pérsico na década de 1990 (Centers for Disease Control 1992). Ademais, a *L. amazonensis* é considerada suspeita de casos de LV (Herwaldt 1999).

O agente possui ciclo de vida heteroxênico e sua forma varia nos diferentes hospedeiros. A forma promastigota é extracelular, mede entre 20 e 30 µm, é alongada e se movimenta no intestino dos insetos vetores por meio de flagelo. Em contraste, a forma amastigota é intracelular, mede de 2 a 5 µm, é arredondada e desprovida de flagelo; multiplica-se no interior das células do sistema mononuclear fagocítico, principalmente macrófagos. Ambas as formas do parasita se reproduzem por fissão binária e possuem uma única mitocôndria modificada, conhecida como cinetoplasto (Pan American Health Organization 2019).

### 3.3. Reservatórios

Reservatórios são animais vertebrados que perpetuam o ciclo da transmissão por manter o parasita na natureza e permitir que os vetores sejam infectados por eles. Em geral, há um reservatório principal para cada espécie de *Leishmania* em cada foco, porém, outros animais podem ser infectados e se tornarem reservatórios secundários acidentais; os reservatórios podem ou não desenvolver a doença e apresentar manifestações clínicas (Pan American Health Organization 2019; Mann et al. 2021).

Os reservatórios podem ser animais domésticos e selvagens e, no caso da *L. donovani*, responsável pela LV na Índia, o principal reservatório é o ser humano, enquanto os cães são o reservatório mais importante para *L. infantum* (Burza et al. 2018). No Brasil, animais silvestres como raposa-do-campo (*Dusicyon vetulus*), cachorro-do-mato (*Cerdocyon thous*) e gambá-de-orelha-branca (*Didelphis albiventris*) também podem assumir esse papel no ciclo biológico (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

A infecção em cães é mais prevalente do que em humanos e a enzootia canina tem precedido a ocorrência nos homens (Brasil. Ministério da Saúde 2014). As infecções em gatos, canídeos selvagens e equinos foram reportadas em áreas onde a doença é prevalente em cães (Solano-Gallego et al. 2009a). Isso pode ocorrer pois, os cães, geralmente apresentam grande quantidade de protozoários cutâneos, de maneira que a ingestão desses pelos flebotomíneos é facilitada (Otranto and Dantas-

Torres 2013).

### 3.4. Vetores

A *Leishmania spp.* é transmitida por, aproximadamente, 70 tipos de flebotomíneos, que são dípteros hematófagos da Família *Psychodidae*, cujos gêneros são divididos em *Phlebotomus*, que ocorre no Velho Mundo (Ásia, Oriente Médio, África e Sul da Europa) e *Lutzomyia*, no Novo Mundo (Estados Unidos da América, México, Américas Central e do Sul) (Pan American Health Organization 2019). Os flebotomíneos completam o seu ciclo de vida durante o ano todo em áreas tropicais e, em áreas subtropicais, apenas em meses quentes (Pan American Health Organization 2019).

No Brasil, duas espécies são consideradas vetores da doença: *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, que recebem nomes populares como mosquito palha, tatuquira e birigui; a *Lu. longipalpis* é a principal transmissora da *L. infantum* e sua distribuição pelo país é ampla (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

Originalmente, a *Lu. longipalpis* era encontrada em regiões de matas nas regiões Norte e Nordeste. Entretanto, o inseto adaptou-se ao ambiente rural e, principalmente na região Sudeste, ao ambiente urbano no final da década de 80, de maneira que é encontrado no intra e peridomicílio, em galinheiros, chiqueiros, canis, entre outros ambientes (Brasil. Ministério da Saúde 2014; Thomaz-Soccol et al. 2018).

A proporção dessa espécie entre outras da subfamília *Phlebotominae* aumenta conforme há alterações antrópicas no ambiente (Salomon 2021). Thomaz-Soccol et al. (2018) notaram maior distribuição espacial de *Lu. longipalpis* em regiões em transição rural-urbana, nas quais há restos de vegetação, detritos e animais como roedores, cães e galinhas. Em Barcarena, município do estado do Pará, Oliveira et al. (2011) capturaram 500 indivíduos da espécie *Lu. longipalpis* e apenas 13 de outras espécies de flebotomíneos em borda florestal, onde a vegetação natural fora recentemente removida para a construção de habitações humanas; isso sugere que *Lu. longipalpis* é mais adaptável a áreas com alterações antrópicas do que outras espécies de flebotomíneos.

Os adultos de *Lu. longipalpis* podem repousar nas casas das pessoas e nos abrigos dos animais durante o dia e, apresentam-se ativos no período crepuscular e noturno (Brasil. Ministério da Saúde 2014). As fêmeas são hematófagas obrigatórias e os repastos sanguíneos sequenciais aumentam a quantidade de formas infecciosas



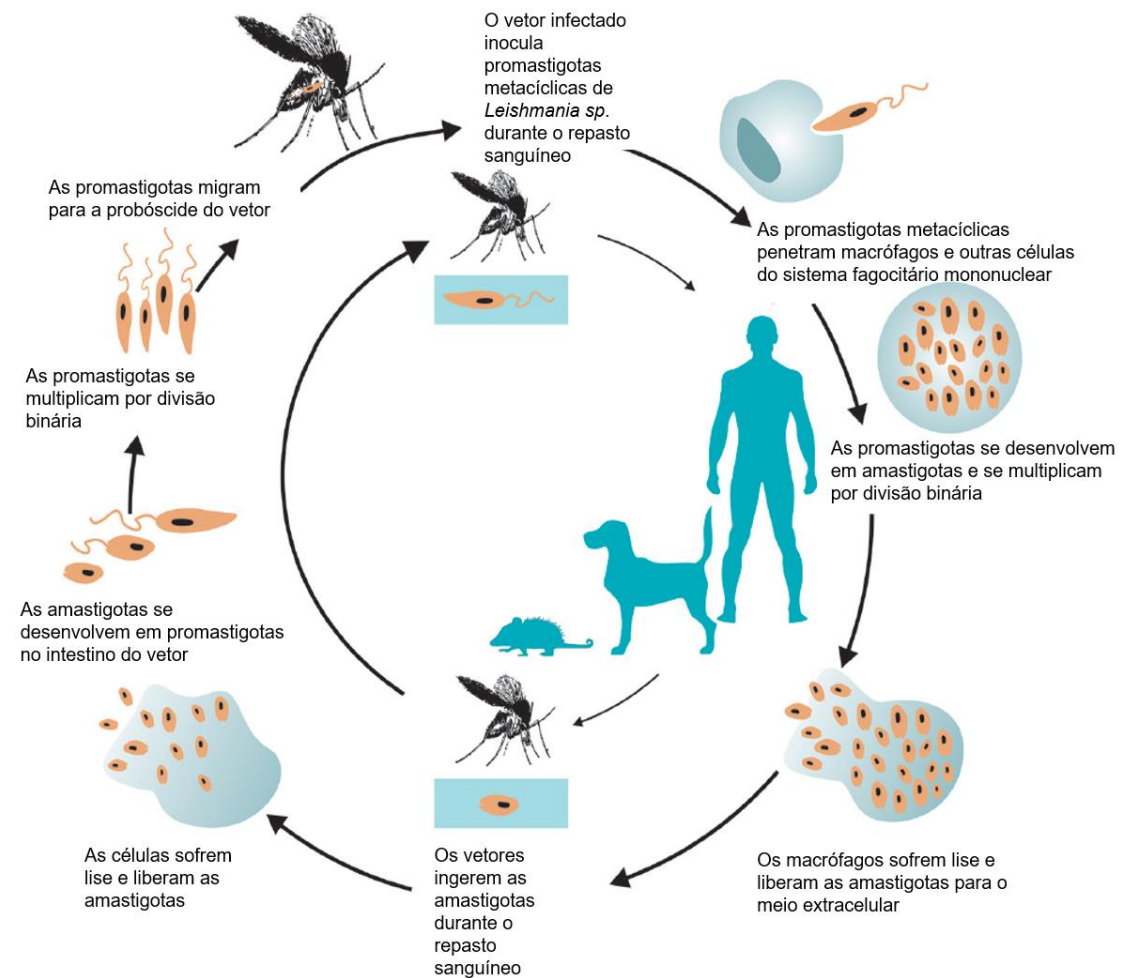
em seu intestino (Sousa-Paula et al. 2020). Como são insetos pequenos, que medem de 1,0 a 3,0 mm de comprimento e voam silenciosamente, geralmente, não são vistos e nem ouvidos pelos seus alvos (Brasil. Ministério da Saúde 2014; Pan American Health Organization 2019).

Devido à adaptação do vetor aos ambientes intra e peridomiciliar, ele realiza sua alimentação em diversos animais, como cães, gatos, suínos, caprinos, ovinos, equinos, galinhas e animais sinantrópicos (por exemplo, ratos); a maioria dos animais citados são potenciais reservatórios de *Leishmania* (Dias et al. 2003; Camargo-Neves et al. 2007; Sant'Anna et al. 2008; Afonso et al. 2012). As galinhas são refratárias à infecção por *Leishmania*, porém, contribuem para a manutenção do vetor no ambiente por serem uma fonte de alimento (Sant'anna et al. 2010).

### 3.5. Transmissão

O ciclo de transmissão da *Leishmania* pelos vetores ocorre da seguinte forma: o vetor se infecta ao ingerir, juntamente com o sangue dos animais contaminados, macrófagos parasitados por formas amastigotas da *Leishmania* sp. No trato digestivo, há rompimento dos macrófagos com liberação dessas formas e diferenciação em promastigotas, que se reproduzem por divisão binária. Essas migram para a probóscide e se diferenciam nas formas infectantes, que são as promastigotas metacíclicas. O ciclo do protozoário no inseto tem duração de 72 horas. Quando o flebotomíneo infectado se realiza um novo repasto sanguíneo, há liberação das promastigotas metacíclicas juntamente com sua saliva. Na epiderme do hospedeiro, essas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos, ocorrendo a liberação destas formas que serão fagocitadas por novos macrófagos num processo contínuo, ocorrendo, então, a disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (Brasil. Ministério da Saúde 2014; Pan American Health Organization 2019) (Figura 1).

Figura 1. Ciclo biológico da *Leishmania* sp.



Fonte: Adaptado de Pan American Health Organization (2019)

Menos comumente, a leishmaniose pode ser transmitida por transplante de órgão (Basset et al. 2005), transfusão sanguínea (Dey and Singh 2006), congenitamente (Eltoum et al. 1992), acidente em laboratório (Herwaldt 2001) e por compartilhamento de agulha para uso substâncias por via intravenosa (Alvar et al. 1997).

Atualmente, tem-se a hipótese de transmissão vertical e sexual de *L. infantum* entre cães, já que há detecção desse protozoário nos órgãos do sistema reprodutivo de fêmeas e machos, e no esmegma e sêmen (Evangelista et al. 2022). Há, também, a hipótese de transmissão entre a população canina por meio da ingestão de carrapatos infectados, mordeduras e ingestão de vísceras contaminadas (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

### 3.6. Patogenia

A evolução da LV depende da interação do vetor (picadas sucessivas), do parasita (virulência) e do hospedeiro (comorbidades, resposta imunológica) (Koutinas and Koutinas 2014).

Tanto em cães quanto em humanos, são ativadas as vias imunológicas dos linfócitos T *helper* 1 (TH1) e 2 (TH2) e o balanço dessas respostas culmina na progressão da doença ou em sua resolução (Baneth et al. 2008). As citocinas sintetizadas pelos linfócitos TH1 como interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interleucina 2 (IL2) participam da resposta imune celular, de forma que ativam os macrófagos, os quais eliminam o parasita por meio da produção de óxido nítrico e conferem, assim, imunidade protetiva contra LV (Pinelli et al. 1994; Holzmüller et al. 2006a, 2006b).

Os linfócitos T citotóxicos CD8<sup>+</sup> eliminam os macrófagos infectados e esse processo pode estar suprimido em cães com alta carga parasitária, ao contrário do que ocorre em animais assintomáticos, nos quais há prevalência dessas células (Guerra et al. 2009).

Conforme a doença progride, há redução dessa resposta e, assim, diminuição da morte intracelular do protozoário, o que gera o período de incubação de 3 meses até 7 anos e a alteração do estado resistente para susceptível (De Luna et al. 1999; Baneth et al. 2008).

A leishmaniose canina está frequentemente associada à resposta humoral acentuada, a qual não é protetora e pode culminar na deposição de imunocomplexos em tecidos e órgãos, com consequente glomerulonefrite, vasculite, uveíte, miosite e poliartrite (Saridomichelakis 2009).

A densidade parasitária na medula óssea de cães infectados com *Leishmania infantum* correlaciona-se com a maior reatividade das imunoglobulinas anti-*Leishmania* (Reis et al. 2006) e a maior produção de linfócitos B pode estar relacionada à linfadenomegalia, esplenomegalia e hipergamaglobulinemia policlonal (Baneth et al. 2008).

### 3.7. Manifestações clínicas

Os humanos infectados podem não apresentar manifestações clínicas e, em áreas endêmicas, a infecção assintomática é comum (Dos Santos Marques et al. 2017).

Em estudo realizado por Dos Santos Marques et al. (2017), houve 34% de

soroprevalência em crianças de três a dez meses de idade e, durante o período do estudo e um ano após o seu término, nenhuma criança apresentou manifestação clínica associada à LV, à semelhança de outros estudos com longos acompanhamentos de indivíduos infectados (Carneiro et al. 2011).

No caso de infecção por *L. donovani* na Índia, 69% dos pacientes soropositivos exibiram manifestações clínicas da doença dentro de 12 meses (Singh et al. 2002).

Altos títulos de anticorpos são um fator de risco para a progressão para a doença (Burza et al. 2018) e as pessoas infectadas podem desenvolver os sintomas anos depois, quando há quadro de imunossupressão (Ready 2014). Em crianças, principalmente, a desnutrição aguda é associada à maior carga parasitária, entretanto, não se sabe qual fator é a causa e qual é a consequência (Zacarias et al. 2017).

O período de incubação é de, geralmente, duas semanas a oito meses e o início da doença pode ser agudo ou insidioso; a LV é fatal dentro de dois anos quando não tratada, por conta de infecção bacteriana secundária ou anemia grave (Burza et al. 2018).

Segundo Brasil. Ministério da Saúde (2014) e Pan American Health Organization (2019), a evolução clínica da LV pode ser dividida em:

- Período inicial: Essa apresentação é frequentemente confundida com outros quadros infecciosos. O estado geral do paciente está preservado e esse apresenta febre com duração inferior a quatro semanas, discreta esplenomegalia, hepatomegalia pode estar presente ou não, linfadenopatia e palidez mucocutânea. Em áreas endêmicas, esse quadro clínico pode ter duração de 15 dias e evoluir para cura espontânea (forma oligossintomática).
- Período de estado: quadro clínico de, geralmente, mais de dois meses de evolução, com comprometimento do estado geral. Há febre persistente, perda de peso progressiva, anorexia, palidez mucocutânea mais intensa e aumento do volume abdominal por hepatoesplenomegalia
- Período final: a doença evolui progressivamente, com comprometimento mais intenso do estado geral, febre contínua e desnutrição. As manifestações menos frequentes são icterícia, edema nos casos avançados da doença e alterações neurológicas. Podem ocorrer sangramentos e sintomas inespecíficos associados a infecções bacterianas ou virais secundárias. Assim, nessa fase, o paciente pode vir a óbito devido a sangramentos ou infecções secundárias por leucopenia, hipoalbuminemia, trombocitopenia, hipergamaglobulinemia.

A leishmaniose dérmica pós-calazar (LDPC) é uma complicação associada à *L. donovani*, ocorre raramente em infecções pela *L. infantum* e está relacionada à imunossupressão (Stark et al. 2006). Ocorre quando há persistência do parasita na pele mesmo após o tratamento. O paciente apresenta máculas hipopigmentadas e eritema na face e no tronco, que podem se estender para todo o corpo (Burza et al. 2018).

No Brasil, a co-infecção por HIV e LV é maior do que 6% (Brasil. Ministério da Saúde. 2015) e, nesses pacientes, as manifestações são mais graves e atípicas. A leishmaniose atípica disseminada pode estar presente, com maior isolamento do parasita em mucosa gastrointestinal, lavado bronquial, pele sem lesão e sangue (Ejara et al. 2010; Pan American Health Organization 2019).

Em relação à LV em cães, segundo Solano-Gallego et al. (2009b), os autores consideram leishmaniose clínica quando há manifestações clínicas ou alterações laboratoriais e, subclínica, quando não há manifestação clínica e nem alteração em exames laboratoriais.

Em cães, as raças Boxer, Cocker Spaniel, Doberman e Dogue Alemão parecem ser mais suscetíveis ao desenvolvimento da doença (França-Silva et al. 2003) enquanto o Podengo Ibicenco (Ibizan Hound) raramente a desenvolve (Solano-Gallego et al. 2000); nessa raça, há aumento de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$  e menor quantidade de anticorpos anti-*Leishmania* (Martínez-Orellana et al. 2017). Em relação à idade, há maior prevalência em cães de 3 a 6 anos ou com mais de 9 anos de idade (Abranches et al. 1991).

A maioria dos cães apresenta baixo escore de condição corporal, com caquexia, atrofia muscular, palidez das mucosas, linfadenomegalia generalizada, esplenomegalia, hepatomegalia, intolerância a exercícios, prostração, anorexia, lesões cutâneas, como dermatite esfoliativa, nodular, pustular e ulcerativa, principalmente em plano nasal, pavilhão auricular, membros e junções mucocutâneas, alopecia, lesões oculares como uveíte, conjuntivite, blefarite, hiperqueratose nasal e em coxins, onicogrifose, epistaxe (Ciaramella et al. 1997; Koutinas et al. 1999; Baneth et al. 2008).

Nos exames clínicos laboratoriais, são comumente observados:

- Anemia não regenerativa, normocítica, normocrômica, o que pode ser resultado da perda sanguínea, insuficiência renal e a própria natureza infecciosa da doença e o processo infeccioso na medula óssea (Koutinas et al. 1999);

- Hiperglobulinemia, resultante do aumento de imunoglobulinas policlonais, e hipoalbuminemia, pela má-nutrição, insuficiência hepática e renal (Ciaramella et al. 1997; Koutinas et al. 1999);
- Aumento da concentração sérica das enzimas hepáticas por insuficiência hepática (Ciaramella et al. 1997; Koutinas et al. 1999);
- Aumento da concentração sérica de creatinina e proteinúria consequentes à insuficiência renal (Ciaramella et al. 1997; Koutinas et al. 1999).

### **3.8. Diagnóstico**

O exame considerado padrão ouro é a visualização da forma amastigota ou por meio de cultura, de maneira que, em humanos, a sensibilidade é acima de 90% no baço e de 50 a 80% na medula óssea (Burza et al. 2018). Vários testes sorológicos podem ser realizados para o diagnóstico, como testes de aglutinação direta, ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA), imunofluorescência e Western blot. Essas técnicas apresentam alta sensibilidade para a fase aguda da LV. Os anticorpos podem estar presentes em indivíduos assintomáticos infectados, de maneira que, os resultados sorológicos devem ser interpretados segundo o contexto clínico do paciente, principalmente daqueles em regiões endêmicas (Burza et al. 2018).

O método diagnóstico preconizado pelo Ministério da Saúde inclui dois testes sorológicos. Os cães são triados pelo Teste Rápido Dual Path Platform (TR-DPP) e a confirmação se dá por meio do ELISA (EIE®-LVC) (Agonigi 2020). Entretanto, o diagnóstico sorológico apresenta limitações, como falso-negativos por conta da janela imunológica, casos em que os animais são soronegativos, mas PCR positivos e resultados positivos em que não há infecção ativa, apenas exposição ao agente (Dantas-Torres 2018).

Existem diversos protocolos de diagnóstico molecular disponíveis para animais e humanos. Amostras de medula óssea, baço e linfonodos geralmente apresentam maior quantidade do agente, enquanto amostra sanguínea não é recomendada. Amostras de pele podem oferecer resultados variados e outras opções não invasivas incluem swabs conjuntivais e amostras de urina (Dantas-Torres 2018).

Nos casos estudados, foram realizados exames citológicos, histopatológicos e imuno-histoquímicos. A imuno-histoquímica é complementar ao exame histopatológico e possui especificidade de até 100% e sensibilidade de 98% (Queiroz et al. 2010).

### 3.9. Tratamento

No Brasil, os medicamentos utilizados para o tratamento da LV são o Antimoniato de N-Metil Glucamina e a Anfotericina B Lipossomal. O primeiro é a droga de primeira escolha e pode ser administrada a nível ambulatorial; a segunda é a opção no tratamento de gestantes e de pacientes que com contraindicações, toxicidade ou refratariedade relacionada ao uso dos Antimoniais Pentavalentes (Brasil. Ministério da Saúde. 2011).

Para LV canina, a Portaria Interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008, proibiu o uso, em cães, de produtos de uso humano ou produtos não-registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). Em 2017, por meio da Nota Técnica Conjunta nº 001/2016 MAPA/MS, assinada pelo Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento e pelo Ministério da Saúde, foi autorizado o registro do produto Milteforan®, indicado para o tratamento da leishmaniose visceral de cães.

### 3.10. Prevenção

Em relação às medidas de proteção individual, é necessário que as pessoas telem portas e janelas, usem repelentes e não se exponham durante o período de maior atividade do vetor (crepúsculo e a noite).

Para o controle do vetor, como opção, há pulverização de inseticidas de ação residual em locais intradomiciliares, como paredes e teto, e peridomiciliares, como nos abrigos de animais (Rêgo e Soares 2021). Porém, medidas a longo prazo são necessárias, como manejo ambiental para que não haja o favorecimento do desenvolvimento das formas imaturas do vetor. Para isso, é necessária eliminação de resíduos orgânicos, limpeza de terrenos e praças e redução de fontes de umidade (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

Para a redução da doença na população canina, é preciso que haja o controle do número de animais errantes, por meio, por exemplo, de campanhas de castração e de doação responsável. Recomenda-se o uso de telas em canis, abrigos, hospitais veterinários e *pet shops* e o uso de coleira impregnada por deltametrina 4% (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

Há, também, a vacina canina contra *Leishmania sp.*, a qual é uma ferramenta de profilaxia individual e não de estratégia de controle da doença em outros cães e humanos (Agonigi 2020).

### 3.11. Medidas de controle

Para redução do risco de transmissão, das taxas de letalidade e morbidade, há a vigilância epidemiológica no Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV). A vigilância da LV inclui vigilância entomológica e de casos humanos e caninos. A Leishmaniose visceral humana é notificação compulsória, de maneira que todo suspeito deve ser notificado no SINAN (Brasil. Ministério da Saúde 2014).

Em relação aos cães, o Decreto 51.838/1963 - Baixa Normas Técnicas Especiais para o Combate às Leishmanioses determinava “eliminação de animais domésticos doentes” e a eutanásia canina é apontada como medida “recomendada a todos os animais sororreagentes e/ou parasitológico positivo” (Brasil. Ministério da Saúde 2014). Entretanto, atualmente, há resistência contra essa medida por questão ética e científica (Dantas-Torres et al. 2019), uma vez que a eutanásia de cães com LV parece não diminuir a prevalência local da enfermidade, uma vez que há fluxo constante de animais para a população com pouco manejo reprodutivo (Machado et al. 2016).

Para o Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), os cães positivos para LV utilizando Milteforan para o tratamento não precisarão de eutanásia. É necessária reavaliação clínica, laboratorial e parasitológica periódica pelo médico-veterinário e utilização de produtos para repelência do flebotomíneo. Quando excluído o risco de transmissão da LV, a possibilidade de eutanásia será descartada.

No estudo de Sevá et al. (2016), um modelo matemático foi proposto para avaliar a redução da prevalência da LV em regiões endêmicas com as seguintes ações na população canina: encoleiramento com coleiras impregnadas por deltametrina, vacinação e eutanásia de cães soropositivos. Com o uso da coleira em 90% da população canina, a prevalência de soropositivos cães e humanos foi reduzida a zero.

O Ministério da Saúde financiou estudo para avaliação da efetividade do uso, em cães, de coleiras impregnadas com deltametrina 4%. O estudo foi realizado durante o período de 2012 e 2015 em 14 municípios, com encoleiramento de 300 mil cães. Como resultado, houve redução de 50% da prevalência da doença em cães nas áreas de intervenção quando comparadas às áreas controle (Brasil. Ministério da Saúde. 2021).

Dessa maneira, a partir do segundo trimestre de 2021, foram distribuídas 1.009.036 coleiras impregnadas com deltametrina 4%, aos municípios prioritários, classificados como transmissão alta, intensa e muito intensa. Foram contemplados, inicialmente, 133 municípios de 16 estados das regiões Norte, Nordeste, Sudeste e



Centro-Oeste, que representam, aproximadamente, 65% do total de casos no país (Brasil. Ministério da Saúde. 2022).

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi retrospectivo e realizado a partir de casos do arquivo do Serviço de Patologia Animal do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. A partir da inclusão dos casos em que a suspeita principal era leishmaniose visceral canina, foi realizada a coleta de informações dos animais, como histórico, anamnese, exames laboratoriais e de imagens.

Foram incluídos os casos do ano de 2023. A partir da seleção dos casos, as lâminas foram coradas em Hematoxilina e Eosina e, eventualmente, foi realizada a coloração especial Tricrômico de Masson.

Posteriormente, os casos foram analisados microscopicamente. A avaliação foi descritiva e as lesões foram fotodocumentadas com *software cellSens Entry* e câmera digital acoplada ao microscópio óptico Olympus BX50F-3, Japão em aumentos de 40x, 100x, 200x, 400x e 1000x.

Como complementação ao exame histopatológico, foi realizado o exame imuno-histoquímico no Instituto Adolfo Lutz.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1. Caso 1**

#### **Histórico**

O paciente do caso 1 é da espécie canina, sem raça definida, macho, de 7 anos de idade. O cão foi levado, pelo seu tutor, ao Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET – FMVZ/USP) no dia 05 de maio de 2023. Apresentava hiporexia e perda de peso há 20 dias, diarreia, êmese e anorexia há 1 dia. O animal foi adotado quando filhote em um canil e não possuía histórico de viagem com os responsáveis.

Ao exame físico, apresentou desidratação de 7 a 8%, mucosas róseas, linfonodos sem alteração à palpação e áreas multifocais de alopecia e hipotricose, principalmente em flanco, secreção ocular amarelo-esverdeada, frequência cardíaca de 170 batimentos por minuto, frequência respiratória de 24 movimentos por minuto e temperatura retal de 37,5°C.

O paciente ficou no Serviço de Monitorização Intensiva (SIM) do dia 5 ao dia 10 de maio, no qual recebeu, como tratamento sintomático, ondansetrona, omeprazol, citrato de maropitant e dipirona.

Entretanto, no dia 10 de maio, o paciente apresentou prostração intensa, êmese e hipotensão não responsiva à noradrenalina. Devido ao mau prognóstico e piora do estado geral, optou-se pela eutanásia.

#### **Exames complementares**

Foram realizados exames de ultrassonografia e radiografia, nos quais não houve alterações dignas de nota.

Os quadros 2, 3, 4, 5 e 6 mostram, respectivamente, os exames de eritrograma, leucograma, coagulograma, bioquímica sérica e teste de imunodiagnóstico – SNAP 4DX.

As alterações evidenciadas são: anemia normocítica hipocrômica, linfopenia, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, aumento de fosfatase alcalina, hiperbilirrubinemia, aumento da concentração sérica de ureia e creatinina, aumento do tempo de protrombina e tromboplastina parcial ativada e hipofibrinogenemia.

Quadro 2. Exame de eritrograma do paciente do caso 1, realizado em 09/05/2023

ERITROGRAMA			
			Valores de referência
Hemácias	3,7	$\times 10^6/\mu\text{L}$	5,0 - 8,0
Hemoglobina	7,3	g/dL	12, 18,0
Hematócrito	25	%	37 – 57
VCM	66	fL	60 – 77
HCM	20	pg	22 – 27
CHCM	30	%	31 – 36
Reticulócitos	0,12	%	
Reticulócitos absolutos	4.400	/ $\mu\text{L}$	<60.000
Eritroblastos		/100 leucócitos	

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 3. Exame de leucograma do paciente do caso 1, realizado em 08/05/2023

LEUCOGRAMA					
	Valores relativos		Valores absolutos		Valores de referência
Leucócitos totais		%	11.900	/ $\mu\text{L}$	6.000-15.000
Neutrófilos totais	89	%	10.591	/ $\mu\text{L}$	3.000-12.100
Metamielócitos		%		/ $\mu\text{L}$	0
Bastonetes		%		/ $\mu\text{L}$	0-300
Segmentados	89	%	10.591	/ $\mu\text{L}$	3.000-11.800
Linfócitos	7	%	833	/ $\mu\text{L}$	1.500-5.000
Linfócitos atípicos		%		/ $\mu\text{L}$	
Monócitos	3	%	357	/ $\mu\text{L}$	0-800
Eosinófilos	1	%	119	/ $\mu\text{L}$	0-1300
Basófilos		%		/ $\mu\text{L}$	0-140
Observação: morfologia celular normal					

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 4. Exame de coagulograma do paciente do caso 1, realizado em 09/05/2023

COAGULOGRAMA			
			Valores de referência
Plaquetas	300	$10^3/\text{mm}^3$	200-600
TP*	10,8***	segundos	6,8-10,2
TTPA**	25,0***	segundos	10,7-16,4
Fibrinogênio	106***	mg/dL	200-400
*TP: Tempo de protrombina			
**TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada			
Observação: plasma icterico +			

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 5. Exame de bioquímica sérica do paciente do caso 1, realizado em 10/05/2023

BIOQUÍMICA SÉRICA			
			Valores de referência
<b>Perfil hepático</b>			
Proteína total	7,73	g/dL	5,3-7,6
Albumina	1,05	g/dL	2,3-3,8
ALT	18	U/L	10-88
Fosfatase alcalina	167,9	U/L	20-150***
Bilirrubina Total	3,53	mg/dL	0,1-0,6
Bilirrubina Direta	2,89	mg/dL	0,0-0,3
Bilirrubina Indireta	0,64	mg/dL	0,1-0,3
<b>Perfil renal</b>			
Ureia	212,1	mg/dL	20-40*
Creatinina	3,23	mg/dL	0,7-1,4**
Observação: Lipemia + *Depende de dieta e estado de hidratação **Depende de massa muscular, estado de hidratação ***Depende de idade			

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 6. Exame de teste de imunodiagnóstico - SNAP 4DX do paciente do caso 2, realizado em 08/05/2023

TESTE DE IMUNODIAGNÓSTICO - SNAP 4DX			
Agente	Não reagente	Fracamente reagente	Reagente
<i>Ehrlichia</i> sp.	X		
<i>Dirofilaria immitis</i>	X		
<i>Anaplasma</i> sp.	X		
<i>Borrelia burgdorferi</i>	X		

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

### Exame necroscópico

Descrição macroscópica:

O animal pesa 11,0 kg e apresenta escore corporal de 3, em escala de 1 a 9, caracterizado por costelas facilmente palpáveis e visíveis, cintura e reentrância abdominal evidentes. Há áreas de hipotricose e alopecia multifocais em membros torácicos e pélvicos e tórax ventral. Apresenta lesões cutâneas multifocais, alopécicas, planas, vermelho-claras a amarelas em membro pélvico esquerdo (4,5 x 0,5 cm), sobrejacentes à articulação coxofemoral (5,0 x 3,8 cm), em região abdominal ventral (3,0 x 1,0 cm) e em membro torácico direito (4,0 x 2,9 cm).

As mucosas oculares e oral apresentam-se discretamente amarelas. Há

secreção ocular viscosa amarelo-esverdeada em olho esquerdo. O animal apresenta todas as unhas espessadas e aumentadas de tamanho.

A musculatura temporal apresenta acentuada redução de volume, difusa e bilateral. Ademais, os linfonodos poplíteos apresentam aumento de volume acentuado.

Os pulmões estão distendidos, heterogêneos, 40% vermelho-claro e 60% róseo. Ao corte de traqueia e brônquios, há moderada quantidade de líquido espumoso branco.

À abertura do coração, há área vermelho-escura focal, plana, em músculo papilar no ventrículo esquerdo de 0,4 x 0,5 cm.

O fígado está heterogêneo, castanho-claro e vermelho-escuro. O baço apresenta-se heterogêneo, com áreas brancas, planas e redondas em cápsula, que variam de 0,5 a 1,5 cm de diâmetro.

Os rins apresentam cápsula moderadamente aderida; a superfície renal apresenta áreas vermelhas multifocais, de até 0,5 cm de diâmetro.

#### Diagnósticos morfológicos macroscópicos:

1. Fígado: hepatopatia, difusa, moderada a esclarecer;
2. Pulmão: edema pulmonar, moderado;
3. Linfonodos poplíteos: linfadenomegalia, acentuada;
4. Mucosa ocular e oral: icterícia, discreta;
5. Musculatura temporal: atrofia, acentuada.
6. Pele:
  1. Alopecia e hipotricose, multifocais, marcantes;
  2. Lesões cutâneas, multifocais, marcantes;
7. Unhas: onicogrifose, acentuada;
8. Coração: hemorragia, focal, discreta em músculo papilar do ventrículo esquerdo.

#### Diagnósticos morfológicos microscópicos:

1. Medula óssea:
  - a) Hiperplasia de macrófagos, acentuada, e presença intracitoplasmática de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**b)** Displasia de megacariócitos, difusa, acentuada;

**2. Linfonodos poplíteos:**

**a)** Linfadenite linfoplasmohistiocítica, acentuada; em citoplasma de macrófagos, há estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**b)** Hiperplasia linfoide difusa, acentuada;

**c)** Capsulite, linfoplasmohistiocítica, difusa, marcada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**d)** Inflamação extranodal, linfoplasmohistiocítica, difusa, marcada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**3. Pulmão:**

**a)** Broncopneumonia neutrofílica, focalmente extensa, acentuada, com bactérias cocoides extracelulares;

**b)** Edema alveolar, multifocal, acentuado;

**c)** Enfisema, multifocal, moderado a acentuado;

**4. Coração:**

**a)** Miocardite, endocardite e pericardite linfoplasmocíticas, multifocais, discretas;

**b)** Hemorragia, focal, discreta, em ventrículo esquerdo;

**5. Fígado:**

**a)** Hepatite portal e centrolobular, linfoplasmohistiocítica, multifocal, discreta, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**b)** Hemossiderose, multifocal, moderada;

**c)** Hipertrofia e hiperplasia de células de Kupffer, ocasionalmente, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**6. Rins:**

**a)** Nefrite intersticial, linfoplasmohistiocítica, difusa, acentuada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µ de diâmetro, em

citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

- b)** Glomerulonefrite membranoproliferativa, difusa, acentuada;
  - c)** Sinéquia, multifocal, acentuada;
  - d)** Cilindros hialinos em túbulos de cortical à medular, multifocais, moderados;
  - e)** Calcificação tubular, multifocal, moderada;
- 7.** Intestino delgado: enterite, linfoplasmohistiocítica, difusa, acentuada, e presença intracitoplasmática de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- 8.** Baço:
- a)** Esplenite linfoplasmohistiocítica, acentuada, difusa, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - b)** Capsulite, linfoplasmohistiocítica, multifocal, moderada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- 9.** Pâncreas: pancreatite intersticial, linfoplasmohistiocítica, multifocal, discreta, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- 10.** Pele sobrejacente à articulação coxofemoral direita:
- a)** Dermatite superficial à profunda, perianexial e perivascular, linfoplasmohistiocítica, com focos de ulceração e estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - b)** Hemorragia em derme média, multifocal a coalescente
- 11.** Tecido subcutâneo sobrejacente à articulação coxofemoral direita: paniculite linfoplasmohistiocítica, multifocal a coalescente, moderada a acentuada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- 12.** Musculatura sobrejacente à articulação coxofemoral direita: Miosite linfoplasmohistiocítica, multifocal, discreta, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos,



compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

**13. Bulbo ocular esquerdo:**

**a) Córnea:**

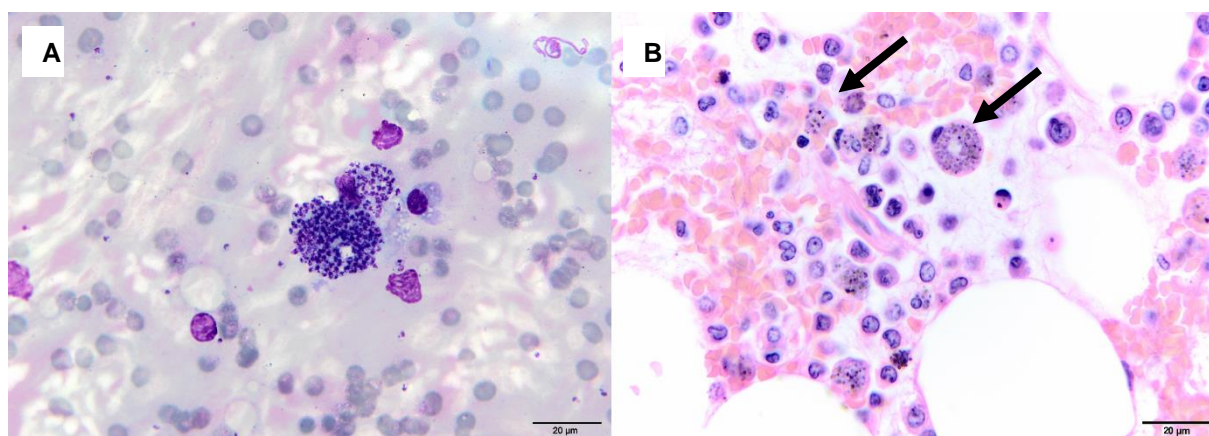
- I. Ceratite linfoplasmohistiocítica, multifocal a coalescente, moderada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- II. Vascularização da córnea e pigmentação do estroma;

**b) Úvea anterior:** hemorragia, focalmente extensa.

**Causa mortis:** Eutanásia.

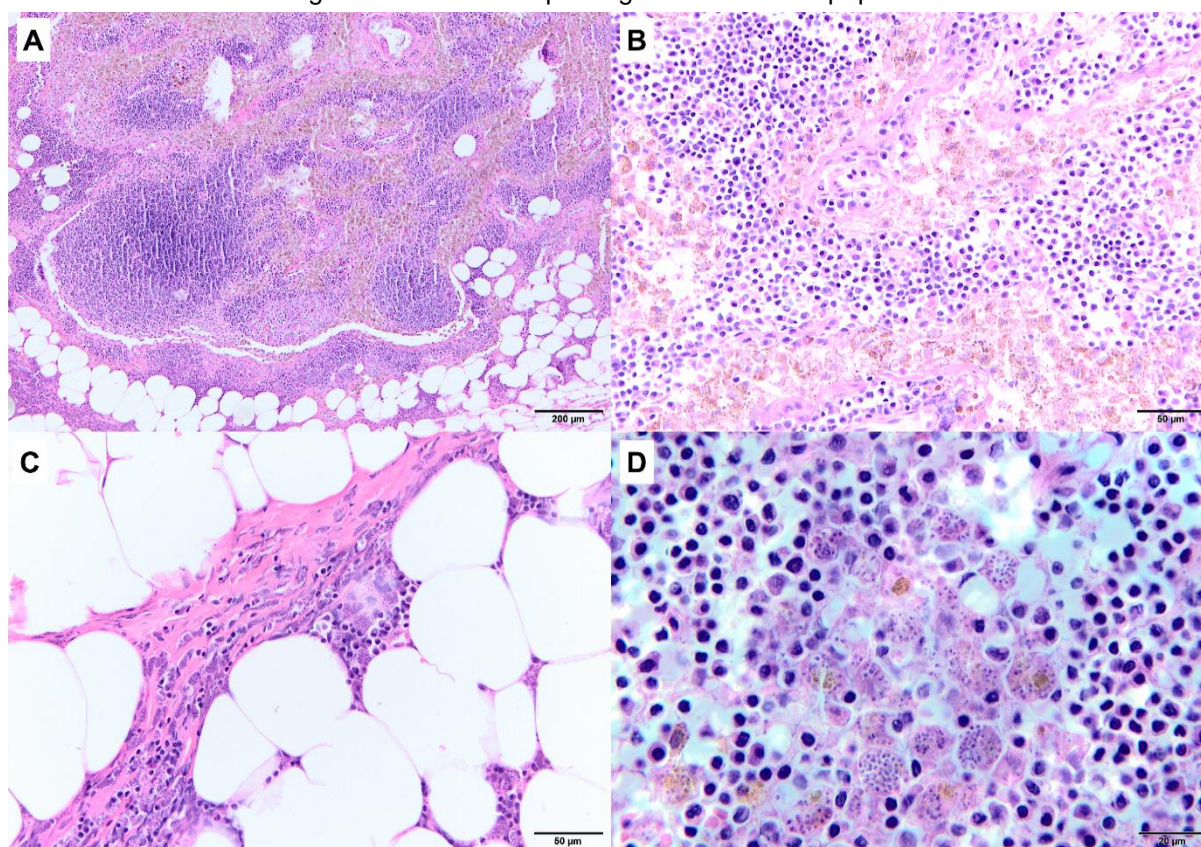
**Comentários:** foi realizado exame citológico por *imprint* da medula óssea, no qual foi possível observar múltiplas estruturas esféricas, com núcleo único e cinetoplasto, tanto dentro quanto fora de células (compatível com formas amastigotas de *Leishmania* sp.).

Figura 2. Exame citológico e histopatológico da medula óssea.



A. Exame citológico da medula óssea; evidencia-se acentuada quantidade de estruturas no citoplasma de macrófagos, as quais são compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. Aumento de 1000x, coloração panótico rápido. B. Exame histopatológico da medula óssea; as setas apontam para macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. Coloração HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

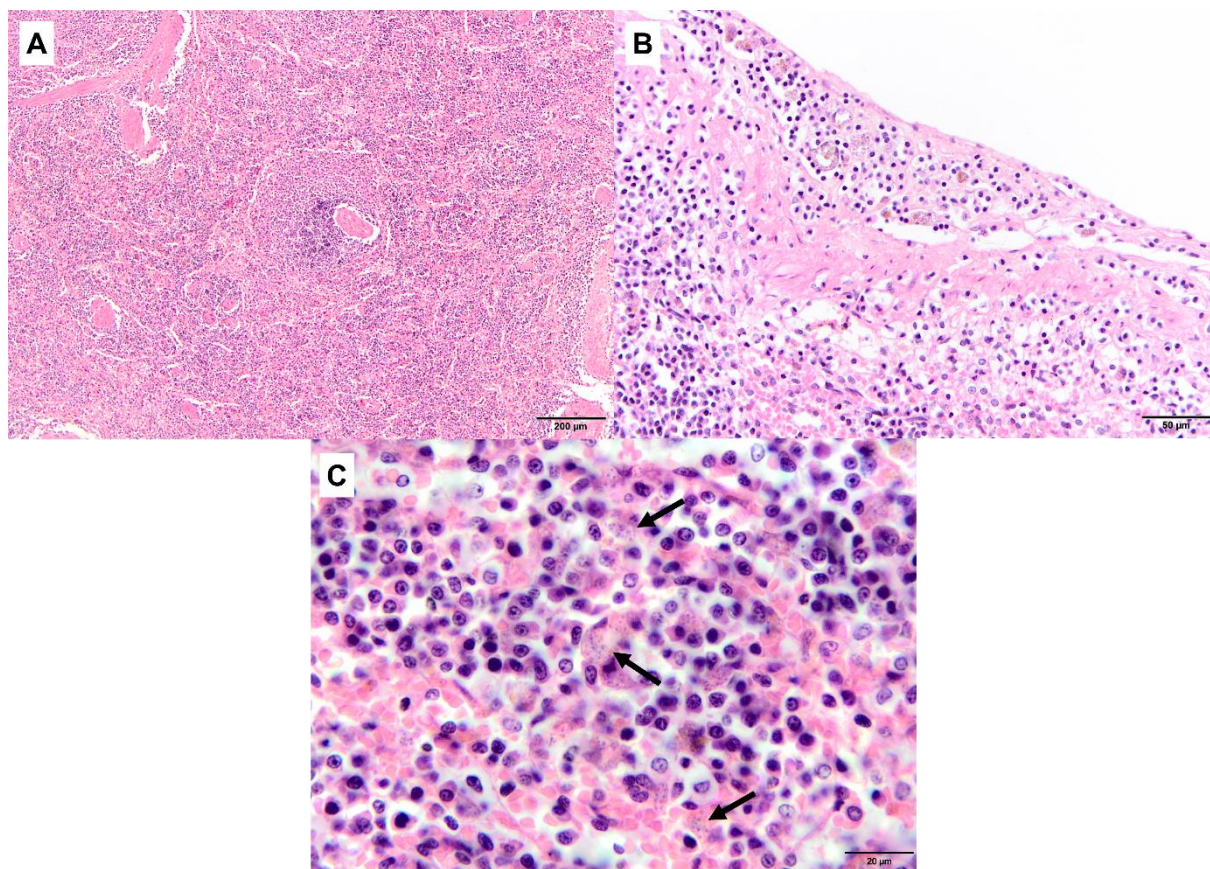
Figura 3. Exame histopatológico do linfonodo poplíteo.



Coloração HE do linfonodo poplíteo. A. Hiperplasia linfoide e infiltrado inflamatório em cápsula e extranodal. Aumento de 100x. B. Linfadenite, com acentuada hemossiderose. Aumento de 400x. C. Inflamação linfoplasmohistiocitária, extranodal, com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. em citoplasma de macrófagos. Aumento de 400x. D. Estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. em citoplasma de macrófagos. Aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

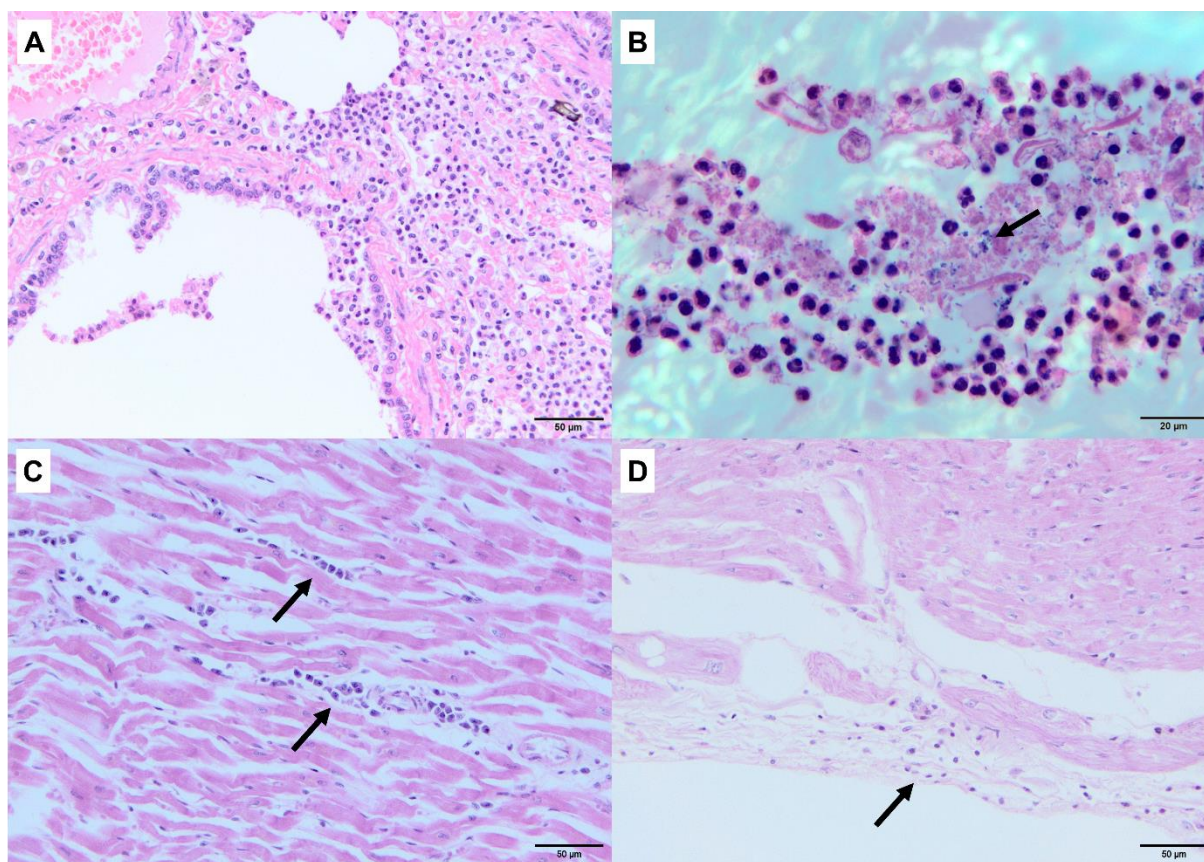


Figura 4. Exame histopatológico do baço.



Coloração HE do baço. A. Esplenite. Aumento de 100x. B. Cápsula do baço espessada e com infiltrado inflamatório composto por plasmócitos e histiócitos, os quais apresentam estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma. Aumento de 400x. C. Estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos localizados no parênquima esplênico. Aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

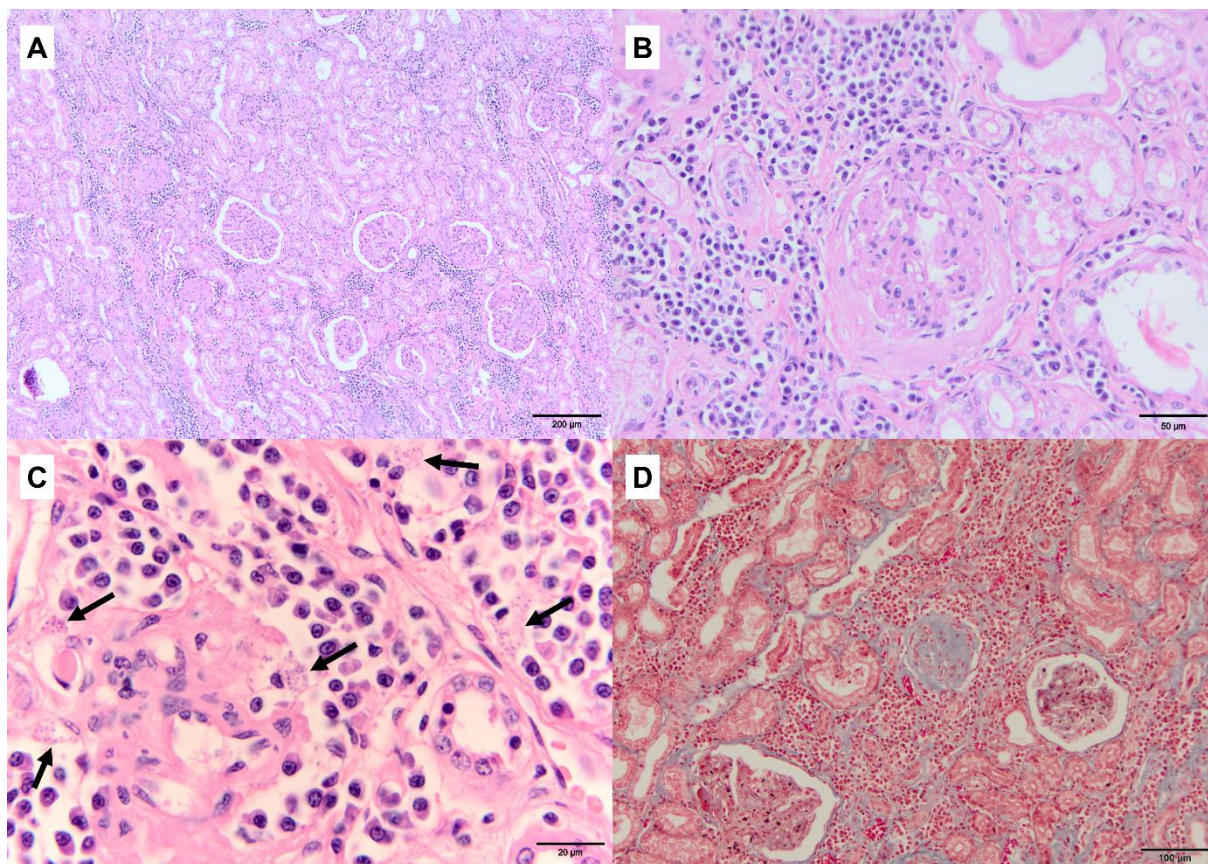
Figura 5. Exame histopatológico do pulmão e coração.



A. Pulmão. Broncopneumonia neutrofílica, focalmente extensa. Coloração HE, aumento de 400x. B. Conteúdo no lúmen de bronquíolos, constituído por neutrófilos e bactérias cocoides extracelulares. Coloração HE, aumento de 1000x. C. Infiltrado inflamatório em miocárdio. Coloração HE, aumento de 400x. D. Infiltrado inflamatório em endocárdio. Coloração HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

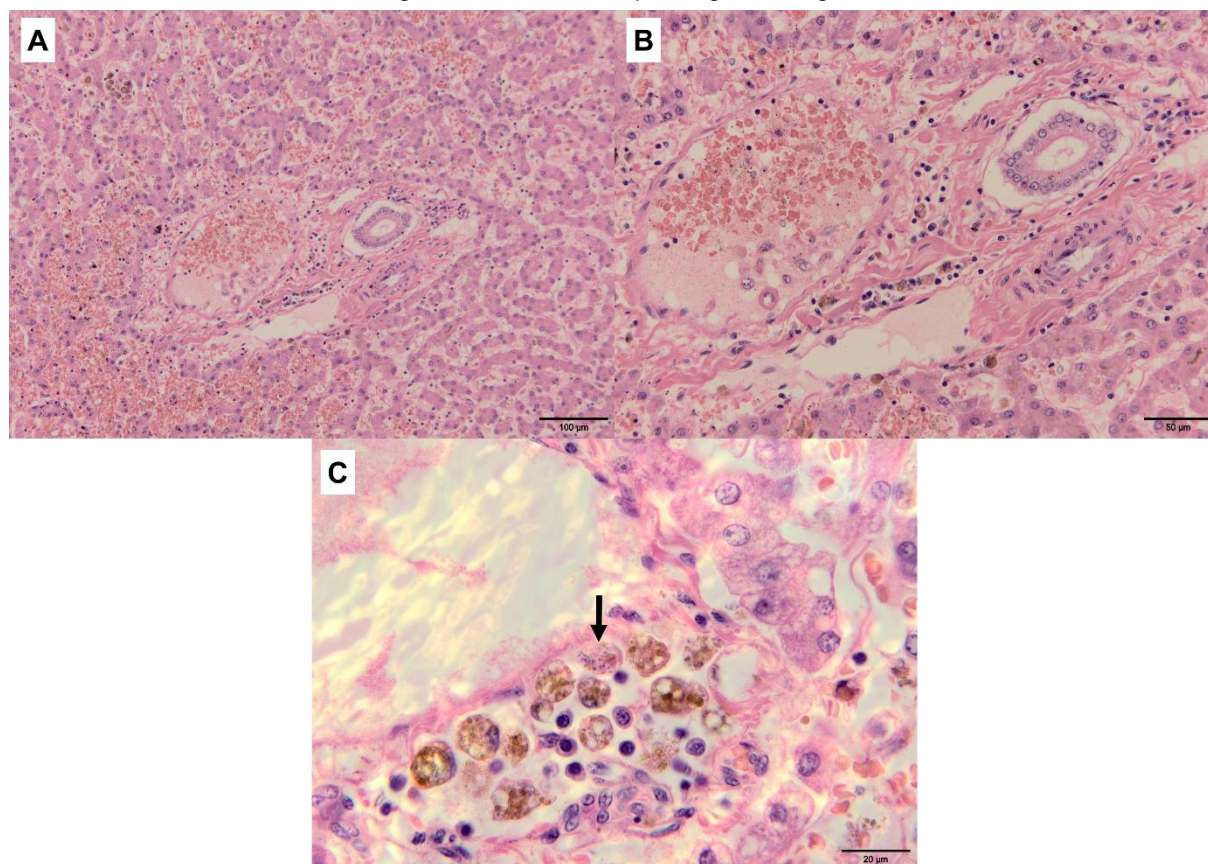


Figura 6. Exame histopatológico do rim.



A. Rim. Infiltrado inflamatório intersticial. Coloração em HE, aumento de 100x. B. Infiltrado inflamatório intersticial e espessamento da cápsula de Bowman. Coloração em HE, aumento de 400x. C. Estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos (setas). Coloração em HE, aumento de 1000x. D. Glomeruloesclerose e fibrose no interstício. Coloração de Tricrômico de Masson, aumento de 200x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

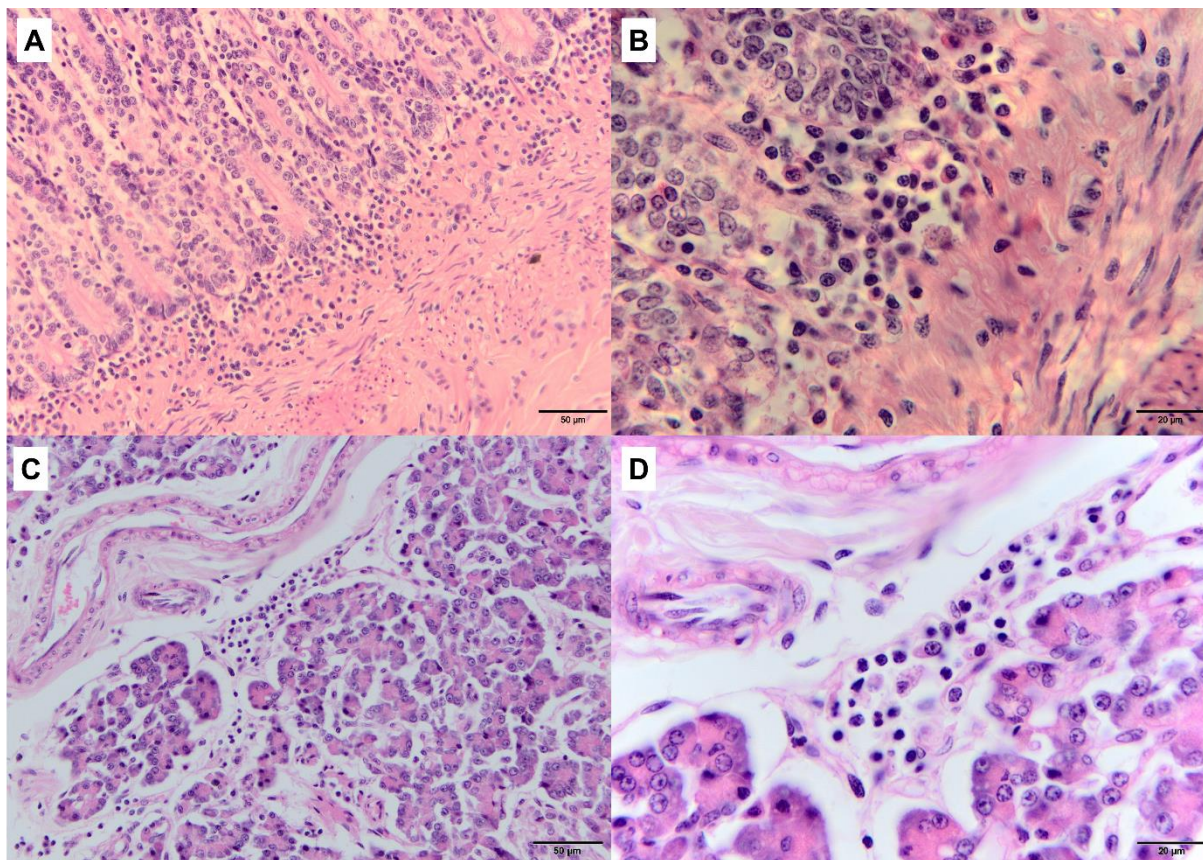
Figura 7. Exame histopatológico do fígado



Coloração HE do fígado. A. Discreto infiltrado inflamatório portal. Aumento de 200x. B. Discreto infiltrado inflamatório portal. Aumento de 400x. C. Estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos. Aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

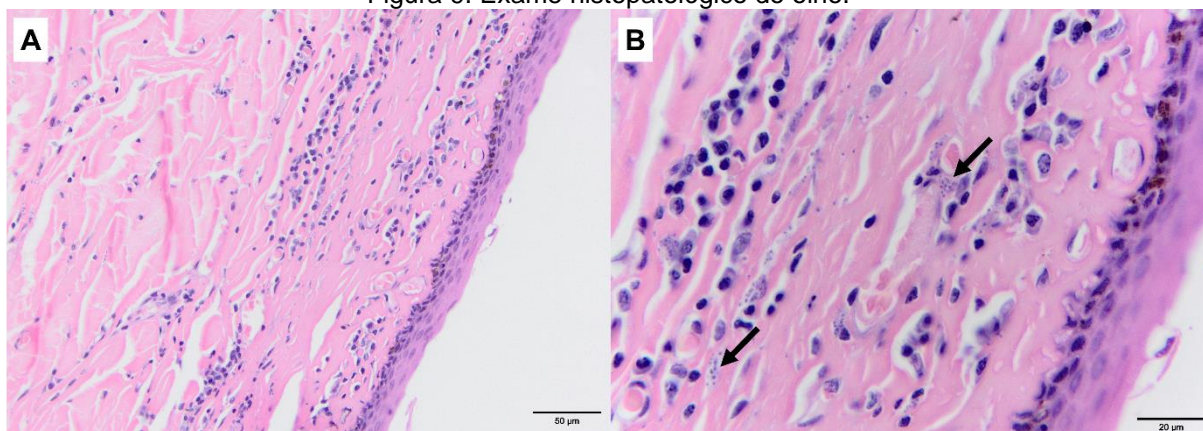


Figura 8. Exame histopatológico do intestino delgado e do pâncreas.



A. Intestino delgado com infiltrado inflamatório. Coloração HE, aumento de 400x. B. Estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos. Coloração HE, aumento de 1000x. C. Pâncreas com infiltrado inflamatório intersticial. Coloração HE, aumento de 400x. D. Macrófagos com estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. Coloração HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

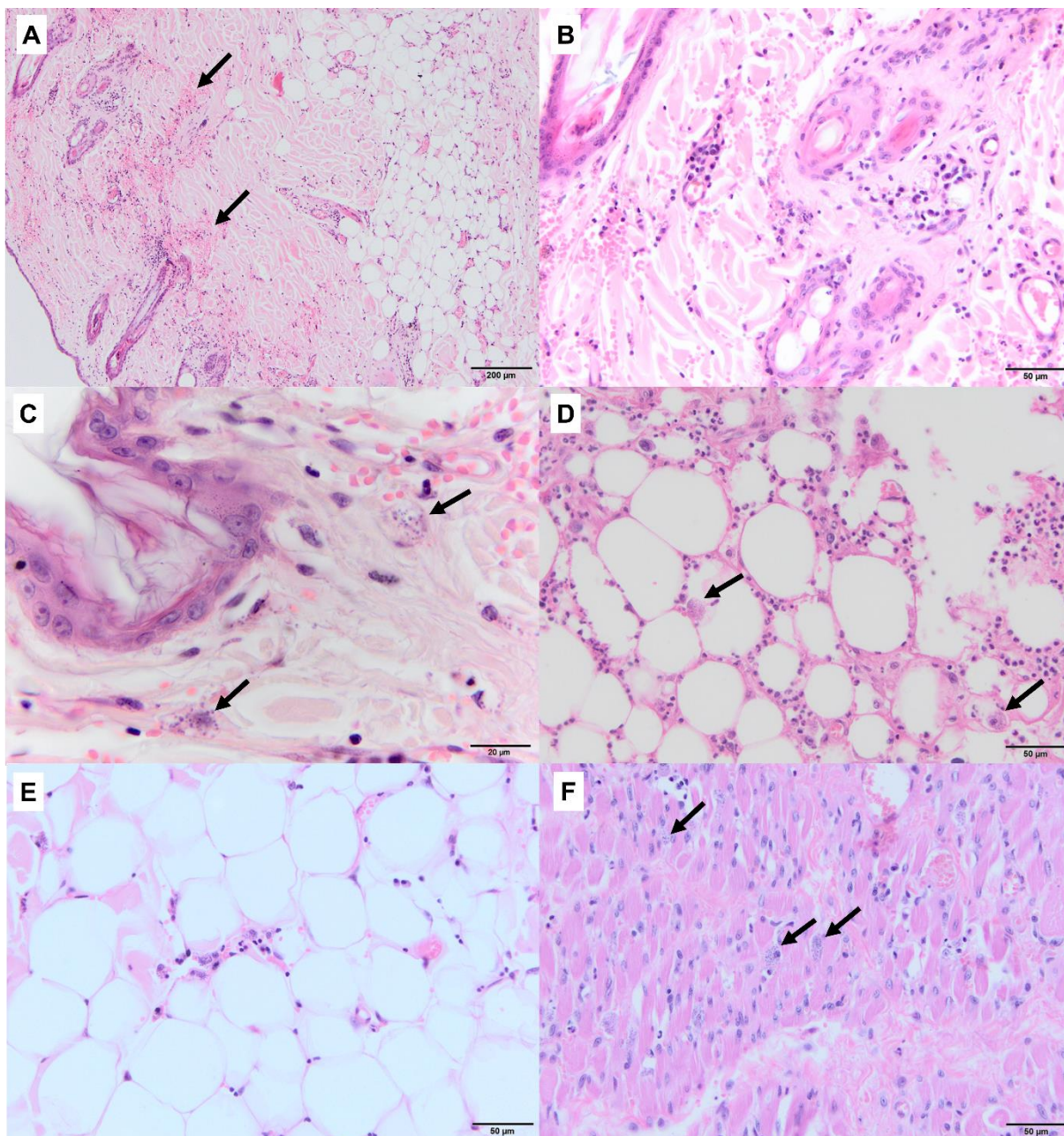
Figura 9. Exame histopatológico do olho.



A. Córnea. Infiltrado inflamatório multifocal a coalescente e vascularização da córnea. Corado em HE, aumento de 400x. B. Estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos. Coloração HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.



Figura 10. Exame histopatológico da pele, tecido subcutâneo e musculatura sobrejacentes à articulação coxofemoral direita.



A. Pele. Áreas de hemorragia em derme média. Corado em HE, aumento de 100X. B. Pele. Infiltrado inflamatório perivascular em derme média. Corado em HE, aumento de 400x. C. Pele. Macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. (setas) em derme superficial. Corado em HE, aumento de 1000x. D. e E. Tecido subcutâneo, com infiltrado inflamatório multifocal e presença de estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. intracitoplasmáticas. Corado em HE, aumento de 400x. F. Tecido muscular com infiltrado inflamatório multifocal e presença de estruturas intracitoplasmáticas compatíveis com *Leishmania* sp. Corado em HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.



## 5.2. Caso 2

### Histórico

O animal é da espécie canina, fêmea, Pastor Alemão, de 7 anos de idade.

O cão foi levado, pelo seu tutor, ao Hospital de Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo (HOVET – FMVZ/USP) no dia 01 de setembro de 2023. A paciente era originária do Rio de Janeiro e foi para São Paulo há 2 anos. A queixa principal é de emagrecimento progressivo há 2 meses, anorexia há 5 dias, intolerância a exercício, dispneia e cansaço fácil há 5 meses. Ao exame físico, o apresentou escore de condição corporal 2, em escala de 1 a 9, desidratação de 5%, mucosas róseas e linfonodos sem alteração de tamanho, consistência e temperatura à palpação.

O retorno foi marcado para o dia 15 de setembro, entretanto, a paciente foi levado novamente ao hospital no dia 24 de outubro de 2023. O cão apresentava mau estado geral, com anorexia persistente, feridas cutâneas ulceradas em membros pélvicos e orelhas, onicogribose exacerbada, êmese e perda de peso progressiva. Devido ao estado clínico, à suspeita de leishmaniose e não condições de tratamento por parte dos tutores, em conjunto, a equipe técnica e os tutores optaram pela eutanásia da paciente.

### Exames complementares

Foram realizados exames de ultrassonografia e radiografia. No exame ultrassonográfico, o baço apresentou dimensões aumentadas. Nos exames clínicos laboratoriais, mostrados nos quadros 7 a 11, as alterações observadas foram: anemia microcítica, normocrômica, não regenerativa, linfopenia, trombocitopenia, hipoalbuminemia, aumento da concentração sérica de ureia e creatinina e teste de imunodiagnóstico positivo para *Ehrlichia* sp.

Quadro 7. Exame de eritrograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023

ERITROGRAMA			
			Valores de referência
Hemácias	4,68	$\times 10^6/\mu\text{L}$	5,0 - 8,0
Hemoglobina	9,5	g/dL	12, 18,0
Hematócrito	28	%	37 – 57
VCM	59	fL	60 – 77
HCM	20	pg	22 – 27

CHCM	34	%	31 – 36
Reticulócitos	-	%	
Reticulócitos absolutos	-	/uL	<60.000
Eritroblastos	0	/100 leucócitos	

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 8. Exame de leucograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023

LEUCOGRAMA					
	Valores relativos		Valores absolutos		Valores de referência
Leucócitos totais		%	8.600	/uL	6.000-15.000
Neutrófilos totais	80	%	10.591	/uL	3.000-12.100
Metamielócitos		%		/uL	0
Bastonetes		%		/uL	0-300
Segmentados	80	%	6.880	/uL	3.000-11.800
Linfócitos	13	%	1118	/uL	1.500-5.000
Linfócitos atípicos		%		/uL	
Monócitos	6	%	516	/uL	0-800
Eosinófilos	1	%	86	/uL	0-1300
Basófilos		%		/uL	0-140
Observação: morfologia celular normal					

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 9. Exame de coagulograma do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023

COAGULOGRAMA			
			Valores de referência
Plaquetas	124	$10^3/\text{mm}^3$	200-600
TP*	-	segundos	
TTPA**	-	segundos	2,3-3,8
Fibrinogênio	-	mg/dL	10-88
*TP: Tempo de protrombina			
**TTPA: tempo de tromboplastina parcial ativada			

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 10. Exame de bioquímica sérica do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023

BIOQUÍMICA SÉRICA			
			Valores de referência
<b>Perfil hepático</b>			
Proteína total	7,54	g/dL	5,3-7,6
Albumina	1,32	g/dL	2,3-3,8
ALT	17,8	U/L	10-88
Fosfatase alcalina	44,3	U/L	20-150***
Bilirrubina Total	-	mg/dL	0,1-0,6

Bilirrubina Direta	-	mg/dL	0,0-0,3
Bilirrubina Indireta	-	mg/dL	0,1-0,3
<b>Perfil renal</b>			
Ureia	97,8	mg/dL	20-40*
Creatinina	1,6	mg/dL	0,7-1,4**
*Depende de dieta e estado de hidratação			
**Depende de massa muscular, estado de hidratação			
***Depende de idade			

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

Quadro 11. Exame de teste de imunodiagnóstico do paciente do caso 2, realizado em 01/09/2023

<b>TESTE DE IMUNODIAGNÓSTICO - SNAP 4DX</b>	
Agente	
<i>Ehrlichia</i> sp.	Positivo
<i>Dirofilaria immitis</i>	Negativo
<i>Anaplasma</i> sp.	Negativo
<i>Borrelia burgdorferi</i>	Negativo

Fonte: Serviço de Laboratório Clínico – HOVET/FMVZ-USP

### Exame necroscópico

Descrição macroscópica:

O animal pesa 22,7 kg e apresenta-se magro, com escore corporal 2, em escala de 1 a 9, caracterizado por ausência de gordura corporal palpável, com costelas e proeminências facilmente palpáveis e cintura abdominal acentuada.

À avaliação externa, observam-se unhas com crescimento excessivo e lesões ulceradas e crostosas em interdígitos e coxins de todos os membros, medindo de 1,0 x 0,5 a 3,0 x 0,5 cm.

Há, também, lesão ulcerada e crostosa, de coloração heterógena rósea-clara a branca, sobrejacentes a ambas as articulações coxofemorais, que mede 5,0 cm de diâmetro no lado direito e 7,5 x 4,0 x 0,1 cm no lado esquerdo.

As mucosas oral e oculares estão brancas.

Em cavidade torácica, há 25 mL de líquido serossanguinolento livre.

Presença de líquido serossanguinolento em toda a extensão do lúmen traqueal e líquido espumoso e branco em terço final.

Pulmão apresenta-se heterogêneo, com parênquima 70% vermelho-vinhoso e 30% róseo. Áreas circulares, brancas, multifocais, que medem de 0,5 a 1,0 cm de diâmetro, em lobo pulmonar cranial direito. Há impressão das costelas em superfície pulmonar, nos lobos caudais direito e esquerdo. É observado o espessamento da

pleura visceral, em lobo caudal direito.

À abertura da cavidade abdominal, o fígado ultrapassa o gradil costal e está difusamente heterogêneo, vermelho-vinhoso com áreas castanhas, superfície brilhante e bordos abaulados.

Baço está vermelho-vinhoso e dimensões aumentadas, medindo 36,0 x 11,0 x 0,5 cm.

Os rins estão castanho-claros com áreas puntiformes, vermelhas e multifocais.

Linfonodos mesentéricos, mediastinais e poplíteos apresentam-se com tamanho moderadamente aumentado.

Diagnósticos morfológicos macroscópicos:

1. Pulmão:
  - a. Edema, moderado;
  - b. Congestão, difusa, moderada;
  - c. Suspeito de pneumonia;
2. Fígado: hepatomegalia, acentuada;
3. Baço: esplenomegalia, acentuada;
4. Linfonodos mesentéricos, mediastinais e poplíteos: linfadenomegalia, moderada;
5. Rim: sugestivo de nefrite;
6. Cavidade torácica: efusão torácica serosanguinolenta;
7. Pele de interdígitos e sobrejacente a articulações coxofemorais: lesões, crostosas, ulceradas, multifocais, acentuadas;
8. Unhas: onicogribose.

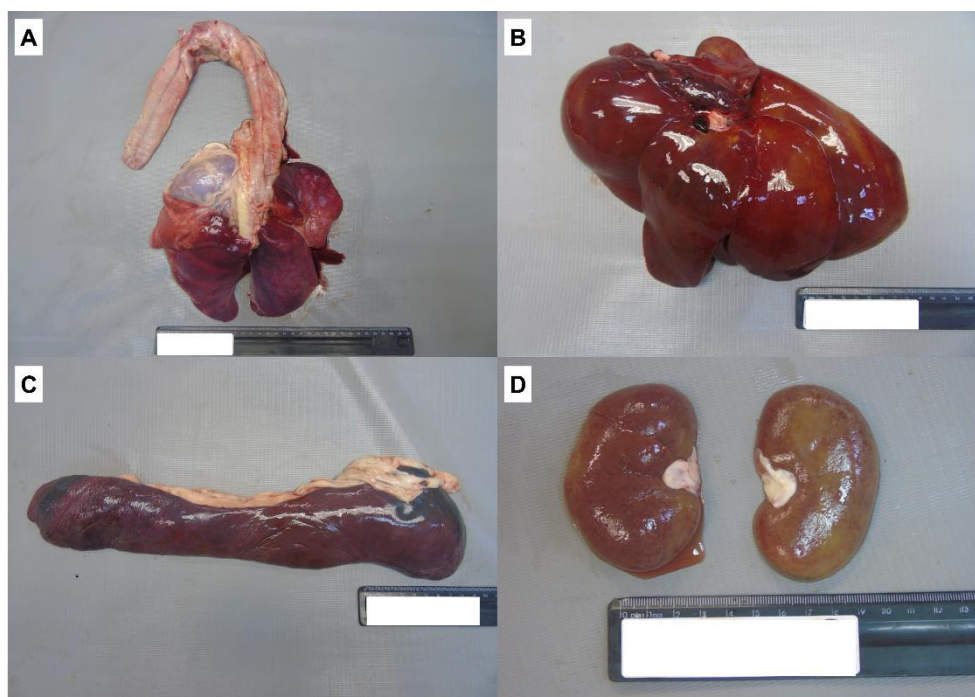
As figuras 11 e 12Figura mostram alguns dos achados macroscópicos.

Figura 11. Exame externo.



A. Paciente do caso 2; B. Mucosa oral branca; C. Onicogrifose. D. Lesão cutânea sobrejacente à articulação coxofemoral direita. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

Figura 12. Exame interno.



A. Pulmão heterogêneo 70% vermelho-vinhoso e 30% róseo; B. Fígado aumentado de tamanho, heterogêneo, vermelho-vinhoso com áreas castanhas; C. Baço aumentado de tamanho, com bordos arredondados; D. Rim castanho-claro com áreas puntiformes, vermelhas. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

Diagnóstico morfológico microscópico:

1. Medula óssea:

- a. Hiperplasia de macrófagos, moderada e presença de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- b. Hemossiderose, multifocal, discreta;
- c. Redução de megacariócitos, acentuada;

2. Linfonodos mediastinal e mesentérico:

- a. Linfadenite linfoplasmohistiocítica, difusa, acentuada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- b. Hiperplasia linfoide difusa, acentuada, com esclerose medular moderada;
- c. Capsulite, linfoplasmohistiocítica, multifocal, moderada, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- d. Inflamação extranodal, linfoplasmohistiocítica, multifocal, discreta, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;

3. Baço:

- a. Esplenite linfoplasmohistiocítica, com moderada presença de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0  $\mu\text{m}$  de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- b. Hemossiderose, multifocal, moderada;

4. Fígado:

- a. Hepatite portal, linfoplasmocítica, multifocal, discreta;
- b. Dilatação de sinusoides, difusa, moderada;

5. Rim:

- a. Nefrite intersticial, linfoplasmocítica, multifocal a coalescente, acentuada;
- b. Pielite, linfoplasmocítica, multifocal a coalescente, moderada;
- c. Cilindros hialinos, multifocais, discretos;
- d. Espessamento da cápsula de Bowman, multifocal, moderado;
- e. Glomeruloesclerose segmentar a global, multifocal;

6. Encéfalo: Leptomeningite linfoplasmocítica, multifocal, discreta;

**7. Coração:**

- a. Miocardite linfoplasmohistiocítica, multifocal, moderada, com discreta quantidade de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- b. Endocardite linfoplasmocítica, multifocal, moderada;

**8. Pulmão:**

- a. Pneumonia intersticial, linfoplasmocítica, multifocal, moderada;
- b. Edema, moderado;

**9. Intestino delgado: enterite linfoplasmocítica, difusa, moderada;**

**10. Pele sobrejacente à articulação coxofemoral direita:**

- a. Dermatite superficial à profunda, perianexial e perivascular, linfoplasmohistiocítica, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
- b. Dermatite ulcerativa, erosiva, neutrofílica, com acentuada quantidade de colônias bacterianas e hiperplasia epitelial;

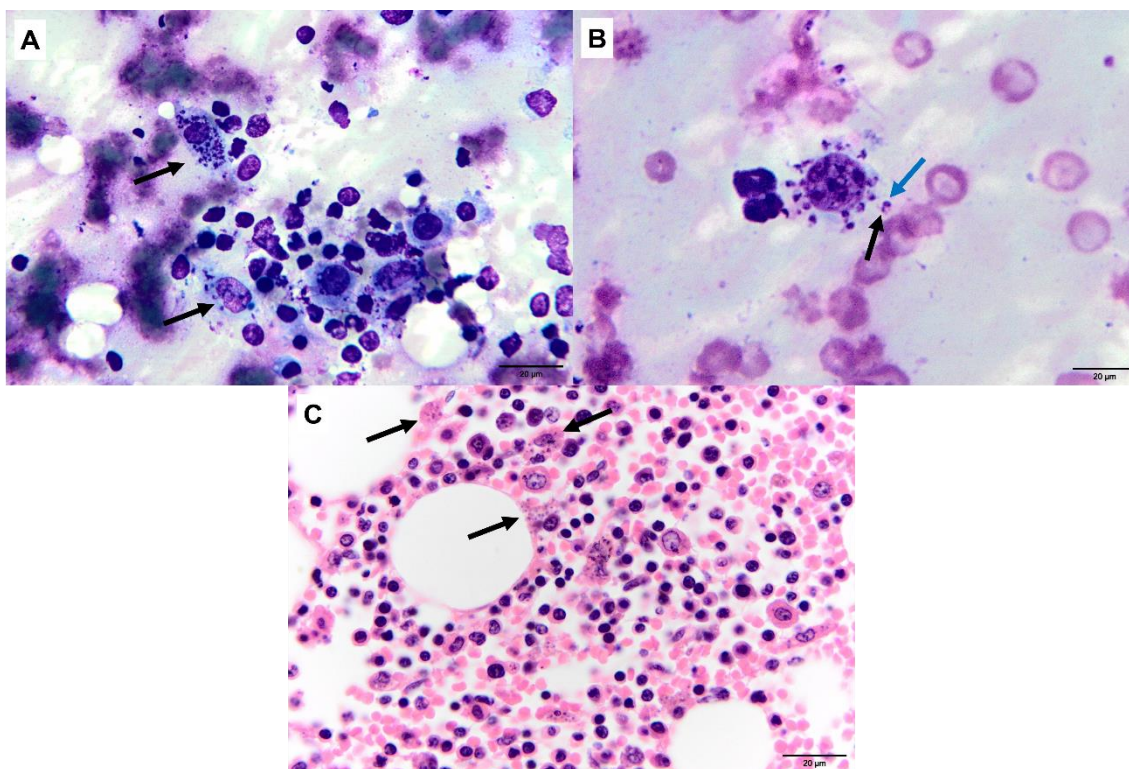
**11. Tecido subcutâneo sobrejacente à articulação coxofemoral direita: paniculite linfoplasmohistiocítica.**

**Causa mortis:** Eutanásia.

**Exames complementares:** foi realizado exame citológico por *imprint* da medula óssea, no qual foi possível observar múltiplas estruturas esféricas, com núcleo único e cinetoplasto, tanto dentro quanto fora de células (compatível com formas amastigotas de *Leishmania* sp.).



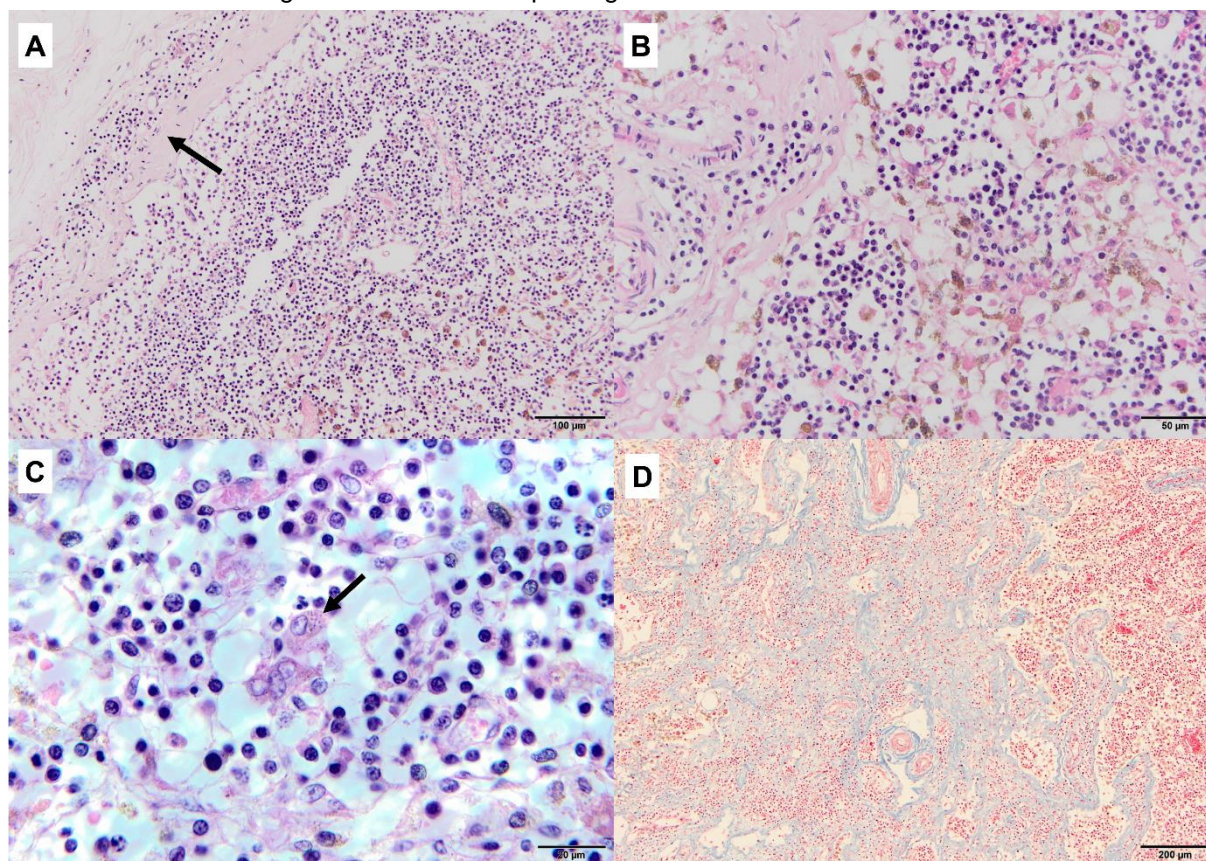
Figura 13. Exame citológico e histopatológico da medula óssea.



A e B. Exame citológico da medula óssea, aumento de 1000x, coloração panótico rápido. Em A, as setas apontam para moderada quantidade de estruturas no citoplasma de macrófagos, as quais são compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. Em B, a seta azul aponta para o núcleo e, a seta preta, para o cinetoplasto. C. Exame histopatológico da medula óssea; as setas apontam para macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. Coloração HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

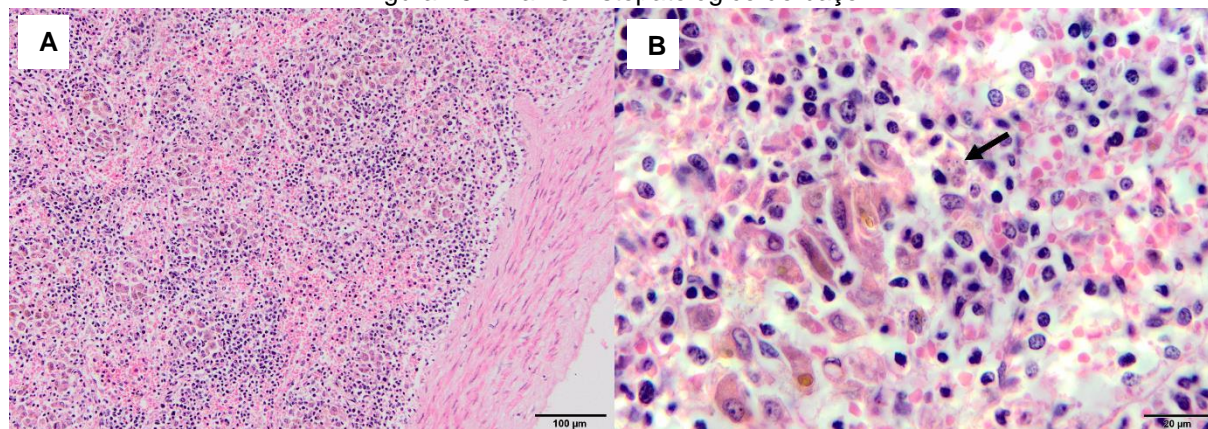


Figura 14. Exame histopatológico do linfonodo mesentérico.



A. Hiperplasia linfoide e infiltrado inflamatório em cápsula (seta). Coloração HE, aumento de 200x. B. Linfadenite, com moderada hemossiderose. Coloração HE, aumento de 400x. C. Macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. em citoplasma (seta). Coloração HE, aumento de 1000x. D. Esclerose medular. Coloração TM, aumento de 100x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP

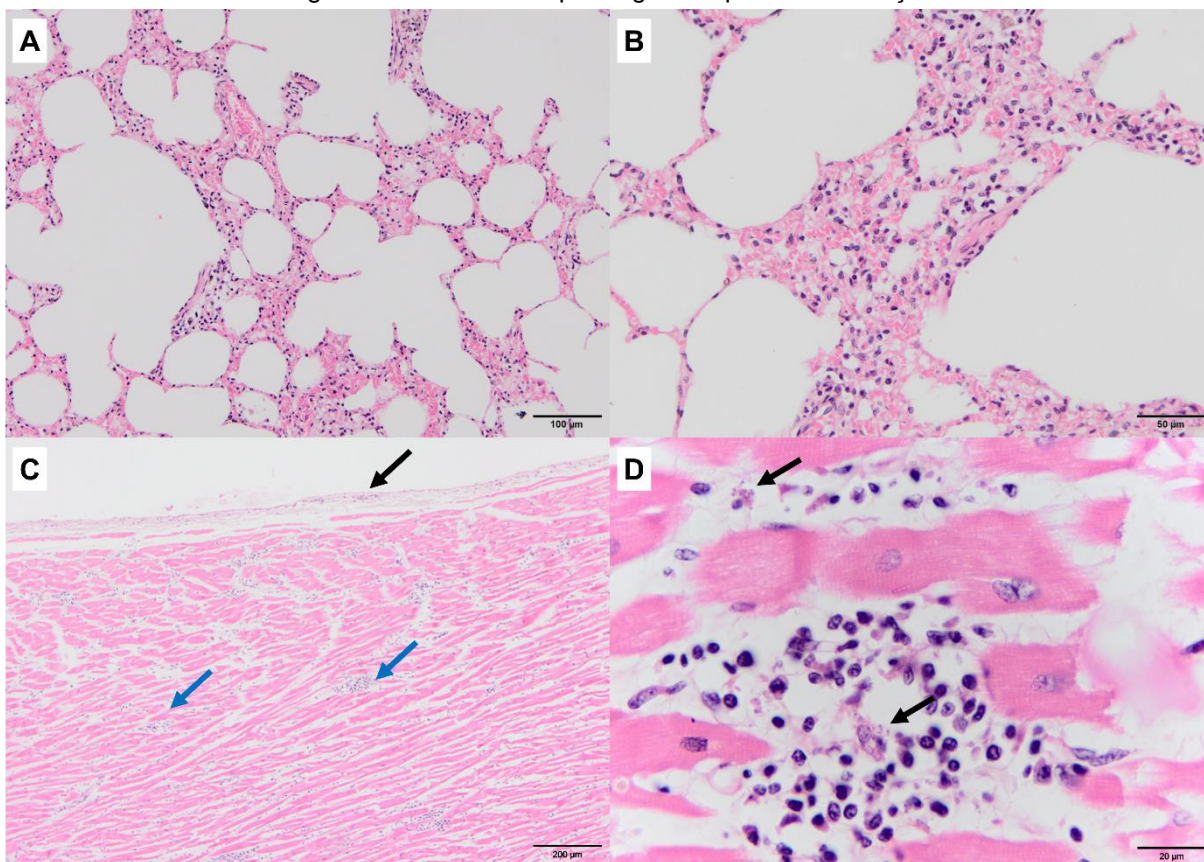
Figura 15. Exame histopatológico do baço.



Coloração HE do baço. A. Cápsula esplênica sem infiltrado inflamatório. Aumento de 200x. B. A seta aponta para estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos localizados no parênquima esplênico. Aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

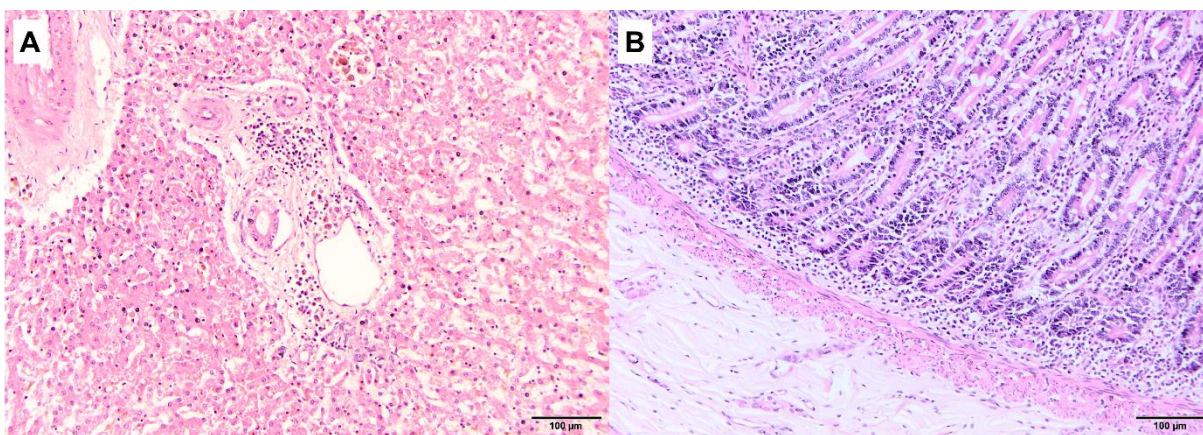


Figura 16. Exame histopatológico do pulmão e coração.



A. Pulmão. Infiltrado inflamatório intersticial. Coloração HE, aumento de 200x. B. Pulmão, infiltrado inflamatório intersticial. Coloração HE, aumento de 400x. C. Infiltrado inflamatório em miocárdio (setas azuis) e endocárdio (seta preta). Coloração HE, aumento de 100x. D. Infiltrado inflamatório em endocárdio, com macrófagos com estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma (setas). Coloração HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

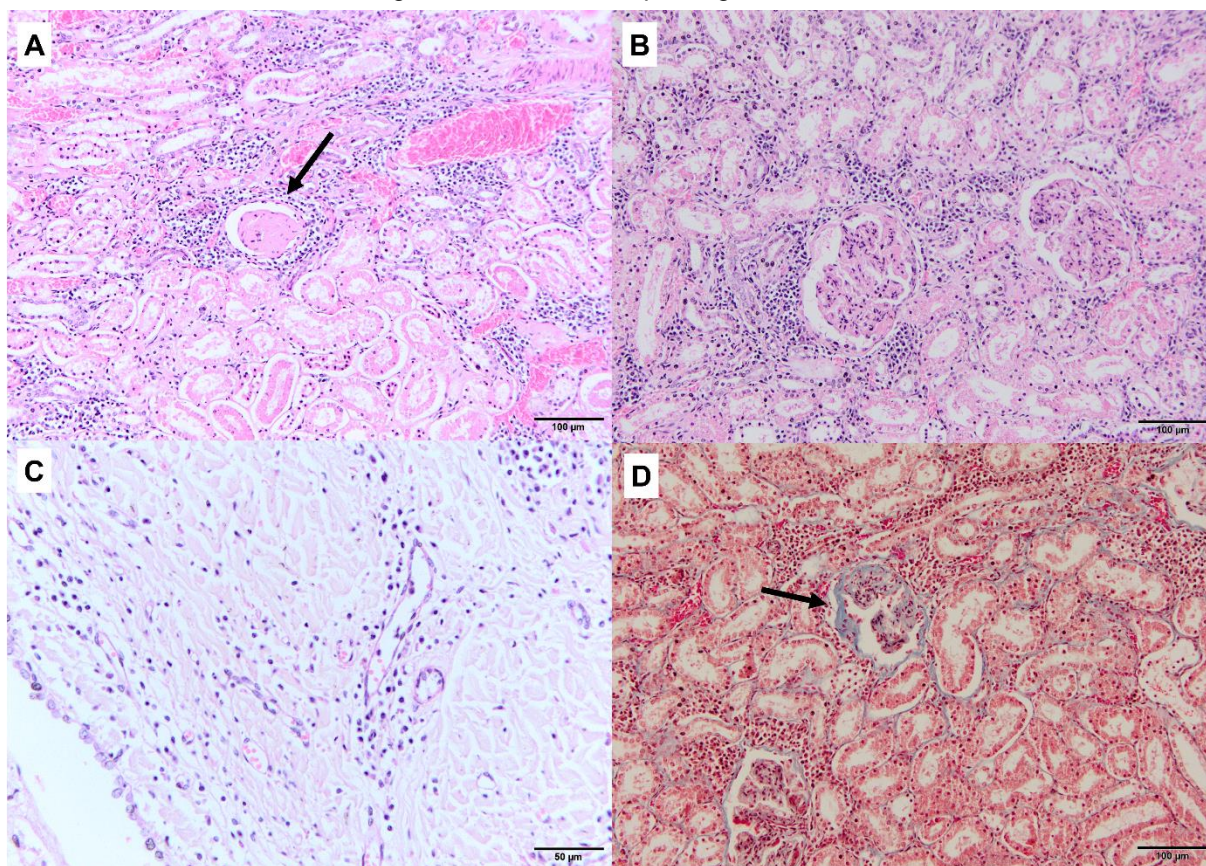
Figura 17. Exame histopatológico do fígado e do intestino delgado.



A. Fígado. Infiltrado inflamatório discreto portal. Coloração HE, aumento de 200x. B. Intestino delgado. Infiltrado inflamatório em lâmina própria. Coloração HE, aumento de 200x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

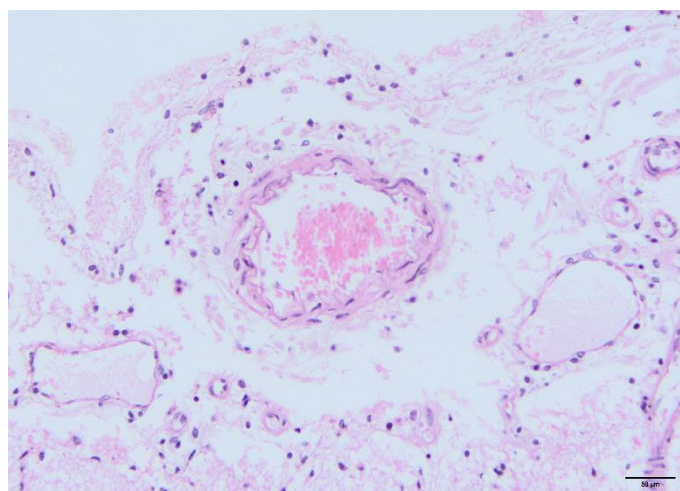


Figura 18. Exame histopatológico do rim.



A. Rim. Infiltrado inflamatório intersticial e glomeruloesclerose (seta). Coloração em HE, aumento de 200x. B. Infiltrado inflamatório intersticial. Coloração em HE, aumento de 200x. C. Infiltrado inflamatório em pelve renal. Coloração em HE, aumento de 400x. D. Espessamento por fibrose da cápsula de Bowman. Coloração de Tricrômico de Masson, aumento de 200x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

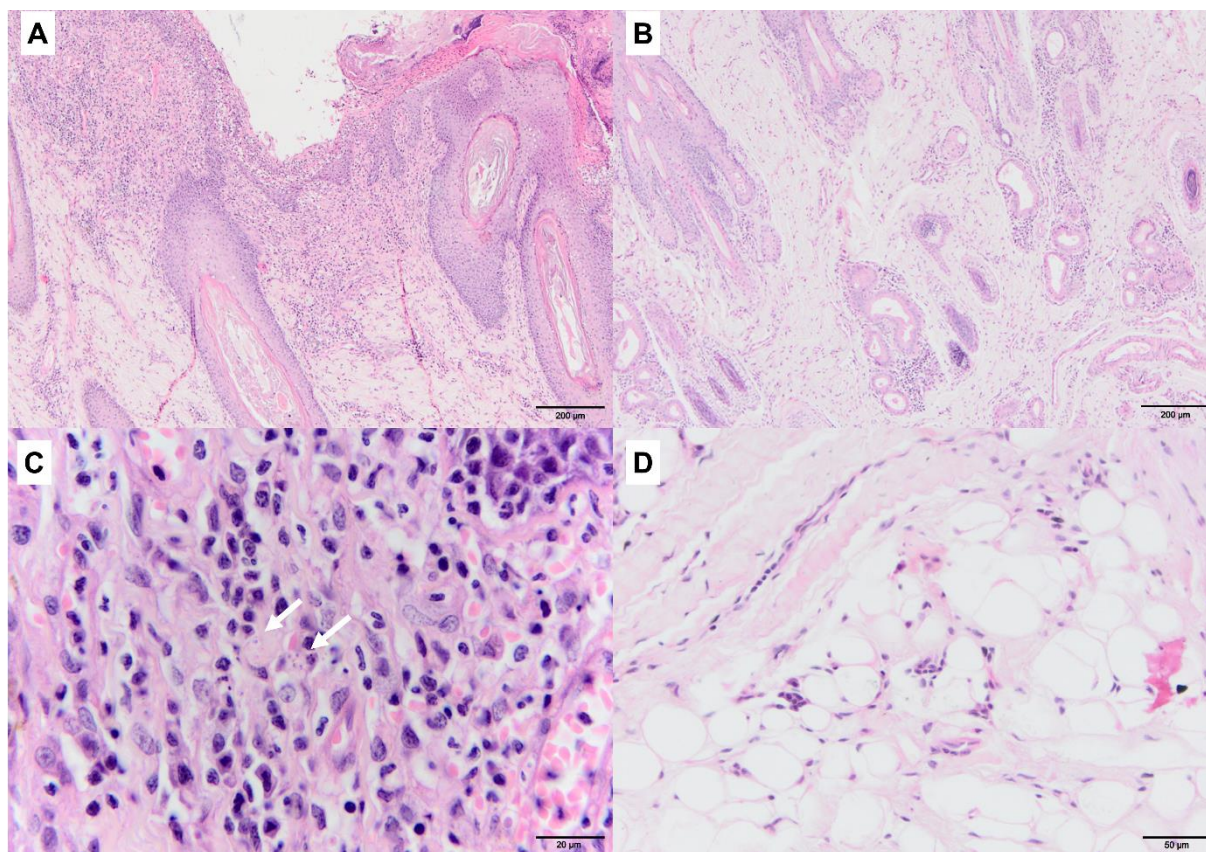
Figura 19. Exame histopatológico do encéfalo.



Leptomeninge do encéfalo. Infiltrado inflamatório discreto. Corado em HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.



Figura 20. Exame histopatológico da pele e do tecido subcutâneo.



A. Pele. Áreas de erosão e marcado infiltrado inflamatório em derme superficial. Corado em HE, aumento de 100X. B. Pele. Infiltrado inflamatório perianexial e perivascular em derme média e profunda. Corado em HE, aumento de 100x. C. Pele. Macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. (setas) em derme superficial. Corado em HE, aumento de 1000x. D. Tecido subcutâneo, com infiltrado inflamatório. Corado em HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

### 5.3. Caso 3

#### Histórico

O animal é da espécie canina, macho, sem raça definida e idade não informada. O cadáver do cão foi encaminhado ao Setor de Patologia Animal do Hospital Veterinário da FMVZ/USP no dia 06 de dezembro de 2023 pelo Centro de Zoonoses de Taboão da Serra. No ofício enviado, é informado que o cão possuía leishmaniose. Não foram enviados exames complementares e outras informações sobre o animal.

#### Exame necroscópico

##### Descrição macroscópica

O animal pesa 5,8 kg e apresenta condição corporal ruim (3 em escala de 1 a 9), caracterizado por costelas e vértebras lombares palpáveis, cintura perceptível e pouca gordura intra-abdominal.

Externamente, o animal exibe pelame opaco, com lesões descamativas em borda do pavilhão auricular e plano nasal, recobertas por creme/pomada de coloração esbranquiçada. Notam-se lesões ulcerativas de 3,5 x 3,0 cm, com exposição da tuberosidade sacral do osso ílio; de 2,5 x 2,0 cm, com exposição da tuberosidade isquiática do osso ísquio; de 3,5 x 1,0 cm da asa do ílio do membro posterior esquerdo e de 3,0 x 3,0 cm expondo a tuberosidade sacral do ílio e de 2,0 por 2,0 cm expondo a tuberosidade isquiática do membro posterior direito, recobertas por material pastoso esbranquiçado e particulado arroxeadado. Ao corte, observa-se lesão de continuidade com formação de cavitação de 2,0 cm em tecido subcutâneo, que drena material grumoso amarelado próximo de lesão em ísquio esquerdo. São observadas múltiplas lesões ulcerativas variando de 0,2 a 1,0 cm em região abdominal e em membro torácico direito. Há lesão pustular de 0,8 cm de diâmetro próximo à papila mamária abdominal caudal esquerda.

As mucosas oral e ocular estão discretamente avermelhadas e o olho apresenta opacidade de córnea. Há moderada quantidade de tártaro sobre os dentes. O dente incisivo direito (102) estava solto com a raiz exposta. Não são observados os dentes incisivos 101, 201 e 202.

Os lobos pulmonares esquerdos apresentam-se densos, vermelho-vinhosos e os lobos pulmonares direitos apresentam-se róseos, regulares, aerados, com discreta quantidade de líquido em brônquios.

O coração ocupava espaço correspondente a 3,5 espaços intercostais. Ao corte, o conteúdo das câmaras cardíacas encontra-se congelado. A relação da espessura da parede livre do ventrículo direito e do ventrículo esquerdo é de 1:2 (valor de referência = 1:3).

Nota-se aumento discreto em linfonodos submandibulares, cervicais superficiais e poplíteos. O baço apresenta bordos afilados, de coloração vermelho-clara homogênea.

O estômago apresenta serosa regular, rósea. Ao corte, há discreta quantidade de conteúdo líquido e particulado de coloração amarronzada. A mucosa estomacal apresenta-se regular, rósea. O intestino estava preenchido por discreta quantidade de material líquido e particulado de coloração amarronzada clara em duodeno e jejuno, e de coloração marrom-escuro pastosa em íleo e intestino grosso. São observados cinco parasitas nematoides arredondados medindo 10,0 x 1,0 mm de coloração discretamente avermelhada. Ausência de fezes em reto.

O fígado apresenta superfície e bordos regulares, de coloração vermelho-vinhosa. Ao corte, as características de superfície também são observadas no parênquima, o qual apresenta consistência firme.

Os rins apresentam superfície lisa, castanho-clara, homogênea. Ausência de aderências capsulares. Ao corte, discreta evidência de estriações corticais. A bexiga está vazia, com superfície mucosa sem alterações macroscópicas. Ausência de testículos.

Cérebro, cerebelo, adrenais, tireoides e paratireoides e articulações não apresentam alterações macroscópicas.

#### Diagnósticos morfológicos macroscópicos

1. Pulmão: edema e congestão;
2. Pele flanco: dermatite ulcerativa e paniculite necrotizante, multifocal, moderada;
3. Pele orelha: dermatite úlcero-crostosa, focal, moderada;
4. Intestino: enterite parasitária;
5. Cavidade oral: Periodontite moderada.

#### Diagnósticos morfológicos microscópicos

1. Pulmão:

- a. Edema pulmonar, focalmente extenso, moderado;
  - b. Congestão moderada;
  - c. Trombopoiese extramedular, discreta, difusa;
  - d. Antracose, multifocal, discreta;
2. Coração:
- a. Endocardite linfohistiocitária, multifocal, moderada;
  - b. Miocardite linfohistiocitária, multifocal, moderada;
3. Fígado:
- a. Hepatite centrolobular, linfohistiocítica, multifocal, moderada, crônica associada à presença de estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - b. Degeneração vacuolar macro e microgoticular, difusa, discreta de hepatócitos;
  - c. Colestase, discreta, multifocal;
4. Linfonodos:
- a. Linfadenite linfohistiocítica difusa, moderada, crônica com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - b. Trombopoiese extramedular, discreta, difusa;
  - c. Hemossiderose, multifocal, discreta a moderada;
5. Baço:
- a. Esplenite granulomatosa, multifocal, moderada associada a estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - b. Hemossiderose discreta, multifocal;
  - c. Trombopoiese, multifocal, discreta;
6. Pâncreas: pancreatite linfoplasmocítica, multifocal, discreta, crônica;
7. Intestino delgado: enterite linfoplasmocítica, difusa, discreta, crônica;
8. Glândula adrenal: adrenalite linfohistiocítica, multifocal, moderada, associada a estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
9. Rins:
- a. Microtrombos glomerulares, multifocal, moderado.

- b. Glomerulonefrite membranoproliferativa, multifocal, moderada.
  - c. Nefrite linfohistiocítica, multifocal, moderada, associada a estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.;
  - d. Proteinose tubular, moderada, multifocal.
10. Pele: dermatite linfohistiocítica, perivascular e perianexial, discreta, multifocal, com estruturas ovaladas de, aproximadamente, 1,0 µm de diâmetro, em citoplasma de macrófagos, compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.

**Causa mortis:** Colapso cardiorrespiratório.

**Exames complementares:**

Biologia Molecular

Método: Reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real

Local de realização do ensaio: Núcleo de Patologia Quantitativa – Centro de Patologia – Instituto Adolfo Lutz

Data do recebimento: 21/12/2023

Data da reação: 29/12/2023

Material: tecidos de diversos órgãos fixados em formalina e incluído em parafina.

Resultado:

*Leishmania infatum chagasi*: DETECTÁVEL (Cq = 27,89 e 20,58)

Teste desenvolvido pelo laboratório (TDL): protocolos adaptados do Infectious Diseases Pathology Branch Laboratory do Centers for Diseases Control and Prevention. A análise da qualidade do material genético extraído foi realizada através da amplificação de um gene endógeno do hospedeiro para cada amostra. Apresentando essa reação resultado indetectável, a amostra é considerada INADEQUADA para diagnóstico biomolecular. Caso não seja especificado, deve-se considerar que todos os controles da reação foram adequados. Os resultados se referem somente à amostra analisada. A amostragem é de responsabilidade do cliente.



Referência(s): Lachaud, L. et al. Comparison of Six PCR Methods Using Peripheral Blood for Detection of Canine Visceral Leishmaniasis. J. Clin. Microbiol. 40, 210–215 (2002); Lachaud, L. et al. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. Parasitology 125, 197–207 (2002).

Conclusão: DETECTÁVEL a pesquisa de *Leishmania infatum chagasi* por PCR em tempo real em múltiplos órgãos.

Valor de referência: não-detectável

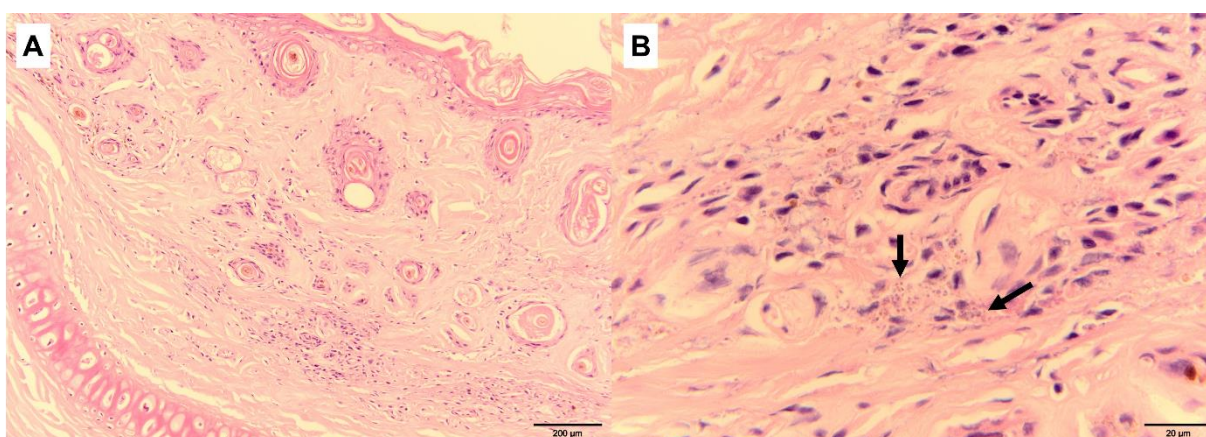
Observações:

DETECTÁVEL: amplificação do gene alvo do agente infeccioso pesquisado.

NÃO-DETECTÁVEL: ausência de amplificação do gene alvo do agente infeccioso pesquisado.

INADEQUADO: ausência de amplificação do gene endógeno.

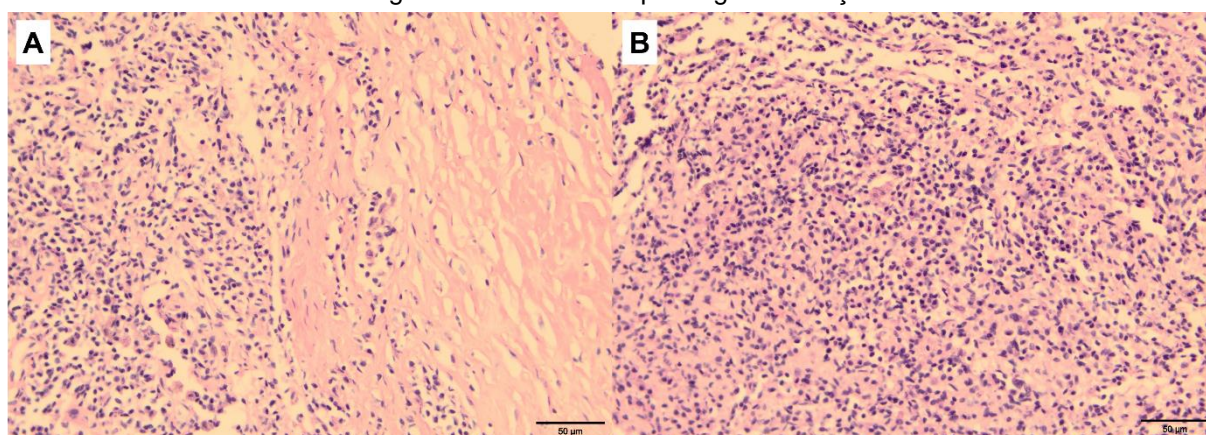
Figura 21. Exame histopatológico da pele de pavilhão auricular.



Pele do pavilhão auricular. A. Infiltrado inflamatório perivascular e perianexial. Corado em HE, aumento de 100X. B. Histiócitos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp. (setas). Corado em HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

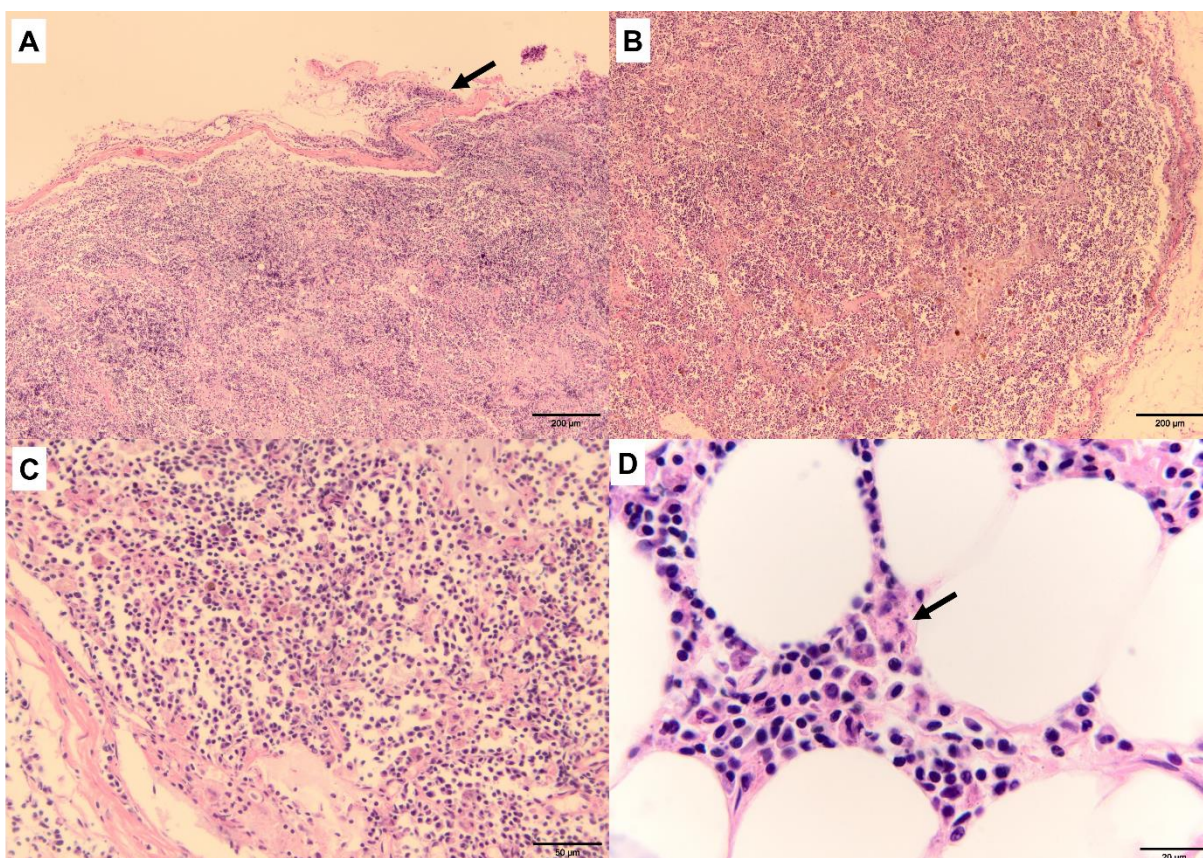


Figura 22. Exame histopatológico do baço.



Baço. A. Cápsula esplênica apresenta infiltrado inflamatório. Corado em HE, aumento de 400x. B. Infiltrado inflamatório em parênquima esplênico. Corado em HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

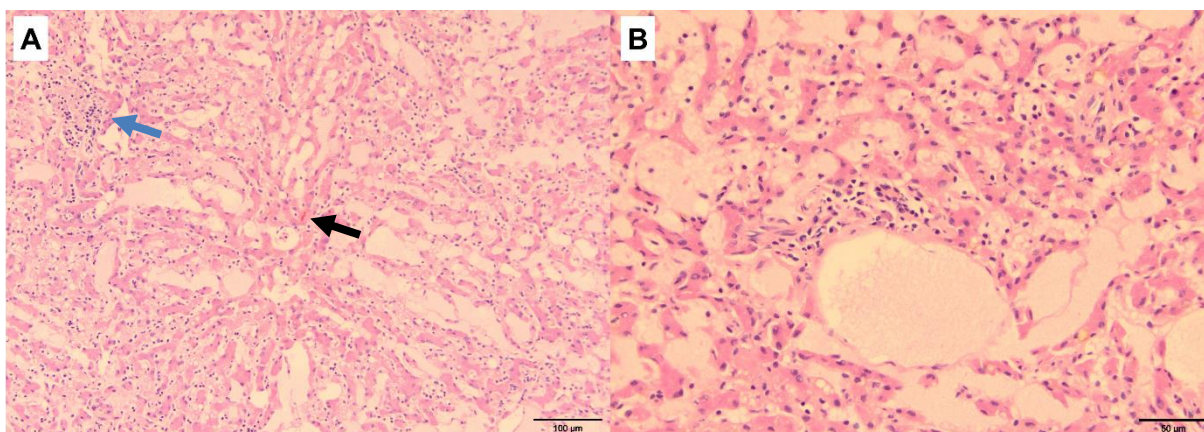
Figura 23. Exame histopatológico do linfonodo.



Linfonodo. A. Linfadenite e capsulite (seta). Aumento de 100x. B. Linfadenite. Corado em HE, aumento de 100x. C. Infiltrado inflamatório em linfonodo. Corado em HE, aumento de 400x. D. Macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* spp. em citoplasma (seta). Corado em HE, aumento de 1000x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

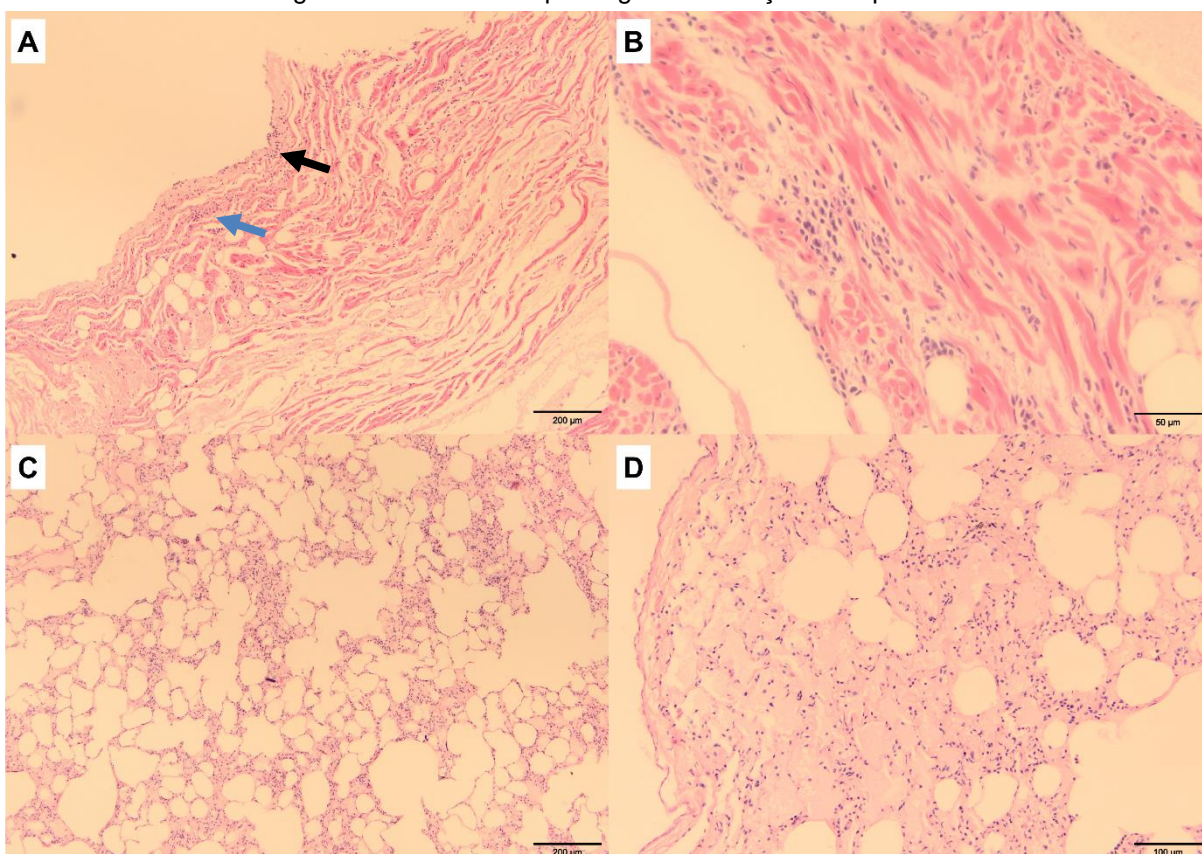


Figura 24. Exame histopatológico do fígado.



Coloração HE de fígado. A. Parênquima hepático. Colestase intra-hepática (seta preta) e infiltrado inflamatório (seta azul). Corado em HE, aumento de 200x. B. Infiltrado inflamatório portal. Corado em HE, aumento de 400x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

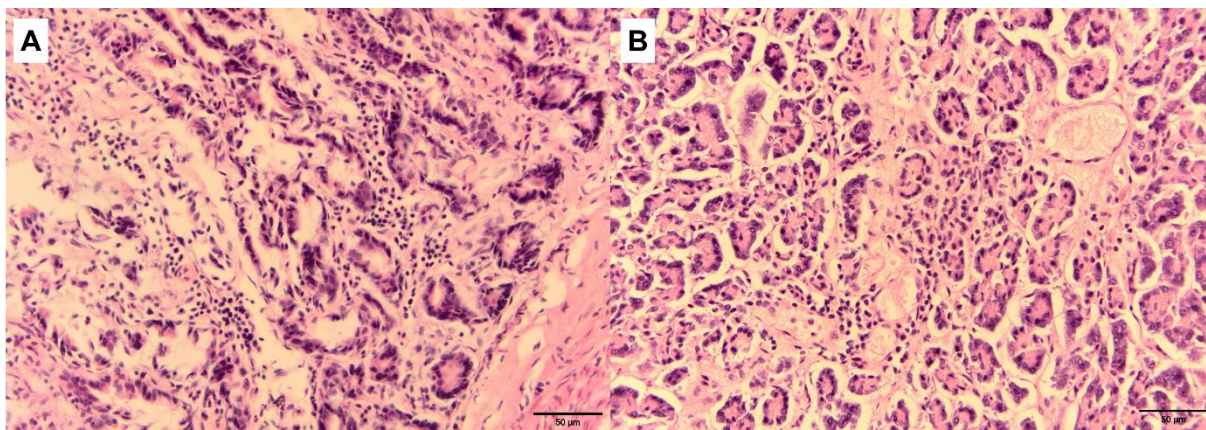
Figura 25. Exame histopatológico do coração e do pulmão.



Coloração HE. A. Coração. Infiltrado inflamatório em endocárdio (seta preta) e miocárdio (seta azul). Aumento de 100x. B. Infiltrado inflamatório em miocárdio. Aumento de 400x. C. Pulmão. Área sem edema. Aumento de 100x. D. Pulmão, edema pulmonar. Aumento de 200x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

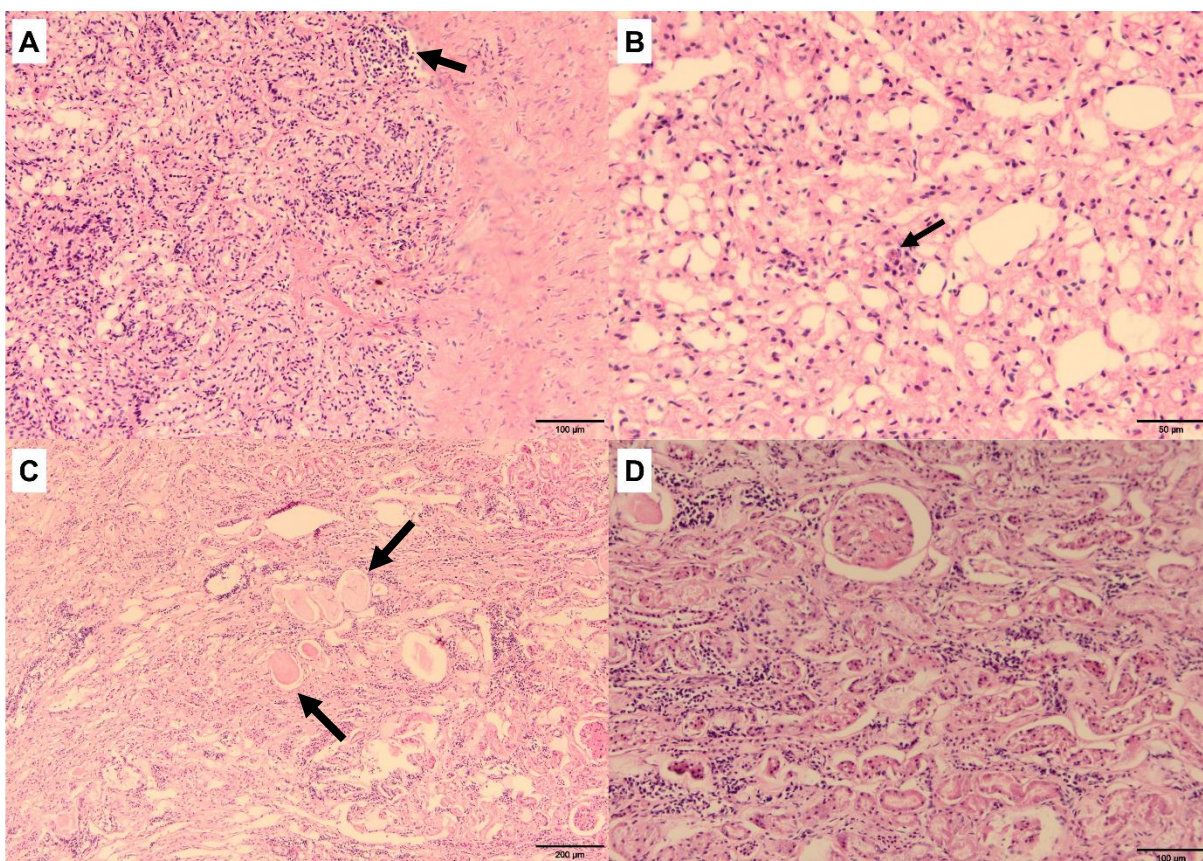


Figura 26. Exame histopatológico do intestino e do pâncreas.



Coloração HE. A. Intestino delgado. Infiltrado inflamatório nas vilosidades. Aumento de 400x. Pâncreas com infiltrado inflamatório intersticial. Aumento de 400x Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.

Figura 27. Exame histopatológico da adrenal e rim.



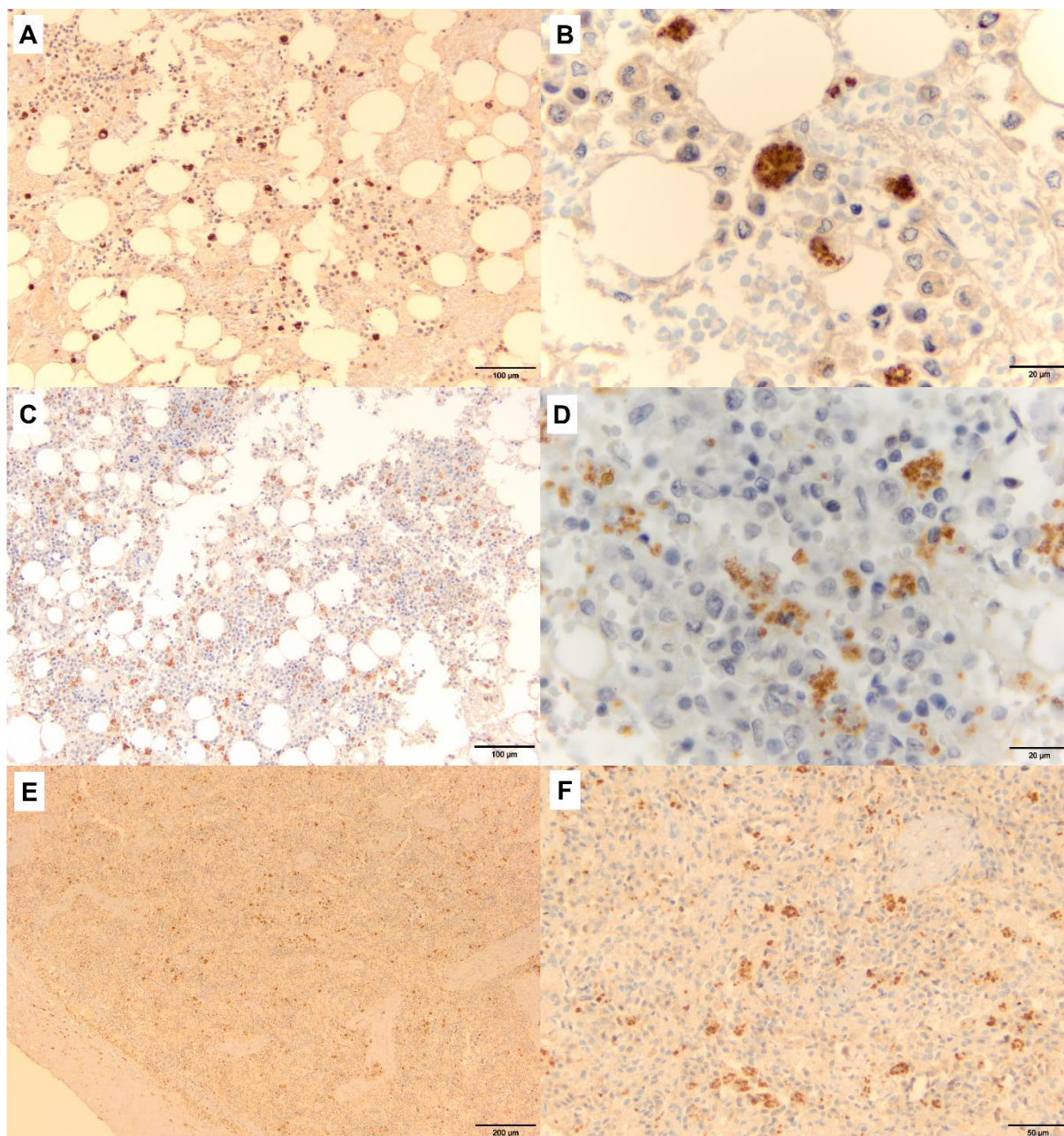
Coloração HE. A. Adrenal. Infiltrado inflamatório (seta). Aumento de 200x. B. Adrenal. Infiltrado inflamatório com macrófagos com estruturas compatíveis com *Leishmania* sp (seta). Aumento de 400x. C. Rim. Proteinose (seta). Aumento de 100x. D. Rim. Infiltrado inflamatório intersticial. Aumento de 200x. Fonte: Serviço de Patologia Animal do HOVET – FMVZ – USP.



#### 5.4. Exame imuno-histoquímico dos casos

Para complementação, foi realizado o exame imuno-histoquímico dos três casos. Nos casos 1 e 2, o tecido escolhido foi a medula óssea e, no caso 3, o baço e o fígado. Em todos os casos, há a confirmação imuno-histoquímica da presença de *Leishmania* sp.

Figura 28. Exame imuno-histoquímico.



Exame imuno-histoquímico. A. e B. Medula óssea do caso 1. A. Aumento de 200x. B. Aumento de 1000x. C e D. Medula óssea do caso 2. Aumento de 200x. B. Aumento de 1000x. E e F. Baço do caso 3. E. Aumento de 100x. F. Aumento de 400x.

## 6. DISCUSSÃO

Os cães dos casos 1 e 2 eram sintomáticos. Em relação ao cão do caso 3, não há histórico de exames prévios ou de manifestações clínicas, entretanto, o animal já era diagnosticado com leishmaniose. O cão do caso 1 apresentou perda de peso, lesões cutâneas, hipotricose, alopecia, êmese, diarreia, desidratação, onicogribose. O cão do caso 2 teve, como manifestações clínicas, anorexia, perda de peso, intolerância a exercício, desidratação, êmese e onicogribose. Essas manifestações clínicas são bem estabelecidas na literatura (Koutinas et al. 1999; Baneth et al. 2008; Koutinas and Koutinas 2014). Não se sabe a origem do cão do caso 1 e do caso 3, porém, o do caso 2 é originário do Rio de Janeiro.

Os cães 1 e 2 apresentaram anemia, linfopenia, aumento das concentrações séricas de ureia e creatinina e hipoalbuminemia, achados laboratoriais comumente relatados (Koutinas et al. 1999; Koutinas and Koutinas 2014).

O exame citológico da medula óssea foi realizado nos casos 1 e 2 para que houvesse o diagnóstico mais rápido e melhor visualização das estruturas do protozoário, principalmente do cinetoplasto. Em relação aos achados histopatológicos da medula óssea, nos cães 1 e 2 foram notadas hiperplasia de macrófagos e presença intracitoplasmática de estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp e hemossiderose; no paciente do caso 1, há displasia de megacariócitos, enquanto no paciente do caso 2, há acentuada redução da quantidade de megacariócitos, o que condiz com a condição de trombocitopenia apresentada por ele. Esses achados histopatológicos são similares aos de outros autores (Momo et al. 2014; Magalhães et al. 2022).

No caso da avaliação dos linfonodos, os achados de hiperplasia linfoide, linfadenite, plasmocitose e histiocitose sinusal, presença intracitoplasmática de estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* spp., hemossiderose e capsulite associada à inflamação histiocítica e plasmocítica extranodal também foram achados histopatológicos em outros estudos (Lima et al. 2004; Giunchetti et al. 2008). No caso 2, a esclerose medular evidencia a cronicidade do processo de hiperplasia linfoide.

Na LV, a linfadenopatia é comum e pode aparecer como uma alteração regional ou generalizada (Giunchetti et al. 2008). No caso 1, o aumento de tamanho foi observado nos linfonodos poplíteos, enquanto, no caso 2, nos mesentéricos,

mediastinais e poplíteos. No caso 3, há discreto aumento dos linfonodos submandibulares, cervicais superficiais e poplíteos.

No baço dos três cães, há estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. em citoplasma de macrófagos. Nos casos 1 e 3, nota-se a capsulite crônica, na qual também há os amastigotas. A capsulite é um achado comum na LV canina e, embora o aumento do tamanho do baço possa predispor esse órgão a trauma, a real gênese da peri-esplenite na leishmaniose é desconhecida. Porém, a peri-esplenite está associada à presença de macrófagos contendo parasitas em áreas subcapsulares (Santana et al. 2008), o que também foi encontrado nos casos 1 e 3. Nos três casos, há redução do número de folículos linfóides, porém, hiperplasia desses e grande quantidade de plasmócitos, que substituem as células residentes da polpa vermelha. Esses achados microscópicos são relatados por outros autores (Santana et al. 2008; de Magalhães et al. 2021).

No tecido hepático do caso 1, foi encontrado infiltrado inflamatório portal e centrolobular, e formas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. No caso 3, há inflamação centrolobular e formas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. A inflamação encontrada no caso 2 é discreta e não foram evidenciadas as formas amastigotas. Necrose hepatocelular, granulomas intrasinusoidais, encontrados em outros estudos, não foram evidenciados (Lima et al. 2019).

O intestino delgado exibiu inflamação nos três casos, porém, no caso 1, foram encontradas as formas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. A presença de amastigota de *Leishmania* sp. e inflamação no trato gastrointestinal de cães com LV é reportada em outros estudos (Pinto et al. 2011; da Silva et al. 2018).

Nos casos 1 e 3, foi realizado exame histopatológico do pâncreas, no qual foi evidenciada pancreatite intersticial linfoplasmocítica. No caso 1, notaram-se macrófagos com formas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma. No estudo de, 63% de cães com LV não apresentaram alteração histológica pancreática. As alterações comumente observadas foram pancreatite granulomatosa, pancreatite linfoplasmocítica, degeneração vacuolar de células acinares, fibrose e hemorragia. As formas amastigotas foram detectadas em 15,4% dos cães (Kost et al. 2021).

Nos três casos, há miocardite e endocardite e, no caso 1, há, também, pericardite, linfoplasmocíticas, multifocais. No caso 2, foram observadas estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. e, nesse caso, o processo

inflamatório foi classificado como moderado, assim como no caso 3. No caso 1, o processo foi classificado como discreto.

No estudo de Dos Santos et al. (2015), de 28 cães com LV, 24 (85,7%) exibiram infiltrado inflamatório em miocárdio, 11 (39,3%), em epicárdio e 4 (14,3%) em endocárdio. A distribuição da lesão variou de focal (25%, n=7) a focalmente extensa (10,7%, n=3) e multifocal (64,3%, n=18). Também foram observadas fibrose focal em miocárdio e vasculite necrotizante. Em apenas um animal foi confirmada a presença de *Leishmania* sp. intracitoplasmática.

Os animais dos casos 1 e 2 apresentaram pneumonia, entretanto, com classificações diferentes. No caso 1, há broncopneumonia neutrofílica, com bactérias cocoides extracelulares, de maneira que é possível inferir que seja uma infecção secundária à LV. Já no caso 2, a pneumonia é intersticial linfoplasmocítica, provavelmente causada pela própria LV e de ocorrência comum em cães com a enfermidade (Gonçalves et al. 2024).

Nos cães do estudo, foram encontradas lesões cutâneas e infiltrado linfoplasmohistiocítico de derme superficial à profunda, perianexial e perivascular. Foram observadas estruturas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. em derme superficial e profunda, o que corrobora com o fato de cães possuírem grande parasitismo cutâneo, o que facilita maior transmissão do protozoário aos flebotomíneos (Otranto e Dantas-Torres 2013).

Os cães dos casos 1 e 2 apresentaram paniculite subjacente às áreas de dermatite e, no caso 1, foi observada miosite.

De acordo com Moura et al. (2008), 12 cães naturalmente infectados com *L. infantum* apresentaram inflamação crônica em tecido cutâneo, porém, a intensidade da inflamação variou de acordo com o estado clínico do animal, de maneira que a inflamação intensa foi mais frequente em animais sintomáticos. No geral, a inflamação foi caracterizada como infiltrado mononuclear em derme superficial e profunda, perivascular e perianexial, com presença de amastigotas em derme superficial e profunda. Esses achados microscópicos assemelham-se, portanto, aos encontrados neste estudo.

No caso 1, foi avaliado o bulbo ocular esquerdo, que apresentou ceratite com formas amastigotas no citoplasma de macrófagos. (Luiz Da Cunha Brito et al. 2010) observaram, em cães com LV infiltrado inflamatório mononuclear discreto a intenso em diversas estruturas oculares, juntamente com amastigotas de *Leishmania* sp.,



congestão e perivasculite.

No caso 2, foi diagnosticada meningite linfoplasmocítica, discreta. Esse padrão é diferente do relatado por Viñuelas et al. (2001), que reportaram dois casos de cães com LV e meningite granulomatosa, com infiltrado linfoplasmohistiocítico e acentuada quantidade de amastigotas de *Leishmania* sp. intracelulares. No caso estudado, não foram observadas estruturas compatíveis com amastigotas, assim, não é possível correlacionar sua ocorrência com a infecção por *Leishmania* sp.

Nos rins dos três cães, foi observada nefrite intersticial linfoplasmocítica e glomeruloesclerose. Nos casos 1 e 3, há, também, glomerulonefrite membranoproliferativa e é possível observar as formas intracitoplasmáticas compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp. Os três cães apresentaram proteinose tubular. No estudo de Rigo et al. (2013), 18,0 dos cães com LV apresentaram glomerulonefrite membranosa e membranoproliferativa e 14,0% glomeruloesclerose segmentar e focal. Também foi constatada cilindrúria, hipertrofia tubular, fibrose e infiltrados inflamatórios periglomerular e peritubular.

No caso 3, foi avaliada a glândula adrenal, a qual exhibe adrenalite e formas amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos, o que já foi observado em outros estudos (Queiroz et al. 2010).

## 7. CONCLUSÕES

Os métodos citológico e histopatológico são capazes de identificar as estruturas compatíveis com formas amastigotas de *Leishmania* sp. em diversos órgãos. É necessário que o médico-veterinário patologista consiga correlacionar as informações sobre o histórico do animal, manifestações clínicas, achados em exames laboratoriais com os achados histopatológicos, para facilitar sua interpretação diagnóstica, uma vez que há lesões comumente encontradas em cães doentes, porém, sem a forma amastigota intracelular.

## REFERÊNCIAS

- Abranches P, Silva-Pereira MCD, Conceição-Silva FM, Santos-Gomes GM, Janz JG. Canine Leishmaniasis: Pathological and Ecological Factors Influencing Transmission of Infection. Source: The Journal of Parasitology [Internet]. 1991 Jul;77(4):557–61.
- Afonso MMDS, Duarte R, Miranda JC, Caranha L, Rangel EF. Studies on the feeding habits of *Lutzomyia* (*Lutzomyia*) *longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) populations from endemic areas of American Visceral Leishmaniasis in Northeastern Brazil. J Trop Med. 2012 Jan 18;2012.
- Agonigi B. Avaliação do Perfil Sorológico de Cães Imunizados com a Vacina Leish-Tec® Frente a Testes Utilizados no Imunodiagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. [Rio de Janeiro]: Fundação Oswaldo Cruz; 2020.
- Alvar J, Can C, Gutiérrez-Rez B, Jiménez M, Laguna F, Lez P vé, et al. Leishmania and Human Immunodeficiency Virus Coinfection: the First 10 Years. Clin Microbiol Rev. 1997 Apr;10(2):298–319.
- Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferrer L. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one [Internet]. Vol. 24, Trends in Parasitology. 2008 [cited 2024 Oct 12]. p. 324–30. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492208001323>
- Baneth G, Nachum-Biala Y, Adamsky O, Gunther I. Leishmania tropica and Leishmania infantum infection in dogs and cats in central Israel. Parasit Vectors. 2022 May 1;15(1):147.
- Basset D, Faraut F, Marty P, Dereure J, Rosenthal E, Mary C, et al. Visceral leishmaniasis in organ transplant recipients: 11 new cases and a review of the literature. Microbes Infect. 2005 Oct;7(13):1370–5.
- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de leishmaniose visceral-recomendações clínicas para a redução da letalidade. 2011;
- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral [Internet]. Brasília, DF: Editora MS; 2014 [cited 2024 Oct 12]. Available from: [https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_visceral\\_1edicao.pdf](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral_1edicao.pdf)
- Brasil. Ministério da Saúde. Doenças negligenciadas no Brasil: vulnerabilidade e desafios. In: Uma análise da situação de saúde e os desafios para o alcance dos objetivos de desenvolvimento sustentável. Brasília - DF; 2018. p. 99–142.
- Brasil. Ministério da Saúde. Nota Técnica nº 5-2021-CGVZ/DEIDT/SVS/MS. 2021 May 27;
- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - Situação epidemiológica das zoonoses e doenças de transmissão vetorial em áreas indígenas [Internet]. 2022 Apr. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br>
- Brasil. Ministério da Saúde. Boletim Epidemiológico - Doenças Tropicais Negligenciadas no Brasil. Morbimortalidade e resposta nacional no contexto dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável [Internet]. 2024 Jan. Available from: <https://www.gov.br/saude/pt-br>
- Brasil. Ministério da Saúde. Manual de recomendações para diagnóstico, tratamento e acompanhamento de pacientes com a coinfeção leishmania-HIV [Internet]. Brasília - DF; 2015. Available from: <http://editora.saude.gov.br>
- Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. Vol. 392, The Lancet. Lancet Publishing Group; 2018. p. 951–70.
- Camargo-Neves VLF, Rodas LAC, Gomes AC. Avaliação do hábito alimentar de *Lutzomyia longipalpis* no Estado de São Paulo. Boletim epidemiológico paulista [Internet]. 2007 Mar;4(39):39. Available from: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa39\\_leish.htm](http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa39_leish.htm)
- Carneiro M, Moreno EC, Gonçalves AV, Lambertucci JR, Antunes CMF. Visceral Leishmaniasis: Challenges in identifying subclinical Leishmania infection. Drug Dev Res. 2011 Sep;72(6):442–50.
- Centers for Disease Control (CDC). Viscerotropic leishmaniasis in persons returning from Operation Desert Storm - 1990-1991. Morbidity and Mortality Weekly Report. 1992 Feb 28;41(8):131–4.

- Ciaramella P, Oliva G, De Luna R, Gradoni L, Ambrosio R, Cortese L, et al. Papers and Articles A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec* [Internet]. 1997 Nov 22;141(21):539–43. Available from: <http://veterinaryrecord.bmj.com/>
- Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Leishmaniose Visceral Canina (LVC). 2021.
- Dantas-Torres F. Canine leishmaniasis: diagnosis and management of the urban. *Rev Inst Adolfo Lutz*. 2018 Dec 28;77:1–5.
- Dantas-Torres F, Miró G, Bowman DD, Gradoni L, Otranto D. Culling Dogs for Zoonotic Visceral Leishmaniasis Control: The Wind of Change. *Trends Parasitol*. 2019 Feb;35(2):97–101.
- Dey A, Singh S. Transfusion transmitted leishmaniasis: a case report and review of literature. *Indian J Med Microbiol* [Internet]. 2006 Sep;24(3):165–70. Available from: [www.ijmm.org](http://www.ijmm.org)
- Dias FOP, Lorosa ES, Rebêlo JMM. Fonte alimentar sanguínea e a peridomiciliação de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Psychodidae, Phlebotominae). *Cadernos de Saúde Pública* [Internet]. 2003 Oct [cited 2024 Oct 12];19(5):1373–80. Available from: <https://www.scielo.br/j/csp/a/n7XWtHRD9MDrHkZ9xkRC74N/abstract/?lang=pt>
- Ejara ED, Lynen L, Boelaert M, Van Griensven J. Challenges in HIV and visceral *Leishmania* co-infection: Future research directions. Vol. 15, *Tropical Medicine and International Health*. Blackwell Publishing Ltd; 2010. p. 1266–7.
- Eltoum IA, Zijlstra EE, Al MS, Ghalib HW, Satfi MMH, Eltoum B, et al. Congenital kala-zar and leishmaniasis in the placenta. *Am J Trop Med Hyg*. 1992 Jan;46(1):57–62.
- Evangelista LS, Carvalho LC, Gois LF, Moura LD, Cruz MS. Leishmaniose Visceral: há possibilidade de transmissão sexual e vertical entre cães? *Medicina Veterinária (UFRPE) / Medicina Veterinária Preventiva*. 2022 Sep 16;16(2).
- França-Silva JC, Da Costa RT, Siqueira AM, Machado-Coelho GLL, Da Costa CA, Mayrink W, et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. *Vet Parasitol*. 2003 Feb;111(2–3):161–73.
- Giunchetti RC, Martins-Filho OA, Carneiro CM, Mayrink W, Marques MJ, Tafuri WL, et al. Histopathology, parasite density and cell phenotypes of the popliteal lymph node in canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*. 2008 Jan 15;121(1–2):23–33.
- Gonçalves FC, Pereira R de A, Alves AF, Junio APW, Fujiwara RT, Mosser DM, et al. Canine Visceral Leishmaniasis: A Histological and Immunohistochemical Study of Fibropoiesis in Chronic Interstitial Pneumonitis. *Microorganisms*. 2024 May 7;12(5):941.
- Guerra LL, Teixeira-Carvalho A, Giunchetti RC, Martins-Filho OA, Reis AB, Corrêa-Oliveira R. Evaluation of the influence of tissue parasite density on hematological and phenotypic cellular parameters of circulating leukocytes and splenocytes during ongoing canine visceral leishmaniasis. *Parasitol Res*. 2009 Nov 5;104(3):611–22.
- Herwaldt BL. Leishmaniasis [Internet]. Vol. 354, *Lancet*. Elsevier B.V.; 1999 [cited 2024 Oct 12]. p. 1191–9. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(98\)10178-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(98)10178-2/fulltext)
- Herwaldt BL. Laboratory-acquired parasitic infections from accidental exposures. *Clinical Microbiology Reviews*. 2001 Oct;14(4):659–88.
- Holzmüller P, Bras-Gonçalves R, Lemesre JL. Phenotypical characteristics, biochemical pathways, molecular targets and putative role of nitric oxide-mediated programmed cell death in *Leishmania*. *Parasitology*. 2006a Oct 3;132(S1):S19–32.
- Holzmüller P, Hide M, Sereno D, Lemesre JL. *Leishmania infantum* amastigotes resistant to nitric oxide cytotoxicity: Impact on in vitro parasite developmental cycle and metabolic enzyme activities. *Infection, Genetics and Evolution*. 2006b May 26;6(3):187–97.
- Jambulingam P, Pradeep Kumar N, Nandakumar S, Paily KP, Srinivasan R. Domestic dogs as reservoir hosts for *Leishmania donovani* in the southernmost Western Ghats in India. *Acta Trop* [Internet]. 2017 Jul 1 [cited 2024 Oct 12];171:64–7. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X16309457?fr=RR->

- 2&ref=pdf\_download&rr=8edf45ecda404ee9
- Kost W de O, Pereira SA, Figueiredo FB, Mendes Junior AAV, Madeira M de F, Miranda L de FC, et al. Frequency of detection and load of amastigotes in the pancreas of Leishmania infantum-seropositive dogs: clinical signs and histological changes. *Parasit Vectors*. 2021;14(1):1–13.
- Koutinas A, Polizopoulou Z, Saridomichelakis M, Argyriadis D, Fytianou A, Plevraki K. Clinical Considerations on Canine Visceral Leishmaniasis in Greece: A Retrospective Study of 158 Cases. *J Am Anim Hosp Assoc* [Internet]. 1999 Sep 1;35(5):376–83. Available from: <http://meridian.allenpress.com/jaaha/article-pdf/35/5/376/1327220/15473317-35-5-376.pdf>
- Koutinas AF, Koutinas CK. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to Leishmania infantum/chagasi. *Vet Pathol*. 2014 Feb 7;51(2):527–38.
- Lima IS, Solcá MS, Tafuri WL, Dos-Santos WLC, De Freitas LAR. Assessment of histological liver alterations in dogs naturally infected with Leishmania infantum. *Parasit Vectors*. 2019 Oct 16;12(1).
- Lima WG, Michalick MSM, Melo MN De, Tafuri WL, Tafuri WL. Canine visceral leishmaniasis: A histopathological study of lymph nodes. *Acta Trop*. 2004 Sep;92(1):43–53.
- Luiz Da Cunha Brito F, Luiz J, Li L, Luiz W, Iii T, Marta M, et al. Histopathological findings and detection of parasites in the eyes of dogs infected naturally with Leishmania chagasi. *Ciência Rural*, Santa Maria. 2010 May;40(5):1141–7.
- De Luna R, Vuotto ML, Ielpo MTL, Ambrosio R, Piantedosi D, Moscatiello V, et al. Early suppression of lymphoproliferative response in dogs with natural infection by Leishmania infantum. *Vet Immunol Immunopathol*. 1999 May 4;70(1–2).
- Machado CJS, Silva EG, Vilani RM. Use of an instrument of controversial public health policy: Euthanasia of dogs contaminated by leishmaniasis in Brazil. *Saude e Sociedade*. 2016 Jan 1;25(1):247–58.
- Magalhães AO de, Bezerra LM, Araújo DP, Lima BSG de, Assunção L do P, Menezes RC, et al. Histological and immunohistochemical evaluations of the bone marrow from femur and sternal manubrium of dogs reactive for leishmaniasis by DPP® and ELISA tests. *Ciência Animal Brasileira*. 2022;23.
- de Magalhães AO, Bezerra LM, Araújo DP, de Lima BSG, do Padro Assunção L, de Paula Nascente E, et al. Anatomopathological and immunohistochemical analyses of the spleen and lymph node of dogs seropositives for leishmaniasis in serological tests. *Ciencia Animal Brasileira*. 2021 Aug 25;22.
- Mann S, Frasca K, Scherrer S, Henao-Martínez AF, Newman S, Ramanan P, et al. A Review of Leishmaniasis: Current Knowledge and Future Directions. *Curr Trop Med Rep* [Internet]. 2021 Mar 17;(2):121–32. Available from: <https://doi.org/10.1007/s40475-021-00232-7>
- Martínez-Orellana P, Quirola-Amores P, Montserrat-Sangrà S, Ordeix L, Llull J, Álvarez-Fernández A, et al. The inflammatory cytokine effect of Pam3CSK4 TLR2 agonist alone or in combination with Leishmania infantum antigen on ex-vivo whole blood from sick and resistant dogs. *Parasit Vectors*. 2017 Mar 13;10(1).
- Molyneux DH, Savioli L, Engels D. Neglected tropical diseases: progress towards addressing the chronic pandemic [Internet]. Vol. 389, *The Lancet*. Lancet Publishing Group; 2017 [cited 2024 Oct 12]. p. 312–25. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0140673616301714?via%3Dihub>
- Momo C, Jacintho APP, Moreira PRR, Munari DP, Machado GF, Vasconcelos RDO. Morphological changes in the bone marrow of the dogs with visceral leishmaniasis. *Vet Med Int*. 2014 Mar 5;2014(1).
- Moura EP, Ribeiro RR, Sampaio WM, Lima WG, Alves CF, Melo FA, et al. Histopathological and parasitological analysis of skin tissues biopsies from two distinct anatomical areas of the ears of dogs naturally infected with Leishmania (Leishmania) chagasi. *Braz J Vet Pathol* [Internet]. 2008 Jan 30;1(1):10–5. Available from: [www.bjvp.org.br](http://www.bjvp.org.br)

- Oliveira DMS, Saraiva EMS, Ishikawa EAY, Sousa AAA, Silva EO, Silva IM. Distribution of phlebotomine fauna (Diptera Psychodidae) across an urban-rural gradient in an area of endemic visceral leishmaniasis in northern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* [Internet]. 2011 Dec 11 [cited 2024 Oct 12];106(8):1039–44. Available from: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/yxkqcRCdvJS3YFNKZjLPGXF/?lang=en#>
- Oliveira MR, Neto MBO, Bezerra TL, da Silva WSI, da Paz WS, dos Santos IG, et al. Canine leishmaniasis in an endemic region, Northeastern Brazil: a comparative study with four groups of animals. *Parasitol Res*. 2021 Nov 1;120(11):3915–23.
- Otranto D, Dantas-Torres F. The prevention of canine leishmaniasis and its impact on public health. *Trends Parasitol*. 2013 Jul;29(7):339–45.
- Pan American Health Organization. Manual of procedures for leishmaniasis surveillance and control in the Americas [Internet]. Washington, D.C.; 2019 [cited 2024 Oct 12]. Available from: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51838>
- Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagenaar, J, Bernadina W, Real G Del, Ruitenberg J. Cellular and Humoral Immune Responses in Dogs Experimentally and Naturally Infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun*. 1994 Jan;62(1):229–35.
- Pinto AJW, Figueiredo MM, Silva FL, Martins T, Michalick MSM, Tafuri WL, et al. Histopathological and parasitological study of the gastrointestinal tract of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Acta Vet Scand*. 2011 Dec 13;53(1).
- Queiroz NMGP de, Assis J de, Oliveira TMFS, Machado RZ, Nunes CM, Starke-Buzetti WA. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2010 Mar;19(1):32–8.
- Ready PD. Epidemiology of visceral leishmaniasis. Vol. 6, *Clinical Epidemiology*. Dove Medical Press Ltd; 2014. p. 147–54.
- Rêgo FD, Soares RP. *Lutzomyia longipalpis*: An update on this sand fly vector. *An Acad Bras Cienc*. 2021;93(3):1–29.
- Reis AB, Teixeira-Carvalho A, Vale AM, Marques MJ, Giunchetti RC, Mayrink W, et al. Isotype patterns of immunoglobulins: Hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Vet Immunol Immunopathol*. 2006 Aug 15;112(3–4):102–16.
- Rigo RS, Carvalho CME, Honer MR, de Andrade GB, Silva IS, Rigo L, et al. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 2013 Mar;55(2):113–6.
- Salomon OD. *Lutzomyia longipalpis*, Gone with the Wind and Other Variables. Vol. 50, *Neotropical Entomology*. Springer; 2021. p. 161–71.
- Santana CC, Vassallo J, De Freitas LAR, Oliveira GGS, Pontes-De-Carvalho LC, Dos-Santos WLC. Inflammation and structural changes of splenic lymphoid tissue in visceral leishmaniasis: A study on naturally infected dogs. *Parasite Immunol*. 2008 Oct;30(10):515–24.
- Sant'anna MR, Nascimento A, Alexander B, Dilger E, Cavalcante RR, Diaz-Albiter HM, et al. Chicken blood provides a suitable meal for the sand fly *Lutzomyia longipalpis* and does not inhibit *Leishmania* development in the gut. *Parasit Vectors* [Internet]. 2010 Jan 11;3(3). Available from: <http://www.parasitesandvectors.com/content/3/1/3>
- Sant'Anna MRV, Jones NG, Hindley JA, Mendes-Sousa AF, Dillon RJ, Cavalcante RR, et al. Blood meal identification and parasite detection in laboratory-fed and field-captured *Lutzomyia longipalpis* by PCR using FTA databasing paper. *Acta Trop*. 2008 Sep;107(3):230–7.
- Dos Santos FP, Pascon JPE, Pereira DTP, Anjos BL, Mistieri MLA, Silveira ID, et al. Clinical and histopathological features of myocarditis in dogs with visceral leishmaniasis. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2015 May 6;67(6):1519–27.
- Dos Santos Marques LH, Da Rocha ICM, Reis IA, Da Cunha GMER, Oliveira E, Pfeilsticker TR, et al. *Leishmania infantum*: Illness, transmission profile and risk factors for asymptomatic infection in an endemic metropolis in Brazil. *Parasitology*. 2017 Apr 29;144(4):546–56.

- Saridomichelakis MN. Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: Epidemiologic and diagnostic implications. *Vet Dermatol*. 2009 Dec 16;20(5–6):471–89.
- Sevá AP, Ovallos FG, Amaku M, Carrillo E, Moreno J, Galati EAB, et al. Canine-based strategies for prevention and control of visceral leishmaniasis in Brazil. *PLoS One*. 2016 Jul 29;11(7):1.
- da Silva DT, Alves ML, Spada JCP, da Silveira R de CV, Oliveira TMF de S, Starke-Buzetti WA. Neutrophils, eosinophils, and mast cells in the intestinal wall of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*. 2018 Oct 1;27(4):430–8.
- Singh S, Kumari V, Singh N. Predicting Kala-Azar disease manifestations in asymptomatic patients with latent *Leishmania donovani* infection by detection of antibody against recombinant K39 antigen. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002;9(3):568–72.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol*. 2009a May 26;165(1–2):1–18.
- Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. Vol. 165, *Veterinary Parasitology*. Elsevier; 2009b. p. 1–18.
- Solano-Gallego L, Lull J, Ramos G, Riera C, Arboix M, Alberola J, et al. The Ibiza hound presents a predominantly cellular immune response against natural *Leishmania* infection. *Vet Parasitol*. 2000 Jul 10;90(1–2).
- Sousa-Paula LC de, Otranto D, Dantas-Torres F. *Lutzomyia longipalpis* (Sand Fly) [Internet]. Vol. 36, *Trends in Parasitology*. Elsevier Ltd; 2020 [cited 2024 Oct 12]. p. 796–7. Available from: Lucas Christian de Sousa-Paula
- Stark D, Pett S, Marriott D, Harkness J. Post-kala-azar dermal leishmaniasis due to *Leishmania infantum* in a human immunodeficiency virus type 1-infected patient. *J Clin Microbiol*. 2006 Mar;44(3):1178–80.
- Thomaz-Soccol V, Gonçalves AL, Piechnik CA, Baggio RA, Boeger WA, Buchman TL, et al. Hidden danger: Unexpected scenario in the vector-parasite dynamics of leishmaniasis in the Brazil side of triple border (Argentina, Brazil and Paraguay). *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2018 Apr 6 [cited 2024 Oct 12];12(4). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29624586/>
- Viñuelas J, García-Alonso M, Ferrando L, Navarrete I, Molano I, Mirón C, et al. Meningeal leishmaniosis induced by *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. *Vet Parasitol*. 2001 Mar 13;101:23–7.
- Werneck GL, Costa CHN, Walker AM, David JR, Wand M, Maguire JH. Multilevel modelling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. *Epidemiol Infect*. 2006 Feb 7;135(2):195–201.
- World Health Organization (WHO). Leishmaniasis. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>. 2023.
- Zacarias DA, Rolão N, de Pinho FA, Sene I, Silva JC, Pereira TC, et al. Causes and consequences of higher *Leishmania infantum* burden in patients with kala-azar: a study of 625 patients. *Tropical Medicine and International Health*. 2017 Jun 1;22(6):679–87.