



**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO AMAZONAS
CAMPUS MANAUS ZONA LESTE
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA**

MIRELLA CASTRO OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE CÃES SORORREAGENTES PARA
LEISHMANIA SPP. NOS MUNICÍPIOS DE MANAUS E PRESIDENTE
FIGUEIREDO/AM**

Manaus – AM

2019

MIRELLA CASTRO OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE CÃES SORORREAGENTES PARA
LEISHMANIA SPP. NOS MUNICÍPIOS DE MANAUS E PRESIDENTE
FIGUEIREDO/AM**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Medicina Veterinária do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas CMZL, como requisito para obtenção ao título de Graduação em Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof. Dra. Flávia Volpato Vieira

Manaus – AM

2019



Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD

O482o Oliveira, Mirella Castro.
Avaliação hematológica de cães sororreagentes para *Leishmania* spp. nos municípios de Manaus e Presidente Figueiredo/AM. / Mirella Castro Oliveira. – Manaus, 2019.
31 f. : 30 cm.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) –
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas –
Campus Manaus Zona Leste, Curso de Medicina Veterinária, 2019.
Inclui DVD.

Orientador: Prof^a Flávia Volpato Vieira.

1. Saúde Pública. 2. Leishmaniose. 3. Amazonas. I. Vieira, Flávia Volpato. II. Título.

CDD –

636.089615

MIRELLA CASTRO OLIVEIRA

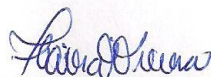
**AVALIAÇÃO HEMATOLÓGICA DE CÃES SORORREAGENTES PARA
LEISHMANIA SPP. NOS MUNICÍPIOS DE MANAUS/AM E PRESIDENTE
FIGUEIREDO/AM**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao curso de Medicina
Veterinária do Instituto Federal de
Educação, Ciência e Tecnologia do
Amazonas (IFAM), como requisito para
obtenção ao título de Graduação em
Medicina Veterinária.

Orientadora: Prof. Dra. Flávia Volpato
Vieira

Aprovação em 06 / 12 / 19

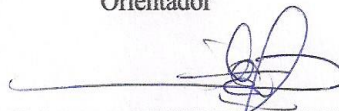
BANCA EXAMINADORA



Professor Dra. Flávia Volpato Vieira

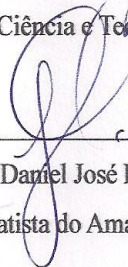
Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas - IFAM

Orientador



Prof. Dr. Alexandre Alberto Tonin

Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Amazonas - IFAM



Prof. Me. Daniel José Hoffmann

Escola Superior Batista do Amazonas – ESBAM

Manaus/AM

2019

À minha avó Lourdes (in memoriam), minha mãe
Neide e minha filha Isabela, por todo amor a mim
dedicado e por tornarem meus dias mais felizes.

Ao meu companheiro Emílio, pelo apoio e por
acreditar nesse sonho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por ter me dado a oportunidade de recomeçar a minha vida no Amazonas, por sempre ter me guiado e colocado as pessoas certas em meu caminho.

Ao meu pai, meu irmão, meus sobrinhos e minha cunhada e amiga, Ellane, que foram presentes e apoiaram todas as minhas escolhas, recebendo-me com braços abertos sempre que retornei à Teresina.

À minha família materna, que é para mim exemplo de união, companheirismo e amor. Em especial à tia Leda e seu esposo, Magnus Pinheiro, que estiveram comigo na reta final, proporcionando o aconchego familiar.

À minha orientadora Dra. Flávia Volpato Vieira, por todo apoio, incentivo, ensinamentos, dedicação, por sempre estar presente, aberta as dúvidas e por ser exemplo de ser humano e profissional para mim.

Aos professores e servidores do IFAM CMZL, que de alguma forma contribuíram com a minha formação acadêmica. Em especial ao professor Dr. Felipe Faccini e ao professor Dr. Alexandre Tonin, por todo empenho e contribuição para que a realização dos Estágios Supervisionados.

Aos amigos do curso, Daniel Praia, Emanuella Ipuchima, Ísis Mônica, Júlia Eudóxia, Natália Manuela, Thaís Gomes, que tornaram a rotina da faculdade mais divertida, mesmo nas épocas em que parecíamos andar em brasas ardentes. E minha amiga Patrícia Batista, que foi como uma irmã, referência de família em Manaus.

Agradeço as amigas Chrystiane, Danielle, Eugeni, Luana e Nicássia, por terem sido incentivadoras na concretização desse sonho.

Às professoras Heloísa Justen e Márcia Salomão, e todos os profissionais, residentes e alunos, serei eternamente grata pelos ensinamentos e troca de experiências durante a realização dos estágios curriculares.

Por fim agradeço aos animais que cruzaram o meu caminho antes dessa jornada, em especial ao Logan, que diante da Cinomose me fez enxergar a veterinária e aos que encontrei durante o percurso, em especial minhas companheiras felinas Mafalda e Marie.

RESUMO

Leishmanioses são doenças de caráter zoonótico com importância em saúde pública, que tem como agente etiológico protozoários do gênero *Leishmania*. Apresenta ciclo biológico heteroxênico, com vetores flebotomíneos e dentre os hospedeiros destaca-se o cão como principal reservatório, porém pode acometer mamíferos silvestres e o homem. No Brasil há descrição da ocorrência da leishmaniose tegumentar e leishmaniose visceral. A forma tegumentar apresenta alta casuística em humanos na região norte. O presente trabalho avaliou 152 amostras hematológicas obtidas de cães dos municípios de Manaus e Presidente Figueiredo/AM, regiões endêmicas para leishmaniose tegumentar. Foram realizados eritrograma e o leucograma através de técnica manual tradicional e a contagem diferencial de leucócitos foi realizada sob microscopia óptica, em objetiva de imersão (100x). As amostras foram submetidas ao teste DPP, sendo 32 sororreagentes para *Leishmania*. No entanto, o hemograma, os valores de eritrócitos, volume globular, leucócitos, plaquetas e proteína plasmática total não apresentaram diferença estatística entre os animais reagentes e não reagentes ($p>0,05$). Porém cães portadores de leishmania podem permanecer assintomáticos não apresentando alterações hematológicas sugestivas. Contudo o DPP demonstrou-se uma útil ferramenta para triagem de *leishmania*, embora não apresente especificidade. Já o hemograma neste estudo não apresentou alterações significativas, sugerindo que as infecções detectadas ao DPP podem estar relacionadas a leishmaniose tegumentar. Sendo assim, são necessários novos estudos para investigar as espécies de *Leishmania* envolvidas nas infecções em cães domésticos nas regiões amazônicas e a relação desses com os casos de leishmaniose tegumentar humana.

Palavras-chave: Saúde pública, leishmaniose, Amazonas.

ABSTRACT

Leishmaniasis are diseases of a zoonotic nature with importance in public health, which has as a protozoan etiological agent of the genus *Leishmania spp.* It has a heteroxenic biological cycle, with a phlebotomine vector and among the hosts stands out the dog as the main reservoir, but it can affect wild mammals and man. In Brazil there is a description of the occurrence of tegumentary leishmaniasis and visceral leishmaniasis. The tegumentary form presents high casuistics in humans in the northern region. The present work evaluated 152 hematological samples obtained by peripheral venopuncture of dogs seroreagents to the DPP in the municipalities of Manaus/AM and Presidente Figueiredo/AM, endemic regions for tegumentary leishmaniasis. Erythrogram and leukogram were performed using a traditional manual technique and the differential leukocyte count was performed under optical microscopy, in immersion lens (100x). Of the 152 samples 32 were reagents for *Leishmania spp.* However, blood count, erythrocytes values, globular volume, leukocytes, platelets and total plasma protein showed no statistical difference between reactive and non-reactive animals ($p>0.05$). However, dogs with *leishmania spp.* may remain asymptomatic not presenting suggestive hematological alterations, since the most frequent clinical manifestation is dermatological. It is concluded that PPD is useful tool for screening *leishmania spp.* although it does not present specificity, false positives may occur. The hematological characterization of the samples studied did not present diagnostic indication. Thus, further studies are needed to investigate *leishmania spp.* species involved in infections in domestic dogs in the Amazon regions and their relationship with cases of human tegumentary leishmaniasis.

Keywords: Public health, leishmaniasis, Amazonas.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

DPP – DUAL PATH PLATAFORM

EDTA - ÁCIDO ETILENO DIAMINO TETRA CÉTICO

ESBAM – ESCOLA SUPERIOR BATISTA DO AMAZONAS

LT – LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

LV – LEISHMANIOSE VISCERAL

PCR – REAÇÃO EM CADEIA POLIMERASE

PPT – PROTEÍNA PLASMÁTICA TOTAL

RIFI – IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1. FORMA PROMASTIGOTA E AMASTIGOTA	14
FIGURA 2. FÊMEA DE <i>Lutzomyia longipalpis</i>	15
FIGURA 3. CICLO DA <i>Leishmania</i>	16
QUADRO 1. CASOS NOTIFICADOS DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR	17
FIGURA 4. MAPA DA AMAZÔNIA CENTRAL	22
FIGURA 5. LESÃO EM BORDA DE ORELHA CANINA	23
TABELA 1. VALORES DE MÉDIA E DESVIO PADRÃO DE ÍNDICE ERITROCITÁRIO	25
TABELA 2. VALORES DE ÍNDICE HEMATOLÓGICO	26

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	11
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	13
2.1 AGENTE ETIOLÓGICO.....	13
2.2 VETOR	14
2.3 CICLO BIOLÓGICO.....	15
2.4 EPIDEMIOLOGIA	16
2.5 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR	17
2.6 LEISHMANIOSE VISCERAL	18
2.7 DIAGNÓSTICO	18
2.8 TRATAMENTO	19
3 OBJETIVOS	21
3.1 OBJETIVO GERAL	21
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	21
4 METODOLOGIA	22
4.1.1 ÁREA DE ESTUDO	22
4.1.2 AMOSTRAS	23
4.1.3 HEMOGRAMA	23
4.1.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	24
5 RESULTADOS	25
6 DISCUSSÃO	27
7 CONCLUSÃO	30
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

1 INTRODUÇÃO

Leishmanioses são zoonoses de grande importância em saúde pública e envolvem a participação de diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania* spp., de flebotomíneos que atuam como vetores da doença, e de hospedeiros reservatórios, os quais desempenham função no ciclo de transmissão zoonótica e antropozoonótica (DESJEUX, 2004). A taxonomia é variável entre os autores, há diversas espécies presentes na América e na Europa que infectam humanos e animais.

Envolve manifestações clínicas com apresentação cutânea, mucocutânea (leishmaniose tegumentar) e visceral (LV). As espécies do protozoário que causam a forma visceral não são distinguidas, morfológicamente, pela microscopia convencional, das espécies envolvidas nas formas cutânea e mucocutânea. A forma amastigota é obrigatoriamente intracelular, mantendo-se e multiplicando-se principalmente no interior dos macrófagos e, em menor extensão, nas células dendríticas (células de Langerhans) dos hospedeiros vertebrados (LANGONI, 2016).

Em 2014, mais de 90% dos novos casos notificados a OMS ocorreram em 6 países: Brasil, Etiópia, Índia, Somália, Sudão e Sudão do Sul (WHO, 2015). A leishmaniose tegumentar é relatada em cães no Brasil e outros países da América do Sul e a maior casuística da doença em humanos ocorre na região norte do país (GUERRA et al., 2007). *L. braziliensis* é a espécie de *Leishmania* mais disseminada que causa leishmaniose tegumentar na América do Sul. Os surtos de leishmaniose tegumentar americana foram associados ao desmatamento de florestas e, embora não seja considerado o principal reservatório da doença, a importância do cão no ciclo da LT ainda não está elucidada (MADEIRA et al., 2003), uma vez que a presença do ciclo silvestre da *Leishmania* parece incapaz de explicar o aumento das notificações de novos casos de leishmaniose tegumentar na região amazônica, sugerindo a presença do ciclo urbano nessa área (MS,2017).

A leishmaniose visceral é a forma mais grave da doença, podendo levar à óbito. Dentre os hospedeiros, o cão é considerado a principal espécie envolvida no ciclo urbano da transmissão da leishmaniose visceral. Dessa forma, o diagnóstico precoce de cães acometidos pela leishmaniose auxilia a adoção de medidas preventivas em regiões endêmicas (MADEIRA et al., 2003).

A leishmaniose canina geralmente apresenta-se como infecção subclínica devido as manifestações estarem relacionadas com a carga parasitária circulante no hospedeiro. Essencialmente é uma doença sistêmica crônica, que pode acometer potencialmente qualquer órgão ou tecido e se manifesta por numerosos sinais clínicos tais como lesões cutâneas, linfadenomegalia local ou generalizada, perda de peso, intolerância ao exercício, diminuição do apetite, letargia, hepatoesplenomegalia, lesões oculares, onicogribose, entre outros (BANETH, SOLANO-GALLEGO, 2012).

O diagnóstico é obtido através da constatação de apresentação clínica compatível com a doença associada a exames clínicopatológicos e ensaios diagnósticos específicos como exames citológicos e/ou histopatológicos, sorologia, cultura do microorganismo ou detecção do DNA com métodos moleculares. As alterações hematológicas associadas a infecção incluem anemia, leucopenia/leucocitose, trombocitopenia e aumento das proteínas plasmáticas totais (BANHETH; SOLANO-GALLEGO, 2012; LANGONI, 2016).

O exame parasitológico apresenta boa especificidade (BRASIL, 2006; SINGH; SIVAKUMAR, 2003; LIMA et al., 2014), no entanto o encontro de parasitos no material examinado depende do número de campos observados, e sua identificação não é difícil quando os parasitos são numerosos. Contudo, em muitos casos, nos quais há poucas formas amastigotas, ou em amostras hemodiluídas, podem ocorrer resultados falsos negativos (SINGH; SIVAKUMAR, 2003).

Embora a leishmaniose canina seja uma doença bastante relatada, há poucos estudos referentes ao perfil hematológico de cães portadores da doença, especialmente no estado do Amazonas. O hemograma é um dos principais exames solicitado pelos clínicos veterinários e o conhecimento das alterações hematológicas causadas pela *Leishmania* spp junto ao exame parasitológico podem auxiliar no diagnóstico, haja a vista a importância da identificação dos doentes para a localização dos principais focos de infecção dentro do município para que sejam tomadas as medidas cabíveis de prevenção dessa enfermidade que constitui um problema de saúde pública. Vale ressaltar que foram realizados poucos inquéritos sorológicos que avaliaram a presença de anticorpos anti-*Leishmania*-spp (GUERRA et al., 2007; REIS et al., 2008) em cães de zonas específicas dentro dos municípios de Manaus e Presidente Figueiredo, de modo que os fatores de risco para ocorrência e a prevalência da infecção permanecem pouco esclarecidos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 AGENTE ETIOLÓGICO

Leishmanioses são patologias desenvolvidas a partir de infecção por protozoários pertencentes à Ordem *Kinetoplastida*, Família *Trypanosomatidae*, Gênero *Leishmania* (REY, 2008). Dentre as espécies merecem destaque a *Leishmania (Leishmania) donovani* localizada nos continentes europeu, asiático e africano, e a espécie *L. (Leishmania) infantum chagasi*, encontrada no continente americano, por desencadarem a leishmaniose visceral (KAYE, 2011).

A doença ocasionada por protozoários do gênero *Leishmania* apresenta-se com uma variedade de manifestações clínicas, tanto no animal quanto no homem, incluindo afecções da forma visceral a lesões cutâneas. O grau de comprometimento depende da espécie parasita envolvida e do sistema imune do hospedeiro, imunossuprimidos estão mais suscetíveis. (CUPOLILLO et al., 2014).

No Brasil, o agente etiológico que representa a forma visceral é a *Leishmania infantum chagasi*, espécie com características moleculares e bioquímicas à *L. infantum*, quando parasita o hospedeiro gera manifestações clínicas similares, podendo utilizar a nomenclatura *Leishmania Leishmania infantum chagasi* (LUKES et al., 2007). As espécies *L. (Viannia) braziliensis*, *L. (Leishmania) amazonensis* e *L. (Viannia) guyanensis* são descritas como agentes que ocasionam a Leishmaniose tegumentar em mamíferos domésticos e silvestres, acometendo inclusive o homem (CARVALHO et al, 2018).

Esses protozoários são parasitos intracelulares obrigatórios do sistema reticuloendotelial (SRE). Durante seu ciclo evolutivo estão presentes moléculas localizadas na superfície de sua membrana que são responsáveis por determinar sua virulência, infectividade, sobrevivência e patogênese. Cita-se um complexo lipofosfoligano presente na membrana durante a forma flagelada e uma enzima (gp63) encontrada em todas as formas evolutivas (AGUIAR, 2016).

Apresentam caráter diegenético, são encontradas sob as formas promastigota e paramastigota (flagelo externo), quando em fase livre em meio extracelular ou trato digestivo de hospedeiros invertebrados; e na forma amastigota (flagelo interno), ao parasitar células do sistema reticuloendotelial (SRE) dos hospedeiros vertebrados (NEVES, 2016).

A forma promastigota caracteriza-se por ser alongada, seu comprimento varia entre 5 a 20 x 1 a 4µm; já a forma amastigota é arredondada medindo entre 2 e 4µm de diâmetro (Figura 1). O formato celular é determinado pelo modo de organização dos flagelos, inseridos na membrana plasmática, por todo corpo do parasita. Apresenta uma bolsa flagelar, contendo nove pares de microtúbulos dispostos periféricamente em torno de um par de microtúbulos ao centro (VANNIER-SANTOS, 2002).

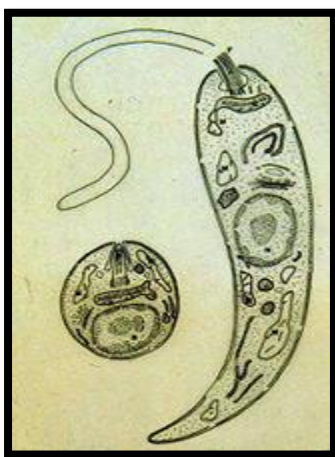


Figura 1. Formas promastigota e amastigota. Fonte: Fiocruz, 2017.

Para a identificação da leishmania são analisadas características genotípicas e fenotípicas, constituindo-se das características biológicas, imunológicas, bioquímicas e moleculares, além do tipo de hospedeiro acometido e a distribuição geográfica (VERONESI et al, 2005).

2.2 VETOR

Os flebótomos do gênero *Lutzomyia* apresentam relevância na saúde pública, pois são descritos como os únicos vetores naturais da *Leishmania* (COSTA, 2016). Suas fêmeas fazem hematofagia em anfíbios, répteis, aves e mamíferos, incluindo os humanos, sendo responsável pela transmissão do protozoário (NEVES, 2016). A espécie *Lutzomyia longipalpis* (Figura 2) é descrita como principal vetor dos agentes da Leishmaniose Visceral no Brasil, devido a sua capacidade vetorial e por estar presente em toda América. Outros potenciais vetores são as espécies *Lutzomyia migonei* e *Lutzomyia cruzi* incriminada como vetor no Mato Grosso do Sul (Brasil, 2014).



Figura 2. Fêmea de *Lutzomyia longipalpis*. Fonte: FREITAS, 2010.

Os vetores apresentam hábitos crepusculares, podendo realizar repasto durante toda à noite, são encontrados em troncos e copa arvores, tocas, frestas em rochas e lugares com pouca oscilação de temperatura e umidade (NEVES, 2016). Embora apresente esses hábitos, a espécie conseguiu adaptar-se às alterações ambientais, habitando também ambientes urbanos, incluindo o homem no ciclo de transmissão da leishmaniose (AMARO, 2017).

2.3 CICLO BIOLÓGICO

O ciclo biológico da *Leishmania* spp é heteroxênico, necessita de um hospedeiro intermediário (invertebrado) e um hospedeiro definitivo (vertebrado). As fêmeas de *L. longipalpis* são responsáveis pela transmissão do protozoário aos hospedeiros definitivos. São acometidos mamíferos silvestres ou domésticos, incluindo o homem e podem permanecer como reservatório do parasito (BARBOSA et al., 2011).

Ao realizar o repasto sanguíneo em hospedeiro infectado, a fêmea de *L. longipalpis*, ingere a *leishmania* na forma amastigota, que no interior do seu aparelho digestivo irá se diferenciar para a forma promastigota, que serão posteriormente regurgitadas e inoculadas no hospedeiro. Ao detectar a presença do protozoário, os macrófagos fagocitam as formas promastigotas circulantes, porém são incapazes de destruí-los, ocorrendo a diferenciação para a forma amastigota e estas realizam sucessivas divisões binárias ocasionando a lise do macrófago (LANGONI, 2016).

A disseminação por via hematogena e linfática da *leishmania* ocorre para tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como os linfonodos, baço, fígado e a medula óssea (BATES, 2007). Dessa forma disponível à continuidade do ciclo biológico, como representado na figura 3.

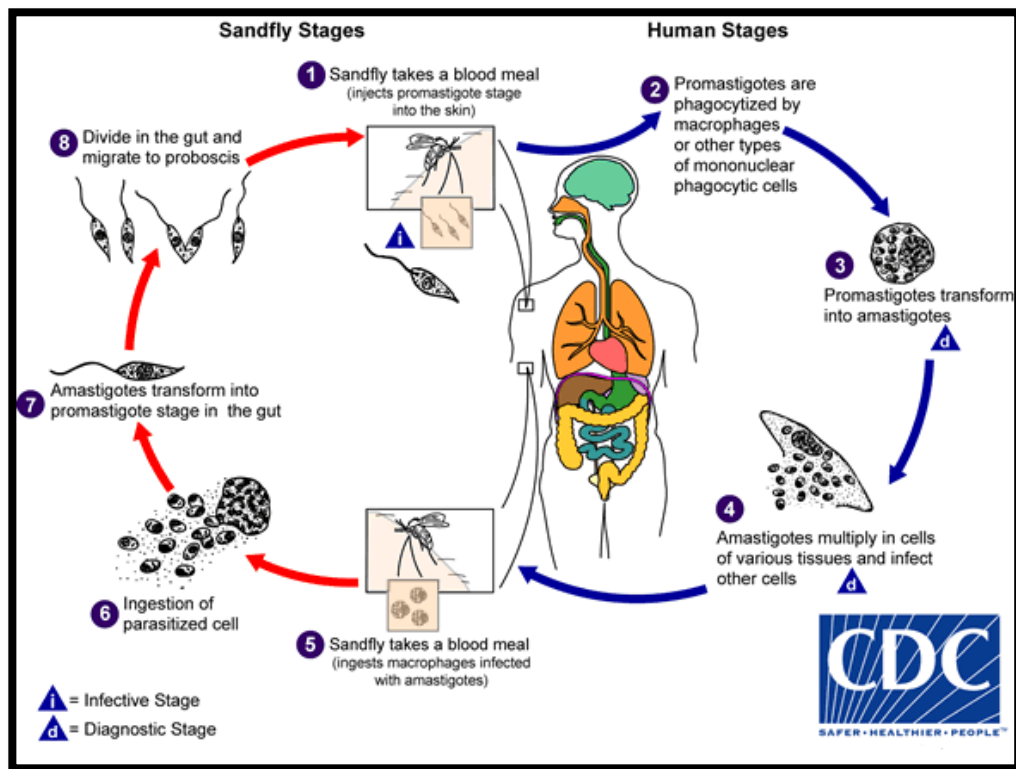


Figura 3. Ciclo da *Leishmania* spp. Fonte: CDC, 2018.

2.4 EPIDEMIOLOGIA

A ocorrência da leishmaniose está relacionada com a ausência de saneamento básico, baixa renda e condições de moradia insalubres. A maior incidência da doença é em países de clima tropical e subtropical (MICHALSKY et al., 2007), acomete principalmente crianças, idosos e imunossuprimidos (ALVARENGA et al., 2010).

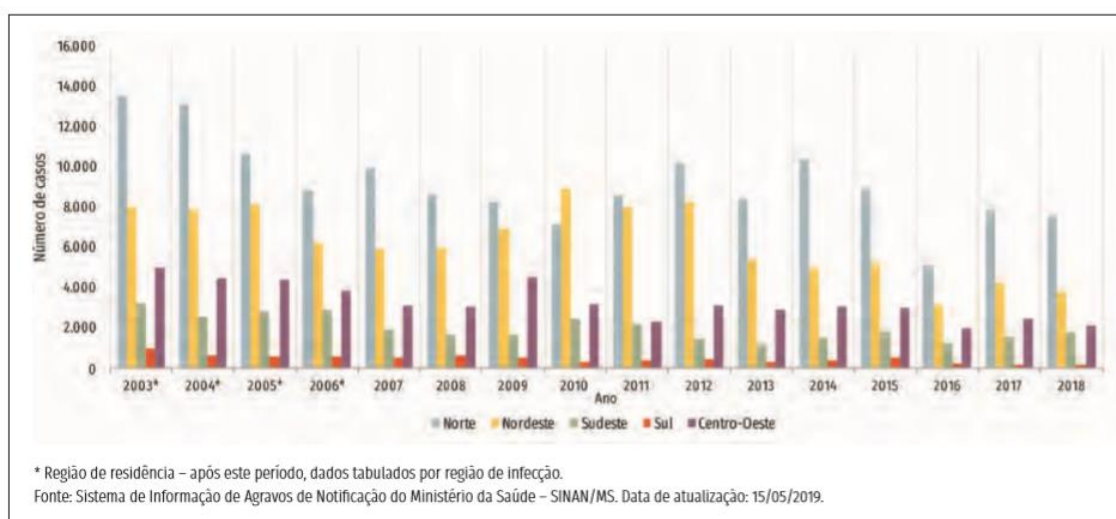
No Brasil são encontrados três padrões epidemiológicos da transmissão da leishmaniose: o silvestre, é considerado o padrão natural de transmissão da doença e permeia o habitat natural de animais silvestres; o padrão ocupacional e lazer, relacionado ao ecoturismo e a exploração desordenada de florestas e matas; e o rural e periurbano em

áreas de desmatamento associadas ao êxodo nos grandes centros incidindo em ocupação de encostas associados a matas secundárias ou residuais (BRASIL, 2014).

A leishmaniose tegumentar e a leishmaniose visceral fazem parte da lista de doenças de notificação compulsória no Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), de acordo com as normas da Secretaria de Vigilância em Saúde, do Ministério da Saúde (BRASIL, 2010).

No Brasil são registrados casos de Leishmanioses em todo território nacional, sendo a ocorrência da Leishmaniose visceral com maior notificação nos estados da região nordeste (BRASIL, 2014). Em relação a região norte, foram registrados de 21.158 casos por ano de leishmaniose tegumentar no período de 2003 a 2018, representando 7,7% dos casos registrados no Brasil nesse período como mostra o quadro 1 (MS, 2019).

Quadro 1. Casos de Leishmaniose tegumentar notificados no período de 2003 até 2018.



Fonte: SINAN/MS, 2018.

2.5 LEISHMANIOSE TEGUMENTAR (LT)

A Leishmaniose tegumentar apresenta-se clinicamente sob a forma localizada, cutânea disseminada, difusa e mucosa. A forma localizada, caracteriza-se por apresentar lesões ulcerativas com ausência de sensibilidade, com bordas elevadas e endurecidas, medindo entre 1 e 10 cm de diâmetro, com tecido granulomatoso no centro da lesão e regiões esbranquiçadas e periféricas rosa. Essas lesões podem permanecer por um período maior do que 15 meses ou mesmo evoluir para cura espontânea (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

A forma difusa apresenta lesões com padrão pápulo-nodular, tumoral, verrucosas e com evolução crônica progressiva, apresentando maior suscetibilidade em crianças (CONITEC, 2016).

2.6 LEISHMANIOSE VISCERAL

A leishmaniose visceral (LV), também conhecida como calazar, é considerada a forma mais fatal quando não tratada (WHO, 2014). As espécies de *Leishmania* spp. que apresentam tropismo pelo sistema fagocítico mononuclear do baço, fígado, linfonodo e medula óssea, são responsáveis pelo desenvolvimento da forma mais grave da doença (MARCOS et al, 2009).

Quando acomete o homem, este apresenta sinais clínicos de febre prolongada, hepatoesplenomegalia e anemia, tornando-se mais severa em pacientes imunocomprometidos. O cão desenvolve a doença de forma aguda ou crônica, apresentando lesões graves ulcerativas, associadas a anorexia, perda de peso, lesões oculares, atrofia muscular onicogrífose. Em casos graves os rins e baço ficam comprometidos podendo levar o animal a óbito (BRASIL, 2017).

2.7 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico das leishmanioses leva em consideração o diagnóstico clínico associado a exames laboratoriais tais como, testes parasitológicos, sorológicos e moleculares (BRASIL, 2014).

A análise parasitológica é realizada através da observação das formas amastigotas de *Leishmania* spp. em esfregaços obtidos da punção aspirativa de linfonodos, do baço, medula óssea, biópsia hepática e esfregaços sanguíneos corados em Giemsa, Wright ou Panótico (IKEDA-GARCIA et al., 2007). As análises histopatológicas alcançam maior sensibilidade quando realizadas com amostras obtidas dos linfonodos poplíteos (MOREIRA et al., 2007). Já a punção esplênica é o método que oferece maior sensibilidade (95%) para demonstração da forma amastigota do protozoário (BRASIL, 2014).

Os sinais clínicos da leishmaniose tegumentar são sugestivos ao diagnóstico da doença, enquanto na LV não apresenta sinais patognomônicos. Na LV frequentemente ocorrem linfadenomegalia, hepatoesplenomegalia, compatíveis com outras patologias como a babesiose e erliquiose. (FREITAS et al., 2012).

As análises imuno-histoquímicas consistem em pesquisar a *Leishmania* spp. em secções de tecidos utilizando soro hiperimune de cão naturalmente infectado com *L. infantum* (TAFURI et al., 2004). Para diagnóstico molecular se utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR), sendo obtida através de amostras de aspirados de medula, aspirados de linfonodos, sangue e urina e biopsias de pele (SALES, 2019).

A sorologia é preconizada nos programas de controle da LV no Brasil por ser um teste mais acessível e rápido. O DPP® é o teste padrão para triagem dos animais por ser mais barato e rápido que o teste ELISA, o qual requer maior tempo para realização, utilizado para a confirmação dos animais positivos ao DPP (BRASIL, 2014). O teste imunocromatográfico rápido de duplo percurso (DPP) baseia-se na reação anticorpo e antígeno do parasito, utilizando uma proteína sintética recombinante como marcador (SALES, 2019). O DPP é um teste que apresenta alta sensibilidade (98%) e baixa especificidade, de diagnóstico rápido e de fácil realização e interpretação dos resultados. Animais assintomáticos quando testados podem ser falso positivos para outras espécies de *Leishmania* spp. (SALES, 2019).

2.8 TRATAMENTO

O Ministério da Saúde e da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) no ano de 2016 publicou a nota técnica nº 001/2016 com o registro do princípio ativo miltefosina, permitindo o tratamento com este fármaco (MAPA, 2016; CHAGAS, 2017).

O tratamento objetiva a redução da carga parasitária, restabelecer o sistema imunológico e melhora clínica do paciente (VIEIRA, 2014). Visando monitorar os pacientes e adoção de melhor protocolo terapêutico, o grupo LeishVet padronizou o estadiamento clínico da doença em um sistema de estágios, relacionados à manifestações clínicas, alterações clínico patológicas e em alterações sorológicas, podendo ser classificada, de acordo com os sinais clínicos e dados laboratoriais, em até cinco estágios, sendo o estágio I o mais brando e o estágio V o mais severo (DUARTE, 2019).

Todavia o tratamento apenas reduz a carga parasitária do hospedeiro, permanecendo este como portador da leishmania, e embora possa haver redução na transmissão do agente pelos flebotomíneos, está diretamente relacionada com a eficiência do tratamento, que está sujeita à resposta imune do hospedeiro, a farmacocinética e a sensibilidade de cada isolado de leishmania ou mesmo a resistência aos fármacos (FERREIRA, 2017).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar o perfil hematológico de cães naturalmente infectados com *Leishmania* no Municípios de Manaus e Presidente Figueiredo/AM.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Quantificar os animais positivos nas 4 grandes zonas de Manaus e nas zonas urbana e rural de Presidente Figueiredo;

Identificar se há alterações hematológicas nos cães positivos e caracterizá-las;

4 METODOLOGIA

4.1.1 ÁREA DE ESTUDO

Manaus, capital do estado do Amazonas, é um importante centro econômico e corporativo da região Norte do Brasil. Com área de 11.458,50 km², localizado na sub-região dos Rios Negro e Solimões é limitada ao norte pelos municípios de Presidente Figueiredo, Careiro da Várzea, Iranduba e Novo Airão e, ao sul pelos municípios de Rio Preto da Eva, e Itacoatiara a leste. Possui uma população de 2,1 milhões de habitantes (IBGE, 2017), o que representa 52% da população do estado. A área urbana é composta por 4 zonas e 63 bairros.

O clima é tropical, quente e úmido, com temperatura média anual entre 23,4 e 31,9°C. A variação sazonal limita-se a duas estações: inverno (chuvas) e verão (estiagem). A umidade relativa do ar gira em torno de 80% e a média anual de precipitação é de 2.301,2 mm. Embora o período chuvoso ocorra durante todo do ano, o volume de chuva é mais abundante entre os meses de janeiro a abril, e o período de cheia do rio Negro na altura de Manaus ocorre entre o período de maio a agosto, sendo mais frequente em junho e julho (INMET, 2018).

O município de Presidente Figueiredo, Estado do Amazonas (Figura 4) apresenta clima tropical chuvoso, onde a temperatura média é superior 18°C, mantendo uma estação seca de pequena duração com oscilações de temperatura média de até 5°C (KÖPPEN, 1948), predominando a média de 26°C e umidade relativa superior a 80%.

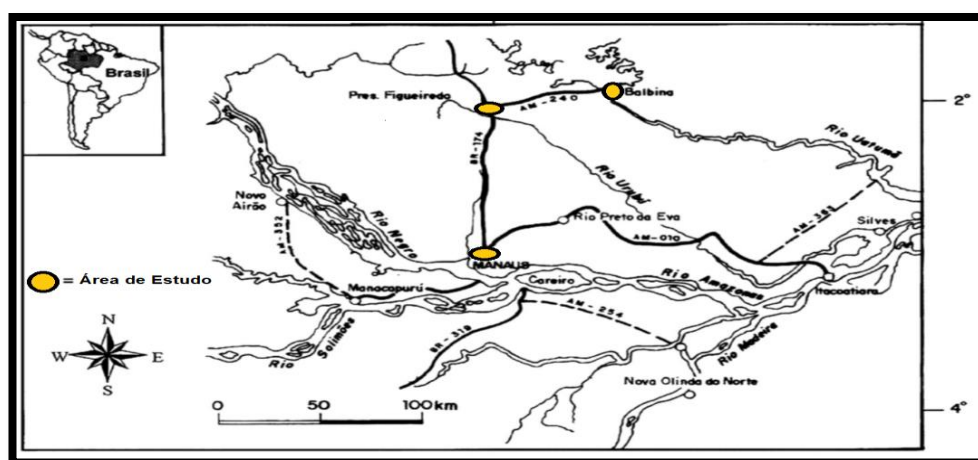


Figura 4 - Mapa esquemático da área da Amazônia Central. Amazonas, Brasil.
Fonte: INMET, 2018

4.1.2 AMOSTRAS

As amostras biológicas foram colhidas de cães domiciliados no Município de Manaus/AM e do Município de Presidente Figueiredo/AM nas zonas urbanas e rurais. O recrutamento destes cães ocorreu em parceria a Clínica Escola do IFAM, a Clínica Escola da ESBAM, o Centro de Controle de Zoonoses de Manaus e a Prefeitura de Presidente Figueiredo. Foram avaliados 152 cães provenientes de Manaus e Presidente Figueiredo. Os tutores foram informados sobre os objetivos da pesquisa e solicitados a assinar um termo de consentimento livre e esclarecido.

Cada animal teve sua ficha clínica preenchida com dados do animal, anamnese, histórico pregresso, locais de eleição para a colheita sanguínea e punção aspirativa de linfonodo. Foram realizadas coletas de amostras tanto no período seco, de junho até novembro de 2018, quanto no período chuvoso, dezembro de 2018 até maio de 2019.



Figura 5. Lesão em borda de orelha canina. Fonte: VIEIRA, 2019.

4.1.3 HEMOGRAMA

Obteve-se as amostras de sangue de cada animal por meio de venopunção de cefálica, safena ou jugular, coletadas em tubos com anticoagulante (EDTA) e mantidas sob refrigeração até transporte ao laboratório da faculdade ESBAM, onde procederam as análises. A partir das amostras obtidas realizou-se também esfregaço sanguíneo, fixado e corado por panótico rápido para contagem diferencial de leucócitos.

O eritrograma e o leucograma foram realizados por técnica manual tradicional utilizando para a contagem câmara de Neubauer (KEER, 2003) A contagem diferencial de leucócitos foi realizada sob microscopia óptica, em objetiva de imersão (100x).

4.1.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise do perfil hematológico caracterizando cães infectados se deu através da comparação dos resultados de hematócrito e contagem de eritrócitos, plaquetas e leucócitos, bem como proteína plasmática total (PPT) entre o grupo de animais sororreagentes e negativos.

O teste de Kolmogorov Sminov foi utilizado para avaliar a normalidade da amostra e o teste de Kruskal-Wallis para comparar médias entre grupos ($p < 0,05$). Os parâmetros raça, idade, sexo serão avaliados pela estatística descritiva.

5 RESULTADOS

Dos 152 cães, destes 50 de Manaus; 102 de Presidente Figueiredo. As amostras foram submetidas ao teste DPP®, em que 32 apresentaram-se sororreagentes. Dos animais reagentes, 68% eram de Presidente Figueiredo e 32% de Manaus. As zonas leste e centro-sul de Manaus apresentaram maior percentual de animais reagentes, 38% e 25% respectivamente. Em Presidente Figueiredo observou-se maior soroprevalência na Comunidade Tracoá com 33%, seguido da zona urbana (27%) e Comunidade Jardim Floresta (24%).

Para a caracterização hematológica amostras foram divididas em dois grupos, animais sororreagentes e animais soronegativos, os valores de eritrócitos, volume globular, leucócitos, plaquetas e proteína plasmática total não apresentaram diferença estatística entre os animais reagentes e negativos ($p > 0,05$) (Tabelas 1 e 2). Sabe-se que as alterações hematológicas associadas à infecção incluem anemia, leucopenia/leucocitose, trombocitopenia e hiperproteïnemia, trata-se de alterações sugestivas e frequentemente associadas à LV, a qual pode causar doença sistêmica grave. Os sinais clínicos associados aos achados laboratoriais auxiliam no estadiamento da doença e prognóstico. Além de serem sugestivos da presença da doença no local (DE MORAIS ALVES, 2015).

Tabela 1. Valores de média e desvio padrão de índice eritrocitário. Utilizou-se o teste T, obtendo-se $P = 0,98$ para Eritrócitos e $P = 0,92$ para o VG.

Valores Hematológicos		
	Média +- desvio padrão	
Índice eritrocitário	Negativos	Positivos
Eritrocitos ($\times 10^6$)	5.0 +- 1.0	5.8 +- 1.1
VG (%)	38.4 +- 7.0	38.1 +- 7.1

Fonte: VIEIRA, 2019.

Tabela 2. Valores de índice hematológico. Valores de mínima, média e mediana.

Valores Hematológicos			
Índice hematológico		Negativos	Positivos
Leucócitos totais (x10³)	Mínima	4.9	5.1
	Mediana	13.4	11.3
	Máxima	37.3	32.2
Plaquetas (p/cp/100x)	Mínima	1	2
	Mediana	10	9
	Máxima	33	48
Proteínas plasmáticas totais (g/dL)	Mínima	5	5.8
	Mediana	7.6	7.6
	Máxima	14	10.4

Fonte: VIEIRA, 2019.

6 DISCUSSÃO

As comunidades rurais de Presidente Figueiredo que obtiveram maior número de sororreagentes localizam-se em áreas de desmatamento recente corroborando com estudo que avaliou o número de casos de leishmaniose tegumentar em humanos na vila de Pitinga, comunidade rural de Presidente Figueiredo, relatando grande casuística nos primeiros anos de implantação da exploração de minério provavelmente está relacionado ao aumento do contingente de pessoas na área em contato com a floresta, e devido ao fato de as medidas de controle naquele momento ainda não terem sido totalmente implementadas (CHAGAS et al., 2006).

Os casos de leishmaniose tegumentar americana no Amazonas estão relacionados a lugares de assentamentos populacionais recentes e relacionada a desmatamentos (ANDRADE, 1997). O cão é susceptível à infecção pelo protozoário *L. braziliensis* e que, em áreas endêmicas da infecção por esse agente, mantêm-se altas prevalências de infecção canina (PIRMEZ et al, 1988). A presença de cão infectado aumenta 44% o risco individual humano de contrair leishmaniose tegumentar e duas vezes o risco em ambiente domiciliar (CUNHA, 2006).

No presente estudo, foram observados em cães da zona rural de Presidente Figueiredo sinais clínicos como desidratação, alopecia, onicogribose e dermatites esfoliativas, estes também foram observados em outros estudos relacionados a leishmaniose (FERREIRA, 2017).

Os principais achados laboratoriais da leishmaniose tegumentar canina incluem anemia, geralmente normocítica normocrômica, hiperproteinemia, hiperglobulinemia, trombocitopenia, leucocitose e eosinofilia (QUEIROZ et al., 2010). Todavia as alterações hematológicas são menos presentes que na LV, sendo o acometimento dermatológico mais frequentemente encontrado.

Cães quando expostos ao agente da leishmaniose visceral podem não apresentar alterações no hemograma. Nos casos em que desenvolvem a infecção é frequente leve anemia arregenerativa, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia. Estes achados são mais intensos nos animais com doença grave, nesses casos as manifestações clínicas são mais evidentes e há acometimento sistêmico podem ocorrer deposição de imunocomplexos, com presença de anormalidades como uveíte, glomerulonefrite, síndrome nefrótica (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Entretanto a proteinúria é a alteração mais frequente nos cães com leishmaniose visceral independente do estágio da doença (DE ARAUJO, 2016).

No eritrograma de cães sororreagentes para leishmaniose visceral apresentam anemia leve a moderada, alteração em consequência da diminuição da eritropoiese, por hipovolemia ou por sequestro de eritrócitos pelo baço (MATTOS et al 2003). Também são descritas como alterações frequente, a hiperproteinemia, por ativação dos linfócitos B e elevada produção de anticorpos (MEDEIROS et al., 2008). Outra alteração observada é a aplasia medular, em decorrência da presença do parasito na medula óssea e em suas células gerando uma anemia não regenerativa.

Contudo cães com infecção subclínicas de LV representam cerca de 40 a 60% da população soropositiva, o que dificulta o diagnóstico da doença e demonstra a necessidade de confirmação através de exames laboratoriais (ABRANTES, 2012).

Todavia o DPP® pode apresentar falsos negativos em caso de baixa titulação de anticorpos, assim como falsos positivos relacionados a animais assintomáticos, por ter limitações como reações cruzadas com parasitas como *Trypanosoma*, *Anaplasma* spp., *Ehrlichia canis* e *Babesia canis* (LIMA et al,2010).

O DPP® não apresenta especificidade para determinar o agente envolvido na infecção o que foi observado em estudo que avaliou os resultados do DPP de 52 cães sintomáticos, em que 91,5% apresentaram positividade em relação aos animais assintomáticos (LIMA et al., 2010). Em outro estudo constatou-se 1199 soros de cães do Estado de São Paulo, onde 31,3% apresentaram positividade e os 132 animais do grupo controle apresentaram resultados negativos (BISUGO et al, 2007). Já em outra análise observou-se o soro de 327 cães residentes em tribos amazônicas localizadas em áreas não endêmicas, onde 13 foram positivos ao Elisa e nenhum apresentou positividade ao DPP (DE LIMA et al., 2017).

Embora o DPP® não identifique a espécie de *Leishmania*, sabe-se que o estado do Amazonas é endêmico para LT. Mantém uma taxa de incidência surpreendentemente maior que em outros estados brasileiros. O perfil ocupacional da Leishmaniose tegumentar está associado, principalmente a uma alta incidência de atividades pesadas de trabalho, como mineração ou prospecção de ouro, agricultura, desmatamento para produção de gado e transformações ambientais relacionadas ao aumento da migração rural (TELES, 2019).

Além disso, as amostras sororreagentes apresentaram nos testes paramétricos p valor não significativo, sugerindo que os hemogramas não apresentaram alterações significativas e que esses animais podem estar relacionados a leishmaniose tegumentar, o que justificaria a ausência de alterações no hemograma, uma vez que as manifestações mais frequentes são dermatológicas.

Com base nos resultados desse estudo observou-se a necessidade de realizar avaliação parasitológica com testes mais específicos como imunofluorescência indireta (RIFI), Elisa e Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), uma vez que esses testes possibilitam o diagnóstico precoce em animais e humanos, bem como a realização de novos estudos, principalmente nas áreas endêmicas da leishmaniose tegumentar para avaliar a relação entre a presença da leishmaniose e de animais portadores da *Leishmania* spp. Além disso, é necessário determinar a espécie que ocorre na região.

7 CONCLUSÃO

O hemograma não demonstrou ser uma ferramenta útil ao auxílio diagnóstico da *leishmania* para este estudo, sugerindo que os cães sororreagentes podem ser portadores da leishmaniose tegumentar, o que explica a ausência de alterações no hemograma.

Embora tenha sido observado um número significativo de animais reagentes é importante que sejam realizados estudos com métodos diagnósticos mais específicos que o DPP® para determinar o agente envolvido nas infecções. Todavia o DPP® foi importante para a triagem dos animais em estudo.

Além disso, é importante especificar os agentes de *Leishmania* spp presentes na região amazônica é necessário avaliar a relação entre a presença de cães soropositivos em regiões endêmicas para a leishmaniose tegumentar em humanos no Amazonas.

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABRANTES, T.R. **Avaliação clínica e laboratorial de cães domésticos em Itaipuaço Maricá, estado do Rio de Janeiro, área de ocorrência de casos de leishmaniose visceral canina.** 2012. 45f. Dissertação (Mestrado em Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas). Instituto de Pesquisa Clínica Evandro Chagas – IPEC/FIOCRUZ, Rio de Janeiro, 2012.

ANDRADE SL. **Leishmaniose tegumentar americana em área de ocupação recente na periferia da Cidade de Manaus, Estado do Amazonas, Brasil** [Dissertação de Mestrado]. Rio de Janeiro: Departamento de Medicina Tropical, Instituto Oswaldo Cruz; 1997.

AFONSO, M. M. S. **Estudos sobre Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis: hábitos alimentares, infecção natural por Leishmania (Leishmania) infantum chagasi e correlação com a expansão da leishmaniose visceral americana.** Tese de Doutorado – Escola Nacional de Saúde Pública Sérgio Arouca, Rio de Janeiro, 2013

AGUIAR, J. C. **Caracterização das espécies de Leishmania e Trypanosoma por espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier.** Tese de Pós-Graduação – Universidade do Vale da Paraíba, São José dos Campos – SP, 2016.

ALVARENGA, D.G.; ESCALDA, P.M.F.; COSTA, A.S.V.; MONREAL, M.T.F.D. **Leishmaniose visceral: estudo retrospectivo de fatores associados à letalidade.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical.* v. 43, n. 2, Apr. 2010.

AMARO, R. R.; COSTA, W. A.; **Transformações socioespaciais no estado do Rio de Janeiro enquanto determinante social da saúde: no contexto das leishmanioses.** *Hygea: Revista Brasileira de Geografia Médica e da Saúde,*13 (26) 198 – 210, dezembro, 2017.

BANETH, G.; SOLANO-GALLEGO, L.; **Canine Leishmaniasis.** In: Greene, C.E. **Infectious diseases of the dog and cat.** Philadelphia: Elsevier Saunders, p.735- 748, 2012.

BARBOSA, L.; DOLABELLA, S.S.; KATAGIRI, S. **Introdução à Saúde Pública. Sergipe: CESAD,** 2011.

BATES, P.A. **Transmission of Leishmania metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies.** *International Journal for Parasitology,* 37(10): 1097-1106, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral americana do Estado de São Paulo**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 120p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: MS, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde Secretaria de Vigilância em Saúde. coordenação-geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de vigilância em saúde: volume 3**. Brasília: MS, 2017.

BISUGO, M.C., ARAUJO, M.F.L., TANIGUCHI, H.H., ACUNHA, E., SANTOS, A.A., SPESSOTO, M. JR. Et al. **Avaliação do diagnóstico da leishmaniose visceral canina com a utilização de teste rápido com antígeno recombinante k39 em regiões endêmicas do estado de São Paulo**. Ver. Inst. Adolfo Lutz. 2007; 66(2):185-193.

CARVALHO, S.G., SIQUEIRA, L.A., ZANINI, M.S., MATOS, A.P.S., QUARESMA, C.H., SILVA, L.M., ANDRADE, S.F., SEVERI, J.A. & VILLANOVA, J.C.O. Physicochemical and in vitro biological evaluations of furazolidone-based β -cyclodextrin complexes in *Leishmania amazonensis*. **Research in Veterinary Science**, 119, 143-153. 2018.

CHAGAS, Andrezza Campos et al. Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) em uma vila de exploração de minérios-Pitinga, município de Presidente Figueiredo, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 186-192, 2006.

CUNHA, Jane Cris de Lima; LIMA, José Wellington de Oliveira; POMPEU, Margarida Maria de Lima. Transmissão domiciliar de leishmaniose tegumentar e associação entre leishmaniose humana e canina, durante uma epidemia na Serra de Baturité, no estado de Ceará, Brasil. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 9, p. 425-435, 2006.

CUPOLILLO E, BOITÉ MC, PORROZZI R. Considerações sobre a Taxonomia do Gênero *Leishmania* In: Silva-Conceição F, Alves. **Leishmanioses do Continente Americano**. Rio de Janeiro: Fiocruz; 2014.p. 39-41.

COMISSÃO NACIONAL DE INCORPORAÇÃO DE TECNOLOGIA NO SUS – CONITEC. **Proposta de Elaboração de Protocolo Clínico E Diretrizes Terapêuticas. Leishmaniose Tegumentar**. 2016. Acesso:15 de nov 2019. Disponível em: http://conitec.gov.br/images/Protocolos/Escopo_PCDT_LeishmanioseTegumentar_Enquete.pdf

DE ARAUJO, M. C. R.. **Hematologia, bioquímica sérica e urinálise associadas às alterações do líquido sinovial de cães em diferentes estádios da leishmaniose visceral.** UFMG. Minas Gerais, 2016.

DE LIMA, J. T. R., GENNARI, S.M., SOARES, H. S., MINERVINO, A. H. H., MALHEIROS A.F., MARQUES F.S., et al. Serodiagnosis of visceral and cutaneous leishmaniasis in human and canine population living in Indigenous **Reserves in the Brazilian Amazon Region.** *Rev Soc. Bras. Med. Trop.* 2017 jan-feb; 50(1): 61-66.

DE MORAES ALVES, Michel Muálem et al. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. **PUBVET**, v. 9, p. 158-194, 2015.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases**, v.27, p.305–318, 2004.

DUARTE, Eduardo Ximenes; ILHA, Pedro Henrique Oliveira. **Tratamento de Leishmaniose Visceral Canina à Base de Imunoterapia – Relato de Caso.** 2019.

FERREIRA, Luiza Costa et al. Prevalência de infecção por *leishmania chagasi* em cães na ilha do Maranhão, Brasil. 2017.

FREITAS, J.C.; NUNES-PINHEIRO, D.C.; NETO, B.; SANTOS, G.; ABREU, C.; BRAGA, R. Alterações clínicas e laboratoriais em cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 45(1): 24-29, 2012

GUERRA, J.A.O; BARBOSA, M.G.V; LOUREIRO, A.C.P; COELHO, C.P; ROSA, G.G; COELHO, L.I.A.C.R. Leishmaniose Tegumentar Americana em crianças: aspectos epidemiológicos de casos atendidos em Manaus, Amazonas, Brasil. **Caderno de Saúde Pública.** v.23, n.9, p.2215-2223, 2007.

IKEDA-GARCIA, F., MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária.** 2007. 71:34-42.

KAYE, P.M.; AEBISCHER, T. Visceral leishmaniasis: immunology and prospects for a vaccine. **Clin. Microbiol. Infect.**, v. 17, p. 1462-1470, 2011.

KEER, M.G. 2003. Exames Laboratoriais e Medicina Veterinária: bioquímica clínica e hematologia. Roca, São Paulo. 436p.

KÖPPEN, N.W. **Climatologia, con un estudio de los climas de la tierra.** México: Fondo de Cultura Económico; 1948.

LANGONI, H. Leishmanioses. In: MEGID, J.; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**, p. 1013-1024. Roca: Rio de Janeiro, 2016.

LIMA, M.A.M., MAIA, J.S., ZANETTI, K., REGINALDO, A.S., BRAZ, P.H. Comparação da sensibilidade do teste parasitológico em linfonodo, medula óssea e mucosa conjuntival para o diagnóstico de leishmaniose em cães. **Acta Veterinaria Brasilica**, v.8, n.4, p.274-276, 2014.

LIMA, V.M.F., FATTORI, K.R., MICHELIN, A.F., SILVEIRA, L., VASCONCELOS, R.O. Comparison between ELISA using total antigen and immunochromatography with antigen rK39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**. 2010; 173: 330-333.

OMS – Organização Mundial da Saúde - **Epidemiological situation**. Disponível em <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/> Acesso em 10 de novembro de 2019.

LUKES, J.; MAURICIO, I.L.; SCHÖNIAN, G.; DUJARDIN, J-C.; SOTERIADOU, K.; DEDET, J-P.; Kuhls, K. **Evolutionary and geographical history of the Leishmania donovani complex with a revision of current taxonomy**. PNAS, 104(22): 9375-9380, 2007.

MADEIRA, M.F.; UCHOA, C.M. A.; LEAL, C. A.; SILVA, M. M. R.; DUARTE, R.; MAGALHÃES, C. M.; SERRA, C. M. B. Leishmania (Viannia) braziliensis em cães naturalmente infectados. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.05, p.551-555, 2003.

MARCOS, R., SANTOS, M., MALHÃO, F., PEREIRA, R., FERNANDES, A.C., MONTENEGRO, L., et al. Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. *Vet Clin Pathol*. 2009; 2:201-205.

MATTOS JR., D.G. et al. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. v.56, n.1, p.119-122, 2004.

MEDEIROS, C.M.O. et al. Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. *Ciência Animal*, v18(1), p.43-50, 2008.

MOLLA, Letícia Maria. Detecção de Leishmania spp. Em cães provenientes da zona sul de São Paulo, SP. 2017.

MICHALSKY, EM, ROCHA, MF; LIMA, ACVM; FRANÇA-SILVA, R; PIRES, MQ; OLIVEIRA, FS, et al. Infectivity of soropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to Lutzomyia longipalpis phlebotomine sand flies. *Vet Parasitol.*, v.147 n.1-2, p.67-76, 2007.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Leishmaniose Tegumentar Americana**. Brasília, 2017. 193 p

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Secretaria de Vigilância em Saúde. Vigilância em saúde no Brasil 2003|2019: da criação da Secretaria de Vigilância em Saúde aos dias atuais. *Bol Epidemiol* [Internet]. 2019 set; 50:1-154. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/boletins-epidemiologicos>.

MOREIRA, M.; LUVIZOTTO, M.; GARCIA, J.; CORBETT, C.; LAURENTI, M. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. *Veterinary Parasitology*, 145(3-4): 245-252, 2007.

NOGUEIRA, M.F., SOTTO, M.N., CUCE, L.C. American tegumentary leishmaniasis: Langerhans cells in Montenegro skin test. *Rev Inst Med Trop S. Paulo*. 2008;50:283-86.

PIRMEZ, Claude, et al. Canine American cutaneous leishmaniasis: a clinical and immunological study in dogs naturally infected with *Leishmania braziliensis braziliensis* in an endemic area of Rio de Janeiro, Brazil. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 1988, 38.1: 52-58.

QUEIROZ, N., ASSIS, J.d., OLIVEIRA, T., MACHADO, R.Z., NUNES, C.M., STARKE-BUZETTI, W.A., 2010. 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* 19, 32-38.

REIS, S. R.; PINHEIRO, F. G.; MICHALI, C.K.; M.S., FRANCO; A. M. R. Diagnóstico biológico e sorológico de Leishmaniose Tegumentar Americana em cães (*Canis familiaris*) domiciliados no município de Manaus, AM, BR. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, Suppl.1, p.105, 2009.

RATH, Susanne et al. Antimoniais empregados no tratamento da leishmaniose: estado da arte. **Química Nova**, 2003.

REY, L. Bases da parasitologia médica. Rio de Janeiro (RJ): Guanabara Koogan, 2010.

SALES, Raíssa Stefânia Pereira de Brito. **Leishmaniose visceral canina em Maceió: um estudo retrospectivo**. 2019. Trabalho de Conclusão de Curso. Brasil.

SINGH, S.; SIVAKUMAR, R. Recent advances in the diagnosis of leishmaniasis. *Journal of Postgraduate Medicine*, v. 49, n, 1, p. 55-60, 2003.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRO, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*, v. 65, p. 1–18, 2009.

TAFURI, W.L., SANTOS, R.L., ARANTES, R.M., GONÇALVES, R., MELO, M.N., MICHALICK, M.S. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. *Journal of Immunology Methods*, 292(1-2): 17-23, 2004.

TELES, Giovana da Costa; FONSECA, Fernanda Rodrigues; GONÇALVES, Maria Jacirema Ferreira. American Tegumentary Leishmaniasis in the Brazilian Amazon from 2010 to 2014. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 61, 2019.

TORRES-GUERRERO, E. et al. Leishmaniasis: a review. *F1000Research*, London, v. 6, p. 750, 2017.

VANNIER-SANTOS, M.A., MARTINY, A. & DE SOUZA, W. Cell biology of *Leishmania* spp.: invading and evading. *Current Pharmaceutical Design* 2002; 8, 297-318.

VERONESI, R.; FOCCACIA, R. **Tratado de Infectologia**. São Paulo: Editora Ateneu, 2005.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. 2012. Disponível em: <http://new.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=category&layout=blog&id=3835&Itemid=4098&lang=en>. Acesso em dez, 2019.

