



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO MEDICINA VETERINÁRIA**

WILLIAN MATHAUS DA SILVA SOARES

**FREQUÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*)
ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (HUV-UFPB).**

AREIA

2024

WILLIAN MATHAUS DA SILVA SOARES

**FREQUÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*)
ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (HUV-UFPB)**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária pela Universidade
Federal da Paraíba.

Orientador: Prof.(a) Dr.(a) Valeska Shelda
Pessoa de Melo.

AREIA

2024

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

S676f Soares, Willian Mathaus da Silva.

Frequência de leishmaniose em felinos domésticos
(Felis catus) atendidos no Hospital Universitário
Veterinário da Universidade Federal da Paraíba
(HUV-UFPB). / Willian Mathaus da Silva Soares. -
Areia:UFPB/CCA, 2024.

34 f. : il.

Orientação: Valeska Shelda Pessoa de Melo.
TCC (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Medicina Veterinária. 2. Leishmania. 3. cPCR. 4.
Calazar. 5. Nordeste. 6. Saúde Única. I. Melo, Valeska Shelda
Pessoa de. II. Título.

UFPB/CCA-AREIA

CDU 636.09(02)

WILLIAN MATHAUS DA SILVA SOARES

FREQUÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*)
ATENDIDOS NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO VETERINÁRIO DA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA (HUV-UFPB)

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado como requisito parcial à
obtenção do título de Bacharel em
Medicina Veterinária pela Universidade
Federal da Paraíba.

Aprovado em: _23 _/ _04 _/ 2024__.

BANCA EXAMINADORA



Prof. (a) Dr. (a) Valeska Shelda Pessoa de Melo (Orientador)
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



Prof. (a) Dr (a) Felipe Nael Seixas
Universidade Federal da Paraíba (UFPB)



M. V. Edivaldo da Silva Pereira

A minha mãe, pela dedicação, companheirismo e amizade, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe por todo apoio, dedicação, educação e amor.

À meu pai por todos os ensinamentos, discernimentos e incentivo. À minha Avó pelos meus primeiros cuidados e por ter me ensinado as virtudes que hoje me trouxeram até aqui. Agradeço a todos da minha família, de forma geral, por sempre acreditarem no meu potencial.

Agradeço a Deus por todas as bênçãos que ele derramou sobre mim e a todas as preces e pedidos concedidos.

Aos professores do Curso da UFPB, em especial, a minha orientadora Valeska Shelda Pessoa de Melo que não me canso de agradecer por todo apoio, auxílio, conselhos e oportunidades cedidas. A senhora foi como uma mãe para mim, formando meu senso científico e contribuindo de forma ímpar para o meu amadurecimento científico e pessoal.

Aos meus amigos que sempre me deram a mão e me tiraram dos meus momentos mais difíceis, Mayara, Marina, Larissa, Maíla, Vitória, Águida e Leonardo. Como também, agradeço aos meus amigos de escola que durante todo este tempo estiveram comigo.

Ao corpo técnico e docente do Departamento de ciências veterinárias e HUV, por todos os ensinamentos, em especial aos residentes Edivaldo, Anderson Rogéria e Lívia que sempre me auxiliaram nas pesquisas.

“A medicina cura o Homem e a Medicina Veterinária cura a humanidade - Louis Pasteur”.

RESUMO

A leishmaniose, está enquadrada entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas e traz o felino doméstico (*Felis catus*) como um hospedeiro acidental e possível reservatório do parasita, fato este que reverbera a importância da investigação na espécie, tendo em vista a indissociação da saúde animal e humana, quando elencado temas como a saúde única. Em decorrência dos escassos trabalhos publicados abordando a presente temática no estado da Paraíba e principalmente na região do brejo paraibano, o presente estudo avaliou a frequência da leishmaniose felina por *Leishmania infantum*, a partir do diagnóstico molecular por Reação em Cadeia de Polimerase convencional (cPCR) no sangue periférico. Para isso, tal reação foi realizada utilizando amostras sanguíneas provenientes da rotina ambulatorial do HUV-UFPB, de maneira que a composição do corpo amostral foi estabelecida de forma aleatória e sem critérios de triagens dos pacientes, sendo formado por 50 indivíduos, dentre eles 18 machos e 32 fêmeas, ao passo que a obtenção das amostras compreendeu o segundo semestre de 2023, dos meses de junho a dezembro. Das 50 amostras analisadas para *Leishmania infantum*, nenhuma amplificou o fragmento de DNA compatível com o protozoário, sugerindo a baixa ou ausência da infecção nos felinos domésticos (*Felis catus*), atendidos na rotina ambulatorial. Sob esse viés, tais achados conferem embasamento para estudos posteriores que visem determinar o papel do felino na transmissão da leishmaniose visceral felina, bem como sua ocorrência na microrregião do Brejo paraibano, uma vez que no estado da Paraíba estudos atrelados à pesquisa do presente objeto estão limitados às análises sorológicas.

Palavras-Chave: *Leishmania*; cPCR; calazar; Nordeste; Saúde Única.

ABSTRACT

Leishmaniasis is one of the top ten neglected tropical diseases and the domestic feline (*Felis catus*) is an accidental host and possible reservoir of the parasite, a fact that highlights the importance of research into the species, given the inseparability of animal and human health, when it comes to issues such as single health. Due to the scarcity of studies published on this subject in the state of Paraíba and especially in the region of Brejo Paraiba, this study assessed the frequency of feline leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*, using molecular diagnosis by conventional polymerase chain reaction (cPCR) in peripheral blood. To this end, the reaction was carried out using blood samples from the routine outpatient clinic at HUV-UFPB, so that the composition of the sample body was established randomly and without patient screening criteria, consisting of 50 individuals, including 18 males and 32 females, while the samples were obtained during the second half of 2023, from June to December. Of the 50 samples analyzed for *Leishmania infantum*, none amplified the DNA fragment compatible with the protozoan, suggesting low or no infection in domestic cats (*Felis catus*) seen in the outpatient routine. From this point of view, these findings provide a basis for further studies aimed at determining the role of felines in the transmission of feline visceral leishmaniasis, as well as its occurrence in the Brejo paraibano micro-region, given that in the state of Paraíba studies linked to this research are limited to serological analyses.

Keywords: *Leishmania*; cPCR; calazar; Northeast; One Health.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 –	Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> sp. em felino doméstico (<i>Felis catus</i>).....	13
Figura 2 –	Resposta imunológica do felino contra <i>Leishmania</i> sp.....	16
Figura 3 –	Distribuição dos casos confirmados de leishmaniose visceral por município de infecção. Paraíba, 2015 a 30ª SE ano 2021.....	19
Figura 4 –	Análise eletroforética de PCR em gel de agarose a 1,5% para <i>Leishmania infantum</i> , em felinos domésticos atendidos no HUV-UFPB, no segundo semestre de 2023. Na imagem observa-se a Ladder (1º), as amostras testes (2º-17º), C+: controle positivo (18º; 447 pb); C-: controle negativo (19º).....	26

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

C+	Controle positivo
C-	Controle negativo
CCA	Centro de Ciências Agrárias
cPCR	Reação em cadeia Polimerase convencional
DNA	Ácido desoxirribonucleico
ELISA	Ensaio imuno-enzimático
Felv	Vírus da leucemia felina
FIV	Vírus da imunodeficiência felina
HUV-UFPB	Hospital universitário veterinário da Universidade Federal da Paraíba
IDHM	Índice de Desenvolvimento Humano Municipal
IFN- γ	Interferon- gama
L.	<i>Leishmania</i>
LPCV	Laboratório de patologia clínica veterinária
PB	Paraíba
pb	Pares de base
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
RIFI	Teste da imunofluorescência indireta
SE	Semana epidemiológica
SINAN	Sistema de Informação de Notificação de Agravos
SMF	Sistema Mononuclear Fagocitário
Sp	Gênero
Spp	Espécie

Syn.	Subgênero
UFPB	Universidade Federal da Paraíba.
V.	<i>Viannia</i>

LISTA DE SÍMBOLOS

- % Porcentagem
- © Copyright
- ® Marca Registrada

SUMÁRIO

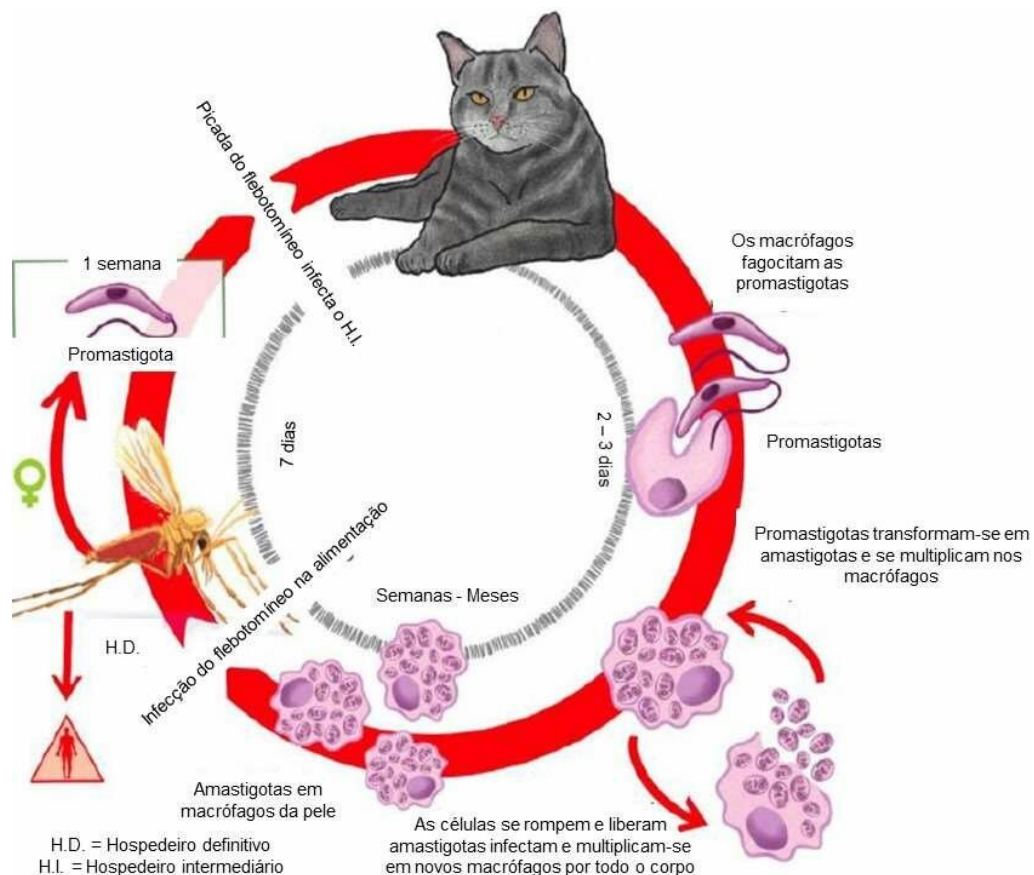
1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS.....	13
2	CAPÍTULO I – Frequência de leishmaniose em felinos domésticos (<i>Felis catus</i>) atendidos no Hospital Universitário Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (HUV- UFPB).....	21
3	INTRODUÇÃO.....	21
4	METODOLOGIA.....	24
4.1	Local de pesquisa e obtenção de amostras.....	24
4.2	Extração de DNA.....	25
4.3	Reação em Cadeia Polimerase (PCR).....	25
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	26
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	30
	REFERÊNCIAS.....	31

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

A leishmaniose consiste numa enfermidade parasitária de caráter zoonótico a qual acomete mamíferos terrestres em torno do mundo, sendo causada por protozoários do gênero *Leishmania*. O contágio e infecção do protozoário no hospedeiro se estabelece no momento do repasto sanguíneo dos flebotomíneos fêmeas dos gêneros *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo, os quais são considerados vetores biológicos (WHO, 2010 apud Pereira e Maia, 2021; Lucheis, 2015).

De acordo com Fortes (2004) no hospedeiro intermediário, as promastigotas de *Leishmania* se multiplicam por cissiparidade longitudinal no aparelho digestório, de modo que durante o processo de repasto sanguíneo, essas formas evolutivas do parasita são inoculadas no hospedeiro definitivo e infectam as células do sistema mononuclear fagocítico (SMF), na forma de amastigotas concluindo o ciclo, ilustrado na figura 1, e desenvolvendo a enfermidade de forma aguda (fatal) ou crônica (Soares et al., 2016).

Figura 1: Ciclo biológico de *Leishmania* sp. em felino doméstico (*Felis catus*).



Fonte: Santos et al., 2023

De acordo com Pereira e Maia (2021), atualmente existem seis espécies do protozoário, o qual está incluído na ordem *kinetoplastida*, família *Trypanosomatidae*, pertencentes ao subgênero *Leishmania* e uma ao subgênero *Viannia* que foram identificadas em felinos domésticos (*Felis catus*) por meio de DNA ou métodos de tipagem baseados em isoenzimas, sendo três delas encontradas no Brasil, representadas por *L. (L.) amazonensis*, *L. (L.) infantum* e *L. (V.) braziliensis*. Como também, é visto que nas extensões territoriais que vão do sul dos Estados Unidos ao norte da Argentina, *Leishmania infantum* (*syn.L.chagasi*) é considerado o principal causador da enfermidade (Lucheis, 2015). No Brasil, através do último informativo publicado pelo Ministério da Agricultura e Pecuária (Brasil, 2022) reafirma a presença da leishmaniose no que tange toda a extensão territorial do país.

Consoante a Organização Pan-Americana de Saúde (2022) a leishmaniose está enquadrada entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas, com mais de 12 milhões de pessoas infectadas, sendo endêmica em 99 países, dos quais o Brasil está entre os nove países responsáveis por notificar 85% dos casos de leishmaniose cutânea, juntamente com o Peru e a Colômbia. Consequente aos dados citados nos humanos, observa-se a reverberação da importância sanitária e epidemiológica da investigação quanto a infecção de *Leishmania* spp. nos felinos, uma vez que diferentemente dos cães, os gatos são classificados como hospedeiros acidentais resistentes à leishmaniose, funcionando como uma peça-chave na manutenção do ciclo do agente etiológico. (Pereira e Maia, 2021).

A leishmaniose em felinos é datada desde o século XX, de modo que seu primeiro caso foi relatado no ano de 1912, na Argélia, em um felino que convivia com uma criança e um cão, portadores da leishmaniose visceral, sendo tal diagnóstico obtido através da visualização da forma infectante do parasita em um aspirado de medula óssea (Sergent et al., 1912 apud Berenguer, 2019; Lucheis, 2015). No Brasil, o primeiro caso de leishmaniose felina foi datado em 1994, em um espécime, fêmea, cinco anos de idade, a qual apresentava uma lesão tumoral no espaço interdigital do membro pélvico esquerdo e residia nas regiões periurbanas de Belo horizonte, tal diagnóstico foi obtido pela visualização de amastigotas pela coloração Giemsa e realização do diagnóstico molecular através da Reação em Cadeia Polimerase (PCR), o qual identificou o parasita *Leishmania* sp. (Passos et al., 1996 apud Nascimento, 2021).

Posteriormente, em 2000 foi identificado a ocorrência de um caso autóctone de leishmaniose felina no estado de São Paulo, sendo ocasionada por *Leishmania infantum chagasi*, achado frente ao diagnóstico molecular como cita Savanni et al. (2004). Consequente, Silva et al. (2010) sugeriram a capacidade de infectividade de *Leishmania infantum* ao vetor *Lutzomyia longipalpis* através da identificação de formas promastigotas do parasita no intestino médio dos espécimes, a partir do repasto sanguíneo frequente em um felino infectado para leishmaniose visceral, diagnosticado por meios sorológicos, teste da imunofluorescência indireta (RIFI), e moleculares, Reação em cadeia polimerase (PCR), em amostra de aspirado de medula óssea, sendo atestada a capacidade do felino participar do ciclo biológico do parasita e consequentemente da dinâmica epidemiológica da leishmaniose visceral.

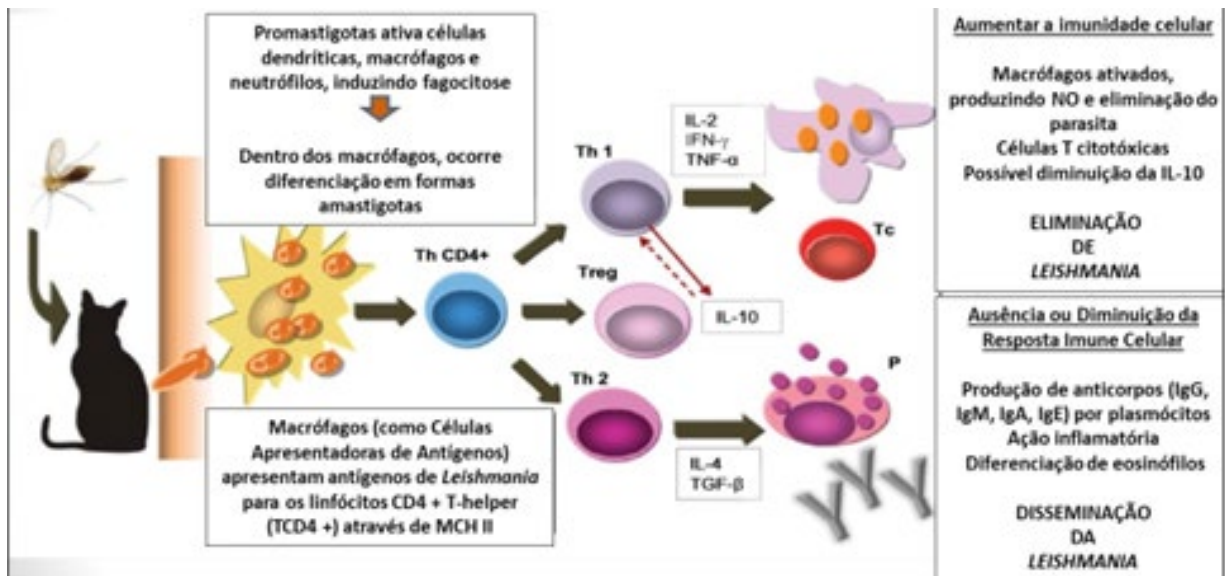
Com isso, a importância do felino no papel epidemiológico da leishmaniose começou a ser mais elucidado, sendo levantado que características comportamentais como a caça predatória noturna e a coabitação em áreas domésticas e silvestres, configurando o comportamento semi domiciliar, expressavam-se como fatores que contribuem para a infecção e disseminação do parasita na população, podendo *Felis catus* se classificar como um reservatório do parasita, em áreas endêmicas (Lucheis, 2015).

Na patogênese da enfermidade, observa-se que durante a inoculação das formas promastigotas no hospedeiro, durante repasto sanguíneo, se tem a ativação da resposta imune mediada por células, sendo expressa a ativação de macrófagos, neutrófilos e células dendríticas, culminando no processo de fagocitose, de tal modo que os protozoários dentro do macrófago iniciam o processo de multiplicação, na forma amastigota, lizando essas células e infectando novas (Soares et al., 2016). A medida que a resposta imunológica continua se tem a apresentação destes antígenos para os linfócitos CD4+ através do complexo principal de histocompatibilidade II que resulta na produção de imunoglobulinas que não conferem imunidade ao hospedeiro (Soares et al., 2016).

Ainda é relatado, hipoteticamente, que os felinos são menos suscetíveis a desenvolver a doença quando comparado aos cães, apesar de também apresentar uma parasitemia de longa duração, este fato se justifica pelo desenvolvimento de uma resposta imune mediada por células mais efetiva, em comparação das infecções em cães e humanos (Pereira e Maia, 2021). Dado que, a resposta celular desenvolvida pelo felino frente a infecção por *Leishmania spp* se expressa na maior produção de

mediadores pró-inflamatórios, como interferon gama (IFN- γ), que auxiliam no desenvolvimento mais eficiente da resposta imunológica celular pela via T helper 1 (Th1) como ilustra a figura 2, diferentemente da resposta celular do cão que é modulada pela via T helper 2 (Th2), a qual é suprimida conforme a ação imunomoduladora da saliva do vetor biológico, sendo vista a menor produção de IFN- γ (Priolo et al., 2019).

Figura 2: Resposta imunológica do felino contra *Leishmania* sp.



Fonte: (Campos, 2019)

Clinicamente, a leishmaniose felina possui um curso crônico e está associada, intimamente, com animais imunossuprimidos que apresentam infecções concomitantes por FIV/FelV e *Toxoplasma gondii*, de modo que sua incidência está determinada em países endêmicos ou em gatos que foram transportados para tal (Pereira e Maia, 2021; Lucheis, 2015). Os sinais clínicos apresentados pelos mamíferos acometidos são expressos na febre, ascite, esplenomegalia, anemia, descamação e ulcerações cutâneas (Pereira e Maia, 2021; Lucheis, 2015; Fortes, 2004). Tais sinais sistêmicos são justificados pelo acometimento dos linfonodos e do sangue frente a infecção pelo parasita, podendo ser visualizado, embora seja mais frequente em cães, acometidos com leishmaniose visceral, a presença de uveíte como agravamento oftálmico (Lucheis, 2015; Pennisi et al., 2013)

Ainda quanto aos sinais clínicos, dermatologicamente, segundo Pennisi et al. (2013), apud Nascimento et al. (2021) e Lucheis (2015) as lesões se configuram como

dermatites ulcerativas, nodulares ou descamativas, podendo haver a presença de crostas, de tal forma que o dermatograma se estabelece mais em região de cabeça e pescoço, podendo ainda apresentar alopecia nestas regiões e laceração. Notando-se que as orelhas, pálpebras e plano nasal são os locais de predileção quanto à aparição das lesões dermatológicas nos felinos (Lucheis, 2015).

Consoante a Lucheis (2015), o diagnóstico clínico de *Leishmania* é pouco respaldado, em virtude da clínica inespecífica e da ausência de sinais patognomônicos, sendo indicada a realização da pesquisa parasitológica, no diagnóstico laboratorial. A pesquisa parasitológica é feita através da confecção de esfregaços em lâminas coradas com Giemsa ou Pappenheim, tais quais são obtidos de biópsias de polpa de baço, fígado, nódulos linfáticos superficiais, medula óssea e raspagem ou punção de lesões cutâneas (Fortes, 2004). Dos locais de predileção para diagnóstico parasitológico o linfonodo poplíteo é o que apresenta maior sensibilidade de visualização das formas amastigotas consoante a Costa (2010), uma vez que quando comparado a pesquisa em medula óssea, baço e fígado aquele se mostrou com maior sensibilidade (87,5%).

Os testes sorológicos são métodos de diagnósticos indiretos que avaliam a exposição do hospedeiro ao parasita mediante o desenvolvimento da resposta humoral, embora sua utilização seja ampla esses métodos não conseguem avaliar o potencial de transmissão do hospedeiro para o vetor, o grau de parasitismo e a presença da doença (Lucheis, 2015). No entanto dos testes sorológicos utilizados para diagnóstico da enfermidade os mais realizados são o da imunofluorescência indireta (RIFI) e o do Imunoensaio enzimático (ELISA) (Soares et al., 2016). De maneira que esses são considerados testes confirmatórios e possuem recomendação de uso estabelecida pelo Ministério da Saúde (Zanette, 2006).

Acerca do diagnóstico de escolha para a identificação e caracterização do agente etiológico, com a inovação e o crescente avanço do diagnóstico molecular, torna-se passível de escolha a reação em cadeia de polimerase (PCR), dado que o método é capaz de amplificar e identificar o material genético do parasita em questão, além de ajudar na identificação dos subgêneros, tendo em vista as 6 espécies datadas na literatura, capazes de infectar o felino doméstico (*Felis catus*). Reiterando que nem a microscopia, nem a cultura podem fornecer identificação precisa da espécie de *Leishmania* (SIMON et al., 2010).

Diversos são os posicionamentos que discutem a presença do felino doméstico (*Felis catus*) na dinâmica epidemiológica da leishmaniose (Nascimento et al., 2021; Pereira e Maia, 2021; Lucheis, 2015; Silva et al., 2010; Simões Mattos et al., 2005; Mancianti, 2004) de modo que são retratados tanto como hospedeiros acidentais, quanto como reservatórios de *Leishmania* sp. De tal maneira que, atualmente, indica-se a combinação de técnicas moleculares, sorológicas e pesquisa direta como diagnóstico da presente enfermidade, uma vez que na maioria dos acometidos o pico de produção de imunoglobulinas ocorre após a vigésima sexta semana posterior à infecção, tornando o diagnóstico sorológico um método falho quanto a correlação dos achados clínicos frente a detecção de anticorpos (Simões Mattos et al., 2005).

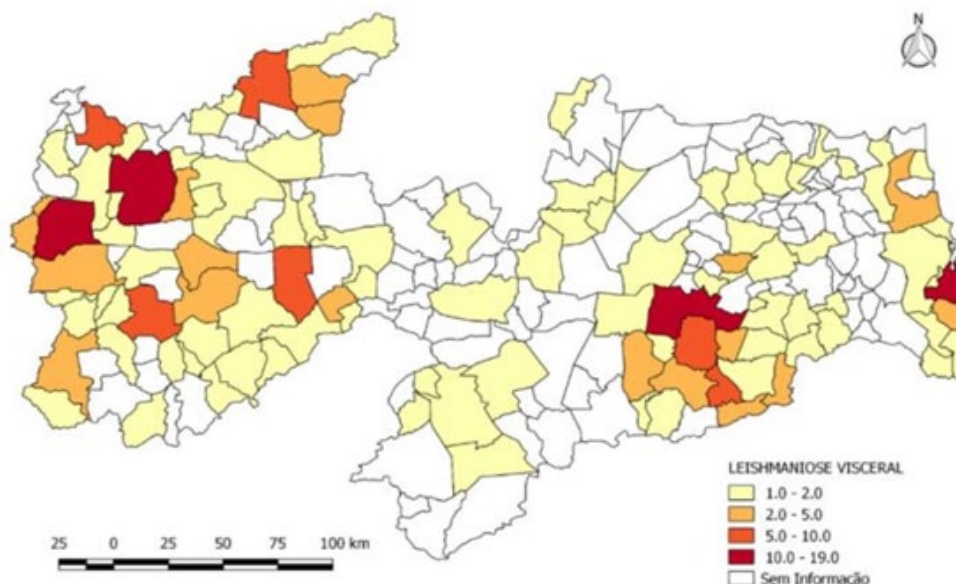
Em associação, têm-se a baixa quantidade de inquéritos soroepidemiológicos que retratam a situação atual de leishmaniose felina no país, sendo necessário mais estudos que atestem a dinâmica do felino doméstico na transmissão da leishmaniose em áreas endêmicas (Nascimento et al., 2021; Simões Mattos et al., 2005).

Desta forma, a leishmaniose felina é considerada uma enfermidade multifatorial que cursa com o amparo de diversas condições epidemiológicas e clínicas, mantendo-se como alerta de saúde pública, dado que segundo Mancianti (2004) o fato do felino doméstico atuar com um papel ativo na epidemiologia da enfermidade deve ser considerado, tendo em vista o contraste da atuação de equinos, cabras e bezerros que são elencados como reservatórios acidentais. Dessa maneira, no Brasil, embora a prevalência da leishmaniose nos felinos domésticos (*Felis catus*) não seja expressiva, dada a prevalência global estimada em 8%, segundo Nascimento et al. (2021), esses possuem um lugar na cadeia epidemiológica de disseminação de tal enfermidade, atuando como reservatório do parasita, o que expressa extrema importância no desenvolvimento de medidas profiláticas e de controle quanto a disseminação desta doença infecto parasitária nestes animais (Lucheis e Ribeiro, 2015).

Na Paraíba entre os anos de 2015-2021, segundo o Ministério da Saúde (2021), foram notificados 737 casos humanos de leishmaniose visceral, distribuídos de forma homogênea em 106 municípios do presente estado, sendo confirmados 237 casos, tendo visto 24 óbitos, ao passo que alguns municípios apresentaram maior incidência da doença como: João Pessoa, Campina Grande, Sousa, Cajazeiras e Catolé do Rocha, em ordem decrescente como mostra a figura 3. Tal fato denota a expansão dos casos da enfermidade a nível estadual, posto que no período que tange 2001 a

2006 apenas 37 casos de leishmaniose visceral em humanos foi confirmado (Ministério da Saúde, 2006).

Figura 3: Distribuição dos casos confirmados de leishmaniose visceral humana por município de infecção. Paraíba, 2015 a 30ª Semana Epidemiológica do ano de 2021.



Fonte: SINAN NET/SES PB, 2021.

Em consonância, outro estudo determina que variáveis como renda per capita, saneamento básico, população canina, índice de desenvolvimento humano municipal (IDHM) e porcentagem de pessoas vulneráveis à pobreza estão amplamente ligadas a alta prevalência de leishmaniose visceral tanto em cães quanto em humanos na Paraíba, de modo que frente a correlação dessas variáveis com a prevalência dos casos no estado da Paraíba foi observado uma expansão dos casos de leishmaniose visceral tanto em humanos quanto em cães nos anos de 2012-2017 (Araújo et al., 2021).

Tais fatores abordados expressam a necessidade de pesquisas que adentrem a relação epidemiológica que o felino doméstico (*Felis catus*) expressa na cadeia de transmissão da leishmaniose visceral, tendo em vista a necessidade de determinação do seu papel de reservatório dentro do ciclo de transmissão da enfermidade em pauta.

Outro fator que exacerba a necessidade de diagnósticos precisos para esta enfermidade está datado na existência de diagnósticos diferenciais como a esporotricose que acabam “mascarando” seu diagnóstico pela semelhança das lesões

dermatológicas, estando os diagnósticos inconclusivos para esta patologia, possivelmente, ligados a ocorrência da enfermidade levantada na pesquisa. Portanto, associado aos escassos relatos e informativos de leishmaniose em gatos domésticos na Paraíba, observa-se a importância epidemiológica da sua ocorrência, uma vez que a região amostral se situa em uma zona endêmica para o vetor biológico do parasita (Araújo Neto, 2017).

2 CAPÍTULO I – Frequência de leishmaniose em felinos domésticos (*Felis catus*) atendidos no Hospital Universitário Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (HUV-UFPB).¹

3 INTRODUÇÃO:

A leishmaniose consiste numa enfermidade parasitária que acomete humanos, animais domésticos e silvestres em torno do mundo, sendo causada por protozoários do gênero *Leishmania*. O contágio e infecção do protozoário no hospedeiro se estabelece no momento do repasto sanguíneo dos flebotomíneos fêmeas dos gêneros *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo, os quais são considerados hospedeiros intermediários (WHO, 2010, apud Pereira e Maia, 2021).

De acordo com Frezard (2016) apud Berenguer (2019) e Fortes (2004), as formas promastigotas de *Leishmania* se multiplicam por divisão binária no aparelho digestivo do vetor biológico, de maneira que durante o repasto sanguíneo do mosquito fêmea, essas formas evolutivas do parasita são inoculadas no hospedeiro definitivo e infectam as células do sistema mononuclear fagocítico (SMF), na forma de amastigotas, concluindo o ciclo biológico e desenvolvendo a enfermidade de forma aguda ou crônica.

Consoante a Pereira e Maia (2021), atualmente existem seis espécies do protozoário, o qual está incluído na ordem kinetoplastida, família *Trypanosomatidae*, pertencentes ao subgênero *Leishmania* e uma ao subgênero *Viannia* que foram identificadas em gatos domésticos (*Felis catus*) por meio de DNA ou métodos de tipagem baseados em isoenzimas, sendo três delas encontradas no Brasil, representadas por *L. (L.) amazonensis*, *L. (L.) infantum* e *L. (V.) braziliensis*.

Conforme a Organização Pan-Americana de Saúde (2022) a leishmaniose está enquadrada entre as dez principais doenças tropicais negligenciadas, com mais de 12 milhões de pessoas infectadas, sendo endêmica em 99 países, dos quais o Brasil está entre os 9 países responsáveis por notificar 85% dos casos de leishmaniose cutânea, juntamente com o Peru e a Colômbia. Acerca dos casos confirmados em 2021 de leishmaniose tanto cutânea quanto mucosa, no Brasil, foram registrados mais de 15 mil casos, consoante a Organização Pan-Americana de Saúde (2022). Dado este que

¹ Artigo submetido à revista XXXXXXX

expressa a colocação do país entre os que mais apresentam casos da enfermidade, juntamente com o Peru.

Na Paraíba entre os anos de 2015-2021, segundo o Ministério da Saúde (2021), foram notificados 737 casos humanos de leishmaniose visceral, distribuídos de forma homogênea em 106 municípios do presente estado, sendo confirmados 237 casos, tendo visto 24 óbitos, ao passo que alguns municípios apresentaram maior incidência da doença como: João Pessoa, Campina Grande, Sousa, Cajazeiras e Catolé do Rocha, em ordem decrescente. Consequente, observa-se a reverberação da importância sanitária e epidemiológica da investigação quanto a infecção de *Leishmania* spp. nos felinos, uma vez que diferentemente dos cães, os gatos são classificados como hospedeiros acidentais resistentes à leishmaniose, funcionando como uma peça-chave na manutenção do ciclo do agente etiológico. (Pereira e Maia, 2021).

O diagnóstico clínico de *Leishmania* é pouco respaldado, em virtude da clínica inespecífica, sendo indicada a realização da pesquisa parasitológica, no diagnóstico laboratorial. A pesquisa parasitológica é feita através da confecção de esfregaços em lâminas coradas com Giemsa ou Pappenheim, tais quais são obtidos de biópsias de polpa de baço, fígado, nódulos linfáticos superficiais, medula óssea e raspagem ou punção de lesões cutâneas (Fortes, 2004)

Acerca do diagnóstico de escolha para a identificação e caracterização do agente etiológico, com a inovação e o crescente avanço do diagnóstico molecular, torna-se passível de escolha a reação em cadeia de polimerase (PCR), uma vez que o método é capaz de amplificar e identificar o material genético do parasita em questão, além de ajudar na identificação dos subgêneros, tendo em vista as seis espécies datadas na literatura, capazes de infectar o felino doméstico (*Felis catus*). Reiterando que nem a microscopia, nem a cultura podem fornecer identificação precisa da espécie de *Leishmania* spp. (SIMON et al., 2010).

Diante do exposto, a leishmaniose em felinos é considerada uma enfermidade multifatorial que cursa com o amparo de diversas condições epidemiológicas e clínicas, mantendo-se como alerta de saúde pública, uma vez que doenças como esporotricose entram como diagnóstico diferencial e acabam ocultando seu diagnóstico pela semelhança das lesões dermatológicas, estando os diagnósticos inconclusivos para esta patologia, possivelmente, ligados a ocorrência da enfermidade levantada na pesquisa.

Associado aos escassos relatos e informativos de leishmaniose em gatos domésticos na Paraíba, observa-se a importância epidemiológica da sua ocorrência, uma vez que a região amostral se situa em uma zona endêmica para o vetor biológico do parasita (Araújo, 2017). Portanto, o presente estudo visa determinar a frequência de casos de leishmaniose visceral em gatos atendidos no HUV-UFPB.

4 METODOLOGIA

4.1 Local de pesquisa e obtenção de amostras

A presente pesquisa foi desenvolvida no Hospital Universitário Veterinário da Universidade Federal da Paraíba (HUV-UFPB) em conjunto com o Laboratório de Biologia Molecular da mesma instituição, estando ambos localizados no Campus II, no Centro de Ciências Agrárias (CCA), no município de Areia-PB.

Como público amostral foram utilizadas amostras de sangue coletadas para realização de avaliações hematológicas no laboratório de patologia clínica veterinária (LPCV-UFPB), provenientes da rotina ambulatorial da clínica médica de felinos, conferindo o caráter aleatório dos dados.

Dado o exposto, a abrangência amostral da presente pesquisa permeia a população de felinos da microrregião do brejo paraibano, visto que são de animais provenientes de municípios como: Alagoa Grande, Alagoa Nova, Areia, Bananeiras, Borborema, Matinhas, Pilões e Serraria (IBGE, 2017). Tal qual foi calculado considerando-se prevalência esperada de 50%, nível de confiança de 95% e um erro estatístico de 5% em uma população infinita, utilizando-se a fórmula para cálculo de amostras aleatórias, de modo que o corpo amostral era formado por 50 animais, sendo 18 do sexo masculino e 32 do sexo feminino (THRUSFIELD, 2004).

O volume de amostra utilizado apresentava em torno de 0,5 ml, sendo obtido através da venopunção com agulha 20 x 55 mm e seringa de 1 ml, as quais eram armazenadas em eppendorfs de 3 ml livres de DNAsas e RNAsas, contendo ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA), como anticoagulante, uma vez que o material que seria processado seria o sangue total e o presente anticoagulante inibe a ação do magnésio e conseqüentemente consumo de material genético da amostra, sendo armazenado em temperatura de - 20 °C, até o processamento. Posteriormente a utilização da amostra sanguínea na rotina laboratorial, foi processada a partir do uso de ferramentas de diagnóstico molecular para realização da técnica de reação em cadeia polimerase convencional (cPCR).

Como controle positivo foi utilizado material genético de *Leishmania* spp. extraído da medula óssea de um canídeo doméstico positivo no exame citológico.

4.2 Extração de DNA

A extração do material genético foi realizada utilizando-se o kit comercial G-spin™ Total DNA Extraction Kit (iNtRON Biotechnology), de acordo com as recomendações do fabricante. Após determinada concentração de DNA extraído de cada amostra, foi realizada diluição individual para concentração final de 20 ng/μl. As amostras foram mantidas em -20 °C até a realização da reação.

4.3 Reação em cadeia da polimerase (PCR)

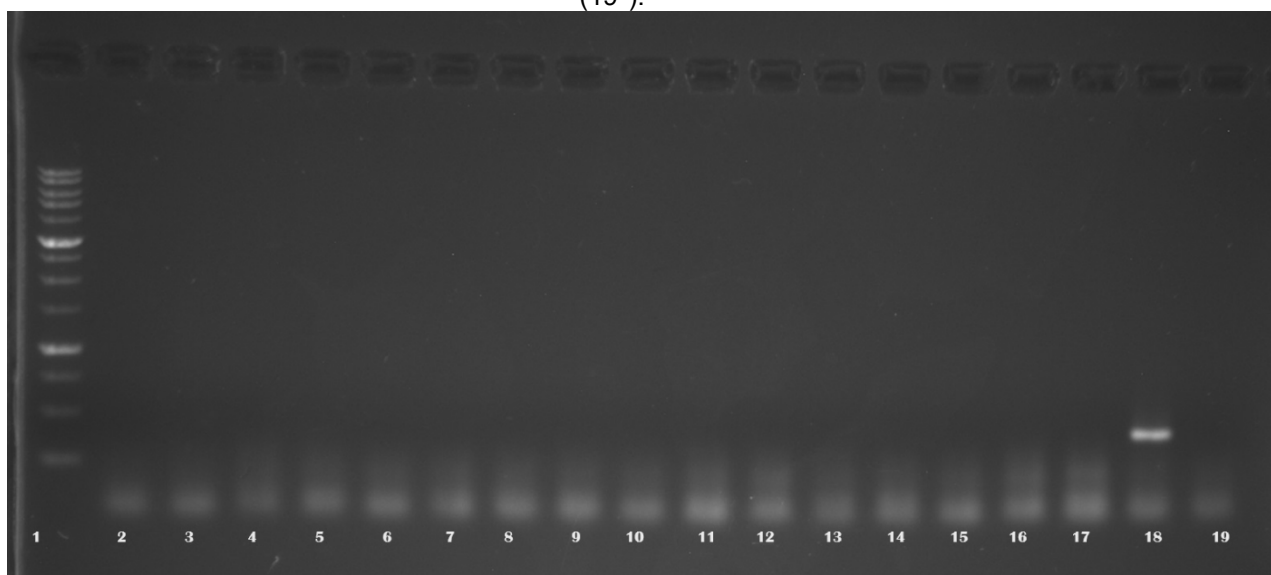
Para o desenvolvimento da Reação em cadeia da polimerase convencional (cPCR) foram utilizados 0,2 μM do Primer MC1 de sequência 5' GTTAGCCGATGGTGGTCTTG 3' e 0,2 μM do primer MC2 5' CACCCATTTTCCGATTTTG 3', 1X de tampão de PCR (Quatro G), 1,5 mM de MgCl₂ (Quatro G), 200 μM de dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP - Laboratório), 1,25 U de Taq DNA polimerase (Quatro G), 100 ng/ul de DNA genômico da amostra testada, e H₂O para um volume final de 25 μl, sob as seguintes condições de amplificação: 94°C por 3 minutos para desnaturação inicial, 40 ciclos de desnaturação a 94°C por 30 segundos, anelamento do primer a 56°C por 30 segundos e extensão a 72° por 1 minuto, seguido de extensão final a 72°C por 5 minutos.

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose a 1,0% corado com SYBR Safe DNA Gel Stain (Invitrogen), um DNA Ladder (10.000 pares de base – Kasvi) foi adicionado ao gel para servir de padrão para determinar o peso molecular dos produtos. O gel foi visualizado no foto documentador (L-Pix Chemi Molecular Imaging - Locus Biotec®).

5 RESULTADO E DISCUSSÃO

O presente estudo teve como resultado, a partir da análise de PCR convencional para identificação de *Leishmania infantum*, a ausência de animais positivos dentro do corpo amostral de 50 indivíduos testados (figura 4). Dado que a composição do corpo amostral 64% eram representados por felinos domésticos do sexo feminino e 36% do sexo masculino.

Figura 4: Análise eletroforética de cPCR em gel de agarose a 1,0% para *Leishmania infantum*, em felinos domésticos atendidos no HUV-UFPB, no segundo semestre de 2023. Na imagem observa-se a Ladder (1°), as amostras testes (2°-17°), C+: controle positivo (18° - 447 pb); C-: controle negativo (19°).



Fonte: Arquivo pessoal.

A acurácia do resultado obtido foi definida na eleição de um método de diagnóstico molecular, o qual é considerado mais sensível e específico para o diagnóstico da presente enfermidade. Sendo visto que segundo Simões Mattos et al. (2005) as lesões clínicas que relacionam a suspeita da enfermidade não acompanham diretamente o desenvolvimento dos títulos de anticorpos dificultando o diagnóstico hábil de tal enfermidade por métodos sorológicos, tendo em vista que a principal resposta imunológica do felino frente *Leishmania* sp. é mediada por células (Pereira e Maia, 2021).

Embora o estudo em questão transpasse numa região endêmica para o desenvolvimento da doença tanto em animais quanto em humanos, o presente achado pode estar atrelado ao fato da menor susceptibilidade dos felinos e imunidade celular mais efetiva para com o contágio do parasita, apesar dos seus hábitos

comportamentais conferirem maiores riscos de exposição ao vetor biológico da enfermidade, como é visto nos felinos semi-domiciliados, inteiros, machos e que de maneira geral possuem pico de atividade em períodos crepusculares, coalescendo com o período do dia de maior atividade do vetor (Lucheis, 2015).

Adicionalmente, o fato dos felinos domésticos (*Felis catus*) serem mais ativos, além de possuírem o hábito de grooming, também colaboram para a diminuída taxa de contágio da enfermidade, sendo vista ainda de acordo com a literatura que a preferência do hematofagismo, por parte dos vetores biológicos, estão voltadas para os cães, humanos e roedores, ao invés dos felinos (Sousa et al., 2021).

Os achados da presente pesquisa apresentam-se em consonância com trabalhos publicados em escala nacional, quanto à baixa prevalência dos casos. Dado que ao retratar a situação do Brasil quanto à ocorrência da leishmaniose felina, a partir de suas prevalências sorológicas e por PCR são visualizados percentuais de 7% e 5%, respectivamente, mostrando a existência da enfermidade no território nacional, mesmo que em menor escala (Asfaram, 2019).

Dito isto, por mais que no decorrer da investigação molecular não se tenha diagnosticado pacientes para leishmaniose felina por *Leishmania infantum* autores ainda afirmam quanto a sua alta prevalência de casos da enfermidade por *Leishmania infantum* na região nordeste, principalmente em estados como Pernambuco, Rio Grande do Norte e Paraíba (Pereira e Maia, 2021).

Ainda, na região metropolitana de Recife (PE), Berenguer (2019) levantou a ocorrência de leishmaniose visceral em felinos domésticos, com base no diagnóstico molecular, frente a coleta de amostras hematológicas e Swabs conjuntivais, em 128 espécimes, de tal forma que o achado foi de apenas um animal positivo, indicando a baixa prevalência da enfermidade, ainda que a região fosse endêmica. Assim como, remonta o cenário epidemiológico do recorte territorial do presente estudo, o qual mesmo sendo endêmico para o vetor biológico do parasita o percentual de animais diagnosticados para a enfermidade não foi satisfatório (Araújo, 2017).

Sob outra ótica, na Paraíba, a ocorrência da leishmaniose visceral em humanos, é visualizada a notificação, principalmente, em municípios que não englobam a microrregião do brejo paraibano no que tange o período de 2015 a 2021 (Brasil, 2021). Situação esta contrária a ocorrência de casos da leishmaniose

tegumentar americana, na qual é vista a notificação de casos nos municípios de Areia, Alagoa Nova, Alagoa Grande, Bananeiras e Pilões (Brasil, 2021). Achado este que se porta opostamente ao procurado na pesquisa, alertando para a pesquisa de espécies diferentes do parasita que confirmam a doença tegumentar nos felinos domésticos, como a *Leishmania amazonensis* spp..

Nos felinos domésticos, estudos que avaliaram a ocorrência da leishmaniose visceral nesta espécie, em municípios do estado da Paraíba, atribuíram baixa ocorrência desta enfermidade aos animais avaliados (Júnior e Melo, 2019; Oliveira, 2019). Embora as ferramentas diagnósticas sejam divergentes com a do presente trabalho, os resultados se confluem quanto a baixa prevalência de casos de leishmaniose visceral felina, uma vez que consoante a Júnior e Melo (2019), de um público amostral de 423 gatos domésticos avaliados, sorologicamente, para presença de anticorpos anti-*Leishmania infantum*, apenas 2 animais foram positivos.

Da mesma forma que em um estudo satélite realizado no município de Areia/PB com base na realização de uma investigação soropidemiológica e parasitológica foi detectada a baixa ocorrência da enfermidade em questão, permeando os 2,86% de positividade frente a pesquisa sorológica, ao passo que nenhum animal avaliado foi positivo na pesquisa direta de punção de linfonodo poplíteo (Oliveira, 2019). Sendo evidenciado que mesmo estando numa área endêmica para a ocorrência da enfermidade devido o clima úmido e quente, o diagnóstico da enfermidade, ainda pode se apresentar pouco prevalente, de modo que tal afirmação pode estar atrelada a falha na detecção de anticorpos ou ao fato dos felinos domésticos apresentarem uma resistência natural para a doença (Pirajá GV. et al., 2013).

Para mais, a aleatoriedade do corpo amostral foi estabelecida na obtenção de amostras de pacientes atendidos em que não houvessem critérios de triagens. Tais quais, a presença de lesões dermatológicas na base do pavilhão auricular e plano nasal, como também da presença de enfermidades imunossupressoras, como a FIV e a Felv. De modo que, a partir disto se tinha o aumento da possibilidade do diagnóstico subclínico da enfermidade, uma vez que condições como estas supracitadas, associadas, de acordo com Maia e Pereira (2021), conferem a suspeita de tal enfermidade. Como também, a ausência de amostras positivas pode estar

associada ao fato da não adesão de parâmetros de triagem para a suspeita clínica da enfermidade, como também ao número amostral definido.

Dados estes alicerçam o cerne da pesquisa, uma vez que a busca molecular pelo agente etiológico convergiu com os estudos supracitados, embora não se tenha achado animais positivos no público alvo avaliado. Resultado justificável, tendo em vista a falta de conhecimento da população local acerca do contágio, e necessidade de parâmetros de triagem para suspeita clínica da enfermidade, dada a existência de diagnósticos diferenciais como a esporotricose e o carcinoma de células escamosas. Assim como, a leishmaniose felina não permeia a óptica de diagnósticos diferenciais, na rotina médica, o que torna sua identificação um desafio (Pereira e Maia, 2021).

Outro fato que traduz a negligência por trás do diagnóstico de tal patologia é o fato de ser endêmica em mais de 80 países e sua notificação obrigatória ser datada em apenas 33 países, tamponando tal achado que tem repercussão mundial a nível da saúde única (WHO, 2012 apud Pirajá GV. et al., 2013). Posto que, mundialmente, estudos levantam a prevalência global da leishmaniose em felinos, de modo que segundo Asfaram (2019), tal achado permeia os 10%, sendo ainda retratado o principal achado dentre a identificação molecular *Leishmania infantum*.

A partir deste prisma de abordagens, é notório que com o decorrer do tempo, temas como medicina do meio ambiente e o conceito de “Saúde Única” foram sendo lapidados e aprimorados no meio científico, uma vez que se tomou conhecimento da indissociação de fatores ligados a saúde animal e humana, dentro de um ecossistema, sendo visto que este elo poderia confluir para a permanência e até amplificação de casos de uma enfermidade. Ao passo que consoante a Organização Mundial de Saúde Animal (WOAH, 2023), cerca de 60% das doenças que acometem os seres humanos é vinculada aos animais no ciclo evolutivo do patógeno, o que agrega a designação de “doenças zoonóticas”. Com isso, diversos estudos epidemiológicos são desenvolvidos, rotineiramente, para avaliar as condições de agravo à saúde tanto humana, como animal.

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

É indubitável a necessidade de discutir a ocorrência da leishmaniose felina na Paraíba e na microrregião do Brejo Paraibano, frente sua idiossincrática endemicidade para o vetor biológico do parasita, como também como forma de melhor entender o papel epidemiológico do felino na dinâmica da doença.

Logo, o achado da presente pesquisa sugere a baixa ou ausência de infecção de *Leishmania infantum* em felinos domésticos na microrregião do Brejo Paraibano, PB. Entretanto, mais estudos, com número amostral mais significativo ou até mesmo com a inclusão de pesquisas em animais com lesões dermatológicas são sugeridos, visando ampliar o pool científico para o melhor conhecimento da dinâmica de transmissão da leishmaniose nesta espécie.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO JÚNIOR, Damião dos Santos; MELO, Marcia Almeida de. **LEISHMANIOSE VISCERAL EM FELINOS DOMÉSTICOS, NATURALMENTE INFECTADOS, ATENDIDOS NO HOSPITAL VETERINÁRIO/UFCG, PATOS-PB**. In: XVII CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE, 17., 2019, Campina Grande. XVII Congresso de Iniciação Científica da Universidade Federal de Campina Grande. Campina Grande: Ufcg, 2019. p. 1-17.

Araújo Neto, AV. **Frequência de leishmaniose visceral em cães atendidos no Hospital Veterinário da UFPB [monografia]**. Areia (PB): Universidade Federal da Paraíba, 2017.

ASFARAM, Shabnam; FAKHAR, Mahdi; TESHNIZI, Saeed Hosseini. Is the cat an important reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **Journal Of Venomous Animals And Toxins Including Tropical Diseases**, [S.L.], v. 25, p. 1-10, 2019. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2019-0012>.

BERENGUER, Lais Kelly Amancio Ribeiro. **Identificação e caracterização molecular de Leishmania spp. em felinos domésticos em áreas endêmicas do estado de Pernambuco**. 2019. 59 f. Tese (Doutorado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2019.

BRASIL, Ministério da Agricultura e Pecuária. **Situação sanitária das doenças de animais terrestres**. Disponível em: <http://https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/saude-animal-e-vegetal/saude-animal/arquivos-sisa/Situacao_zoossanitaria_WAHID_Brasil_2022.pdf/view>. Acesso em: 24 nov. 2023. Arquivos SISA- Situação zoossanitária, 2022

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico. Doenças Tropicais Negligenciadas/** Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Número especial. Brasília: Ministério da Saúde, 2021.

Campos, Rammy Vargas. **LEISHMANIOSE VISCERAL FELINA**. Trabalho de Conclusão de Curso(Graduação)- Universidade Federal do Pampa, RESIDÊNCIA INTEGRADA EM MEDICINA VETERINÁRIA, 2019.

CORTES, S; ROLÃO, N; RAMADA, J; CAMPINO, L. **PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using Leishmania donovani s.l.-specific kinetoplastid primers**. Transactions Of The Royal Society Of Tropical Medicine And Hygiene, [S.L.], v. 98, n. 1, p. 12-17, jan. 2004. Oxford University Press (OUP). [http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203\(03\)00002-6](http://dx.doi.org/10.1016/s0035-9203(03)00002-6).

COSTA, T. A. C. et al. **Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral**. Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science, São Paulo. v. 47, n. 3, p. 212-217, 2010.

FORTES, Elionor *et al.* **PARASITOLOGIA VETERINÁRIA**. 4. ed. São Paulo: Icone, 2004. 607 p.

IBGE - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Rio de Janeiro. Disponível em: < <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/pb/pesquisa/24/76693> > Acesso em 24 nov. 2023.

LOPES DE ARAÚJO, Y.; BATISTA SILVA, A.; DE SOUSA FREITAS, F. I.; BEZERRA LUNA LIMA, C. M. **Ocorrência da leishmaniose visceral na Paraíba e sua correlação com indicadores municipais**. Saúde (Santa Maria), [S. l.], v. 47, n. 1, 2021. DOI: 10.5902/2236583441747. Disponível em: <https://periodicos.ufsm.br/revistasauade/article/view/41747>. Acesso em: 18 abr. 2024.

LUCHEIS, S. B.. **Leishmaniose felina**. In: RIBEIRO, Cláudia de Mello *et al* (org.). **Enfermidades Parasitárias por Protozoários em Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Rubio, 2015. 168 p.

LUCHEIS, S. B.. **Leishmaniose visceral canina**. In: RIBEIRO, Cláudia de Mello *et al* (org.). **Enfermidades Parasitárias por Protozoários em Pequenos Animais**. Rio de Janeiro: Rubio, 2015. 168 p.

Mancianti F. **Leishmaniosi felina: quale ruolo epidemiologico? [Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat?]**. Parasitologia. 2004 Jun;46(1-2):203-6. Italian. PMID: 15305717.

Ministério da Saúde/SVSA - Sistema de Informação de Agravos de Notificação – Sinan. **Leishmaniose Visceral - Casos confirmados e notificados ao Sistema de Informação de Agravos de Notificação- Paraíba**. 2006.

NASCIMENTO, Luiz F. J.; CIRILO, Tatyane M.; GOMES, Dharliton S.; GOMES, Ana Carolina A.; LIMA, Victor F. S.; SCHER, R.; JAIN, S.; FUJIWARA, Ricardo T.; DOLABELLA, Silvio S.. **Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review**. Parasitology Research, [S.L.], v. 121, n. 1, p. 21-34, 11 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>.

OLIVEIRA, Islanael Nascimento de. **Estudo soroepidemiológico e parasitológico da leishmaniose felina atendidos no Hospital Veterinário da Universidade Federal da Paraíba**. 2019. 31 f. TCC (Graduação) - Curso de Medicina Veterinária, Departamento de Ciências Veterinárias, Universidade Federal da Paraíba, Areia, 2019.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). **Leishmanioses: Informe epidemiológico das Américas. Nº 11 (dezembro de 2022)**. 11. ed. Washington, 2022. 12 p. Disponível em: <https://iris.paho.org/handle/10665.2/56832>. Acesso em: 03 ago. 2023

PEREIRA, André; MAIA, Carla. **Leishmania infection in cats and feline leishmaniosis: an updated review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines**. Current Research In Parasitology & Vector-Borne Diseases, [S.L.], v. 1, p. 100035, 2021. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.crpvbd.2021.100035>.

Pirajá GV. et al. **Leishmaniose felina: Revisão de Literatura**. Vet. e Zootec. 2013 jun.; 20(2): 203-216.

PRIOLO, Vito *et al.* **Leishmania infantum-specific IFN- γ production in stimulated blood from cats living in areas where canine leishmaniosis is endemic**. Parasites & Vectors, [S.L.], v. 12, n. 1, p. 1-9, 26 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. <http://dx.doi.org/10.1186/s13071-019-3386-y>.

SANTOS, Anna Luiza Hora dos *et al.* LEISHMANIOSE FELINA E SUA RELEVÂNCIA NA SAÚDE ÚNICA. **Multiplicidade das Ciências da Saúde, Volume 4**, [S.L.], p. 75-87, 2023. Editora In Vivo. <http://dx.doi.org/10.47242/978-65-87959-28-3-6>.

SAVANI, E. S. M. M. et al. **The first record in the Americas of an autochthonous case of Leishmania (Leishmania) infantum chagasi in a domestic cat (Felis catus) from Cotia County, São Paulo State, Brazil**. Veterinary parasitology, v. 120, n. 3, p. 229-233, 2004.

SILVA, Sydnei Magno da *et al.* **First report of infection of Lutzomyia longipalpis by Leishmania (Leishmania) infantum from a naturally infected cat of Brazil**. Veterinary Parasitology, [S.L.], v. 174, n. 1-2, p. 150-154, nov. 2010. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.005>.

SIMÕES-MATTOS, L. *et al.* **The susceptibility of domestic cats (Felis catus) to experimental infection with Leishmania braziliensis**. Veterinary Parasitology, [S.L.], v. 127, n. 3-4, p. 199-208, fev. 2005. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.10.008>.

SIMON, S.; VERON, V.; CARME, B. **Leishmania spp. identification by polymerase chain reaction–restriction fragment length polymorphism analysis and its applications in French Guiana**. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease, v. 66, n. 2, p. 175–180, 1 fev. 2010.

SOARES, C. S. A. et al. **What do we know about feline leishmaniosis?** Journal of feline medicine and surgery, v. 18, n. 6, p. 435-442, 2016.

SOUSA, Raimundo Leoberto Torres de *et al.* **Padrões de fonte alimentar dos Flebotomíneos (Diptera: psychodidae) vetores das leishmanioses.** Revista Eletrônica Acervo Saúde, [S.L.], v. 13, n. 8, p. 1-12, 19 ago. 2021. Revista Eletronica Acervo Saude. <http://dx.doi.org/10.25248/reas.e8567.2021>.

THRUSFIELD, M. **Epidemiologia veterinária.** 2 ed. São Paulo: Roca, 2004.
World Organisation Animal Health. One Health. 2023. Disponível em :
<<https://www.woah.org/en/what-we-do/global-initiatives/one-health/>>. Acesso: Dia 08 de janeiro de 2024.

ZANETTE, M. F. **Comparação entre métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para diagnóstico da leishmaniose visceral canina.** 2006. 92f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Faculdade de Odontologia, Curso de Medicina Veterinária. Universidade estadual Paulista, Araçatuba, 2006.