



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS

DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR *Leishmania infantum* EM FELINOS
DOMÉSTICOS NO ESTADO DA BAHIA

NARA SANTOS DOS SANTOS

SALVADOR - BA
FEVEREIRO/2020

NARA SANTOS DOS SANTOS

**DETECÇÃO DE INFECÇÃO POR *Leishmania infantum* EM FELINOS DOMÉSTICOS
NO ESTADO DA BAHIA**

Defesa apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos, da Universidade Federal da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos.

Área de Concentração: Saúde Animal

Orientadora: Prof^ª Dr^ª. Stella Maria Barrouin Melo

Coorientadora: Prof^ª Dr^ª. Flaviane Alves de Pinho

SALVADOR – BA
FEVEREIRO/2020

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas
(SIBI/UFBA), com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).**

S236d Santos, Nara Santos dos.

Detecção de infecção por *Leishmania infantum* em felinos domésticos no estado da Bahia. / Nara Santos dos Santos. Salvador, 2021.
70 f. : il. color.

Orientadora: Stella Maria Barrouin Melo.

Coorientadora: Flaviane Alves de Pinho.

Dissertação (Mestrado – Ciência Animal nos Trópicos) --
Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e
Zootecnia, 2021.

1. Citologia. 2. Gatos. 3. Leishmaniose felina. 4. PCR. 5. Sorologia. I.
Barrouin Melo, Stella Maria. II. Pinho, Flaviane Alves de. III. Título.

CDU: 616.9: 636.8

**DETECÇÃO DE INFECCÃO POR *Leishmania infantum* EM FELINOS
DOMÉSTICOS NO ESTADO DA BAHIA**

NARA SANTOS DOS SANTOS

**Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Ciência
Animal nos Trópicos**

Salvador, 27 de fevereiro de 2020

Comissão examinadora:



**Dr. Luis Fernando Pita Gondim
(Presidente)
UFBA**

**Dra. Rosângela Soares Uzêda
EMEVZ - UFBA**

**Dra. Maísa Santos da Fonseca
ICS - UFBA**

**Dra. Heloisa Cristina da Silva
ICS - UFBA**



**Dra. Stella Maria Barrouin Melo
(Orientadora)
UFBA**



**Dr. Luis Fernando Batista Pinto
Vice coordenador (PPGCAT)
EMEVZ / UFBA**

DADOS CURRICULARES DA AUTORA

NARA SANTOS DOS SANTOS – Nascida em 04 de agosto de 1988, na cidade de Salvador - Bahia. Formada em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia em fevereiro de 2017. Ingressou no programa de Pós-graduação em Ciência Animal nos Trópicos da Universidade Federal da Bahia em abril de 2018, sob orientação da professora Dr^a. Stella Maria Barrouin Melo e coorientação da professora Dr^a. Flaviane Alves de Pinho, defendeu sua dissertação intitulada “Detecção de infecção por *Leishmania infantum* em felinos domésticos no Estado da Bahia” em fevereiro de 2020.

AGRADECIMENTOS

FAPESB (Fundação de Amparo a Pesquisa na Bahia) pela concessão da bolsa número BOL0435/2018.

BIOCLIN pela concessão dos kits de ureia, ALT, FA e GGT para análise da bioquímica sérica.

RESUMO

SANTOS, N. S. Detecção de infecção por *Leishmania infantum* em felinos domésticos no Estado da Bahia. 2020. 97p. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2019.

As leishmanioses apresentam um ciclo epidemiológico complexo com a participação de hospedeiros diversos, o que torna necessário investigar e ampliar o conhecimento sobre a infecção em animais que vivem em áreas endêmicas. Assim, o objetivo deste estudo foi determinar a ocorrência da infecção por *Leishmania infantum* em gatos domésticos oriundos de regiões endêmicas para leishmaniose zoonótica do estado da Bahia, além de caracterizar os casos positivos segundo aspectos clínicos, sorologia para anticorpos anti-*Leishmania* e presença de coinfeções comuns em felinos. Realizou-se, por meio de busca ativa nos municípios baianos de Muritiba, São Félix, Simões Filho, Camaçari e Feira de Santana, a avaliação clínica de 104 gatos e a colheita de amostras biológicas (sangue periférico e aspirados de medula óssea) para realização de teste sorológico imunocromatográfico TR-DPP[®] (Biomanguinhos), exame citológico para investigação de formas amastigotas de *Leishmania* sp., PCR convencional qualitativa para detecção de DNA de *Leishmania infantum*, FIV (Vírus da Imunodeficiência Felina), FeLV (Vírus da Leucemia Felina) e *Mycoplasma* sp. e exames de patologia clínica. Dos 104 gatos avaliados, 14 foram excluídos do estudo. As análises das amostras de 90 gatos revelaram que a infecção por *L. infantum* foi confirmada em 7,8% (7/90) dos gatos examinados pela PCR, três residentes no município de Muritiba, dois no município de Camaçari e dois no município de São Félix. Um (01) gato apresentou-se positivo à PCR para *L. infantum*, à pesquisa de formas amastigotas em exame citológico de aspirados de medula óssea e ao TR-DPP[®], simultaneamente, embora tenha se apresentado sem alterações ao exame físico à primeira colheita (T1) e com exames hematológicos e bioquímicos dentro da faixa de normalidade na segunda colheita (T2), 22 dias após T1. Entretanto, aos 82 dias após T2 (T3) esse gato desenvolveu leishmaniose felina (LFe), caracterizada por linfadenomegalia, conjuntivite, e afta em cavidade oral, associadas a linfocitose, hiperproteinemia com hiperglobulinemia e elevação da fosfatase alcalina no soro, além de presença abundante de amastigotas em citologia de linfonodos e conjuntivas palpebrais; entretanto, o teste TR-DPP[®] resultou negativo em T3. Dos sete gatos positivos à PCR, apenas um apresentou positividade no teste TR-DPP[®], perfazendo 1,1% de soropositividade confirmada. As alterações clínicas encontradas nos gatos positivos à PCR foram emagrecimento, desidratação, lesões crostosas em pontas de orelhas, alopecia, linfadenomegalia, espirros e complexo gengivite-estomatite. Houve apenas um gato 1,1% (1/90) coinfectado com *L. infantum* e FeLV, apresentando leve desidratação e áreas de alopecia circulares em região cervical ventral. Com base nos dados obtidos, podemos afirmar que infecção por *L. infantum* ocorre também em gatos nos municípios baianos Muritiba, São Félix e Camaçari. Os gatos infectados por *L. infantum* no presente estudo foram classificados como portadores de doença discreta. Mais estudos são necessários para um dimensionamento abrangente do número de gatos acometidos e estabelecimento da caracterização clínica e fisiopatológica desses hospedeiros em outros municípios do Estado da Bahia.

Palavras-Chave: Citologia; Gatos; Leishmaniose felina; PCR; Sorologia.

ABSTRACT

SANTOS, N. S. Detection of *Leishmania infantum* infection in domestic cats in the state of Bahia. 2020. 97p. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) – Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Federal da Bahia, 2020.

Leishmaniasis has a complex epidemiological cycle with participation of different hosts, reason why it is necessary to investigate and increase knowledge about animals's infections living in endemic areas. Thus, the objective of this study was to determine the occurrence of infection by *Leishmania infantum* in domestic cats from endemic regions for zoonotic leishmaniasis in the state of Bahia, in addition characterize positive cases according to clinical aspects, serology for anti-*Leishmania* antibodies and the presence of common co-infections in felines. An active search was conducted in cities of Muritiba, São Félix, Simões Filho, Camaçari and Feira de Santana, also clinical evaluation of 104 cats and the collection of biological samples (peripheral blood and bone marrow aspirates), immunochromatographic serological test TR-DPP® (Biomanguinhos), cytological examination to investigate amastigote forms of *Leishmania* sp., qualitative conventional PCR for DNA detection of *Leishmania infantum*, FIV (Feline Immunodeficiency Virus), FeLV (Feline Leukemia Virus) and *Mycoplasma* sp. and clinical pathology exams were performed. Of the 104 cats evaluated, 14 were excluded from this study. Analyzes of samples from 90 cats revealed that *L. infantum* infection was confirmed in 7.8% (7/90) of the cats examined by PCR, three of them were residents in Muritiba, two in Camaçari and two in São Félix. One cat that was positive for PCR for *L. infantum*, also presence of amastigote forms detection in cytological examination of bone marrow aspirates and for TR-DPP®. Interesting, this cat did not present any alterations in physical examination at the first clinical exam (T1), as well as hematological and biochemical laboratorial tests were in the normal range at the second clinical exam (T2), 22 days after T1. However, 82 days after T2 (T3) the cat developed feline leishmaniasis (LFe), characterized by lymphadenomegaly, conjunctivitis, and ulcers located in oral cavity, associated with lymphocytosis, hyperproteinemia with hyperglobulinemia and elevated serum alkaline phosphatase, in addition to abundant presence of amastigotes in lymph node and eyelid conjunctiva cytology; however, the TR-DPP® test performed was negative at T3. Of the seven cats positive for PCR, only one was positive for TR-DPP® test, confirming 1.1% seropositivity. The clinical observations found in cats positive for PCR were weight loss, dehydration, crusted lesions on the tips of ears, alopecia, lymphadenomegaly, sneezing and gingivitis-stomatitis complex. There was only one 1.1% cat (1/90) co-infected with *L. infantum* and FeLV, it showed mild dehydration and circular alopecia areas at ventral cervical region. Based on the data obtained, we can say that infection by *L. infantum* also occurs in cats at Muritiba, São Félix and Camaçari cities. Cats infected with *L. infantum* at the present study were classified as showing mild disease. Further studies are necessary for a comprehensive dimensioning of the number of affected cats and establishment of the clinical and pathophysiological characterization of these hosts in other cities at the State of Bahia.

Keywords: Cats; Cytology; Feline leishmaniasis; PCR; Sorology.

LISTA DE SIGLAS

μL	Micro litro
ALT	Alanina aminotransferase
BID	Duas vezes ao dia (do latim <i>bis in die</i>)
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
cPCR	Reação em cadeia da polimerase convencional (do inglês <i>Conventional Polymerase Chain Reaction</i>)
DAT	Teste de aglutinação direta (do inglês <i>Direct Agglutination Test</i>)
dL	Decilitro
DNA	Ácido desoxirribonucleico (do inglês <i>Deoxyribonucleic Acid</i>)
TR-DPP®	Teste rápido em plataforma de duplo percurso (do inglês <i>Dual Path Plataform</i>)
ELISA	Ensaio imunoenzimático por adsorção (do inglês <i>Enzyme Linked ImunoSorbent Assay</i>)
EUA	Estados Unidos da América
FA	Fosfatase alcalina
FeLV	Vírus da Leucemia Felina (do inglês <i>Feline Leukemia Virus</i>)
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina (do inglês <i>Feline Immunodeficiency Virus</i>)
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (do inglês <i>Gene glyceraldehyde-3-phosphate</i>)
GGT	Gama glutamil transferase
IgG	Imunoglobulina G
IHC	Teste de Imuno-histoquímica (do inglês <i>Immunohistochemical Test</i>)
IFI	Teste de Imunofluorescência Indireta
IM	Via intramuscular
hab/km²	Habitantes por quilômetro quadrado
HOSPMEV	Hospital de Medicina Veterinária
kDNA	DNA do cinetoplasto
Kg	Quilogramas
km²	Quilômetro quadrado

LISTA DE SIGLAS

LCan	Leishmaniose Canina
LFe	Leishmaniose Felina
LV	Leishmaniose Visceral
LIVE	Laboratório de Infectologia Veterinária
mg	Miligramas
mL	Mililitros
OPAS	Organização Pan-Americana da Saúde
pb	Pares de bases
PCR	Reação em cadeia da polimerase (do inglês <i>Polymerase Chain Reaction</i>)
pH	Potencial Hidrogeniônico (do inglês <i>Potencial Hydrogen</i>)
pmol	Picomol
g	Constante de gravitação universal
rK28	Antígeno recombinante rK28
SID	Uma vez ao dia (do latim <i>semel in die</i>)
SRD	Sem raça definida
UI	Unidades Internacionais
UFBA	Universidade Federal da Bahia
UPC	Relação proteína-creatinina urinária (do inglês <i>Urine Protein-creatinine Ratio</i>)
WHO	Organização Mundial de Saúde (do inglês <i>World Health Organization</i>)

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos, sequências e genes, temperatura de anelamento, tamanho do amplicon e referência.....	43
Tabela 2. Frequências das características gerais de gatos estudados quanto ao sexo, raça, idade e forma de criação nos diferentes municípios do estado da Bahia.....	47
Tabela 3. Amostras de linfonodo, pele, medula óssea e suabe conjuntival de gatos oriundos dos municípios de Muritiba, São Félix, Simões Filho, Camaçari e Feira de Santana, analisadas por citologia por microscopia óptica para pesquisa de formas parasitárias de <i>Leishmania</i> sp.....	52
Tabela 4. Frequências de sinais clínicos de gatos oriundos dos diferentes municípios do estado da Bahia negativos para infecção por <i>L. infantum</i>	62

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Sinais clínicos da leishmaniose felina.....	27
Figura 2. Fluxograma da proporção de gatos estudados por municípios em relação ao total de gatos examinados e número de casas e abrigo visitados para pesquisa de infecção por <i>Leishmania infantum</i> em municípios baianos.....	45
Figura 3. Mapa representando os municípios estudados, a detecção de casos de leishmaniose felina (LFe) por PCR e a distância do Hospital Veterinário da UFBA (HOSPMEV).....	49
Figura 4. Gatos positivos para infecção por <i>L. infantum</i> pela PCR.....	60
Figura 5. Gato 6 positivo para infecção por <i>L. infantum</i> por PCR e citologia, nos diferentes tempos de avaliação T1 e T2 e os respectivos exames citológicos realizados.....	66
Figura 6. Gato 6 positivo para infecção por <i>L. infantum</i> por PCR e citologia, em T3 com sinais clínicos e os respectivos exames citológicos realizados.....	67

SUMÁRIO

	Página
1 INTRODUÇÃO.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	17
2.1 Aspectos epidemiológicos da infecção por <i>Leishmania</i> spp. e <i>L. infantum</i> em gatos.....	17
2.1.1 Distribuição da infecção por <i>Leishmania</i> spp. e <i>L. infantum</i> em felinos no mundo.....	17
2.1.2 Distribuição da infecção por <i>Leishmania</i> spp. e <i>L. infantum</i> em felinos no Brasil.....	19
2.1.3 O ciclo de transmissão de <i>Leishmania</i>	23
2.2 A fisiopatologia da leishmaniose felina causada por <i>L. infantum</i>	24
2.3 Aspectos clínicos associados a infecções por <i>L. infantum</i> em gatos.....	25
2.4 Diagnóstico da infecção por <i>L. infantum</i> em gatos.....	28
2.4.1 Exame parasitológico direto.....	28
2.4.2 Técnicas sorológicas.....	29
2.4.3 Exame molecular.....	30
2.5 Leishmaniose felina e coinfeções.....	31
2.6 Tratamento e prevenção da LFe.....	32
3 HIPÓTESE.....	34
4 OBJETIVOS.....	34
4.1 Objetivo geral.....	34
4.2 Objetivos específicos.....	34
5. MATERIAL E MÉTODOS.....	35
5.1 Área de estudo.....	35
5.2 Animais e aspectos éticos.....	36
5.3 Exame clínico e colheita de amostras biológicas <i>in vivo</i>	37
5.4 Diagnóstico da infecção por <i>Leishmania</i> sp. em amostras de gatos.....	38
5.4.1 Método parasitológico direto.....	38
5.4.2 Método sorológico.....	39
5.5 Método molecular para detecção de <i>L. infantum</i> e coinfeções.....	39
5.5.1 Extração de DNA.....	39

5.5.2 PCR do controle endógeno.....	39
5.5.3 PCR para detecção de <i>L. infantum</i>	40
5.5.4 Diagnóstico de coinfeções.....	40
5.5.5 PCR para FIV.....	41
5.5.6 PCR para FeLV.....	41
5.5.7 PCR para <i>Mycoplasma</i> sp.....	42
5.6 Exames de patologia clínica.....	43
5.7 Análise dos dados.....	44
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	45
6.1 Caracterização dos gatos e das áreas abordadas no estudo.....	45
6.2 Ocorrência de infecção por <i>Leishmania</i> sp. e <i>L. infantum</i> nos gatos.....	48
6.3 Detecção de anticorpos anti- <i>Leishmania</i> por meio de teste imunocromatográfico.....	54
6.4 Ocorrência de infecções por FeLV, FIV, <i>Mycoplasma</i> sp. e coinfeções por <i>Leishmania</i>	56
6.5 Caracterização clínica dos gatos do estudo.....	58
6.6 Monitoramento do perfil clínico do gato 6.....	64
7 CONCLUSÕES.....	69
8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	71
9 ANEXOS.....	86
10 APÊNDICES.....	91

1. INTRODUÇÃO

As leishmanioses são enfermidades infecciosas causadas por mais de 20 espécies do protozoário *Leishmania* spp., que afetam tanto humanos quanto animais. As leishmanioses apresentam ampla distribuição geográfica no mundo, sendo endêmicas em 102 países, havendo mais de 350 milhões de pessoas em risco de infecção (OPAS, 2019). Dessa forma, as leishmanioses são consideradas um grave problema de saúde pública e reconhecidas dentre as 17 doenças tropicais negligenciadas no mundo (OPAS, 2019; WHO, 2019).

O quadro clinicopatológico das leishmanioses em seres humanos é caracterizado pelas formas cutânea e visceral. A leishmaniose visceral (LV) é a forma mais grave da doença, com alta letalidade nos pacientes humanos quando não tratada (WHO 2019). No Brasil, a leishmaniose visceral zoonótica é causada pela espécie *Leishmania infantum*, com coeficiente de incidência de 1,76/100.000 habitantes em 24 das 26 unidades federativas, nas cinco regiões do Brasil (SVS/MS, 2018).

Nas regiões brasileiras, o ciclo epidemiológico de *L. infantum* apresenta uma alta complexidade por envolver diversas espécies de hospedeiros vertebrados silvestres e domésticos, degradação ambiental devido a ação antrópica desordenada em áreas tanto rurais quanto urbanas, doenças concomitantes, além de profunda desigualdade social e econômica. Toda essa complexidade epidemiológica requer constante atualização de conhecimento para aprimoramento dos métodos de controle e prevenção da leishmaniose zoonótica (MAIA e CAMPINO, 2011; MARCONDES e ROSSI, 2013), com destaque para os hospedeiros mamíferos com potencial de transmissão da *Leishmania* sp. ao inseto vetor nos grandes centros urbanos, a exemplo do gato doméstico (SOARES et al., 2015; DALVI et al., 2018).

A ocorrência natural da leishmaniose felina (LFe) tem sido relatada nas regiões endêmicas brasileiras com soroprevalência de 0% e entre 0,5% a 30,48% dentre gatos infectados e clinicamente saudáveis ou doentes (BRESCIANI et al., 2010; CARDIA et al., 2013; ROCHA et al., 2019). A soroprevalência da LFe encontrada é menor do que a da leishmaniose canina (LCan) nas áreas endêmicas, o que alguns autores atribuem a possíveis diferenças da resposta imune entre esses dois hospedeiros (SOARES et al., 2015; DAY, 2016). A maioria dos gatos é resistente à infecção por *Leishmania* sp., mas estudos mostram que aqueles coinfectados por outros agentes infecciosos ou com comorbidades se tornam suscetíveis à doença (GREVOT et al., 2005). Contudo, o diagnóstico da LFe ainda é um desafio na rotina médica veterinária e nos estudos epidemiológicos (COELHO et al., 2011a;

DALVI et al., 2018) devido à falta de uniformização dos testes diagnósticos. A resistência natural do gato à infecção, a migração de animais infectados, coinfeções e reação cruzada em testes sorológicos são os principais obstáculos para a identificação de gatos infectados por *L. infantum* (MAIA et al., 2010; COELHO et al., 2011a; POCHOLLE et al., 2012; SOBRINHO et al., 2012; SOARES et al., 2015).

A LV humana causada por *L. infantum* é considerada uma enfermidade endêmica com franca expansão no estado da Bahia, abrangendo 174 dos 417 municípios baianos (SINAN/DIVEP, 2020). Até o presente, não encontramos publicações científicas sobre a identificação da infecção por *L. infantum* em gatos no Estado. Diante do exposto, a presente proposta teve como objetivo realizar um estudo descritivo sobre a ocorrência de infecção por *L. infantum* em gatos residentes em áreas endêmicas para LV e LCan da região metropolitana de Salvador e Recôncavo Baiano, por meio da técnica de diagnóstico molecular qualitativa (convencional) *Polymerase Chain Reaction* (PCR), bem como a ocorrência da coinfeção de *L. infantum* com outros agentes infecciosos que acometem felinos, como o vírus da imunodeficiência felina (FIV), o vírus da leucemia felina (FeLV) e *Mycoplasma* sp.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Aspectos epidemiológicos da infecção por *Leishmania* spp. e *L. infantum* em gatos

2.1.1 Distribuição da infecção por *Leishmania* spp. e *L. infantum* em felinos no mundo

A infecção por *Leishmania* spp. é bastante relatada e estudada em humanos e cães, não tanto em outras espécies animais, no entanto, sabe-se que outros hospedeiros mamíferos também podem ser infectados pelo parasito no ambiente peri-urbano e urbano, a exemplo do gato doméstico (NASERENDDIN et al., 2008; VIDES et al., 2011; MARCONDES e ROSSI, 2013; MAIA et al., 2015; MARCONDES et al., 2018).

Considerando que as leishmanioses são doenças de impacto na Saúde Única, estudos epidemiológicos em países da Europa, Ásia, e Américas têm investigado a ocorrência ou prevalência da infecção por *L. infantum* em felinos domésticos no intuito de compreender se há participação destes animais no ciclo epidemiológico da leishmaniose zoonótica (NASERENDDIN et al., 2008; SHERRY et al., 2011; PENNISI et al., 2015; MARCONDES et al., 2018). Alguns autores levantam a possibilidade da infecção ser subdiagnosticada em felinos, questionando o conceito de infecção rara (PENNISI et al. 2013). Por exemplo, Chatzis et al. (2014) encontraram uma frequência de 41% de infecção por *L. infantum* em uma população de 100 gatos na Tessália e Macedônia, regiões da Grécia endêmicas para LCan.

No continente europeu, a infecção de gatos por *Leishmania* spp. foi relatada na Suíça (RUFENACHT et al., 2005), Itália (MAROLI et al., 2007; PENNISI et al., 2012; IATTA et al., 2019; URBANI et al., 2020) e Espanha (NAVARRO et al., 2010; SHERRY et al., 2011; MIRÓ et al., 2014), enquanto a infecção por *L. infantum* foi encontrada em Portugal (MAIA et al., 2010; MAIA et al., 2015; BASSO et al., 2016), França (POCHOLLE et al., 2012) e Grécia (CHATZIS et al., 2014). No continente asiático, houve um relato de infecção por *L. infantum* na cidade de Jerusalém, Israel (NASERENDDIN et al., 2008), e por *Leishmania* spp. no Irã (NEMATI et al., 2015). Na América, foram descritos casos de leishmaniose em gatos causada por *Leishmania mexicana* no Texas, Estados Unidos (TRAINOR et al., 2010), e por *Leishmania braziliensis* na Guiana Francesa (ROUGERON et al., 2011), além do achado de infecção felina por *Leishmania* spp. no México (LONGONI et al., 2012) (**Quadro 1**).

Quadro 1. Distribuição da positividade para *Leishmania* spp. em felinos domésticos no mundo

Amostragem do estudo/ Local de estudo	Método de diagnóstico	Espécie	Autor/Ano da Publicação
4/Itália	Citologia, IFI e PCR	<i>Leishmania</i> spp.	Pennisi et al. (2004)
2/Suíça	Histopatológico, ELISA e PCR	<i>Leishmania</i> spp.	Rufenacht et al. (2005)
1/Itália	Xenodiagnóstico e PCR	<i>L. infantum</i>	Maroli et al. (2007)
104/Jerusalém, Israel	ELISA	<i>Leishmania</i> spp.	Naserenddin et al. (2008)
138/Portugal	PCR e IFI	<i>L. infantum</i>	Maia et al. (2010)
15/Espanha	Histopatológico e IHC	<i>Leishmania</i> spp.	Navarro et al. (2010)
8/Texas, Estados Unidos	Biópsia, citologia e PCR	<i>L. mexicana</i>	Trainor et al. (2010)
1/Guiana Francesa	PCR	<i>L. braziliensis</i>	Rougeron et al. (2011)
105/Espanha, Ibiza	ELISA e PCR	<i>L. infantum</i>	Sherry et al. (2011)
95/México	ELISA e Western blotting	<i>Leishmania</i> spp.	Longoni et al. (2012)
1/França	Citologia, Cultivo, Western blotting e PCR	<i>L. infantum</i>	Pocholle et al. (2012)
100/Grécia	Citologia e PCR	<i>L. infantum</i>	Chatzis et al. (2014)
346/Espanha	IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Miró et al. (2014)
1/Portugal	Histopatológico, Cultivo e PCR	<i>L. infantum</i>	Maia et al. (2015)
65/Irã	Citologia, Cultivo, DAT e PCR	<i>Leishmania</i> spp.	Nemati et al. (2015)
1/Portugal	Citologia, IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Basso et al. (2016)
2.659/Itália	IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Iatta et al. (2019)
1/Portugal	Citologia e IFI	<i>L. infantum</i>	Pereira et al. (2019)
19/Turquia	PCR	<i>L. infantum</i>	Karakus et al. (2019)
66/Itália	ELISA, IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Priolo et al. (2019)
113/Espanha	ELISA, IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Priolo et al. (2019)
152/Itália	IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Urbani et al. (2020)

(DAT) Teste de aglutinação direta; (ICH) Teste de imuno-histoquímica; (IFI) Teste de imunofluorescência indireta.

Uma revisão sistemática e meta-análise sobre a ocorrência global de gatos infectados por *Leishmania* spp. no período de 1982 a 2017, registrou um total de 12.635 gatos infectados

por *Leishmania* spp. na Europa e nas Américas (ASFARAM et al., 2019). Das espécies de *Leishmania* spp. descritas, 63% eram *L. infantum*. Em menor proporção, foram identificadas as espécies *L. braziliensis* (2,6%), *Leishmania donovani* (1,3%), e *Leishmania tropica* (2,6%). A Itália foi o país que apresentou maior prevalência de soropositividade (24%) e positividade na PCR (21%).

Vale acrescentar que nos países europeus, foi encontrada uma alta prevalência de infecção por *L. infantum* em gatos em regiões onde havia também alta prevalência de LCan (MAIA e CAMPINO, 2011; DAY, 2016). Diferentemente, no Brasil, até o presente, foi descrita uma baixa prevalência da infecção por *L. infantum* em gatos em regiões endêmicas para LCan (METZDORF et al., 2017). Apesar de a prevalência ser menor que a encontrada na Itália, o Brasil foi o país que mais reportou casos de felinos infectados por *L. infantum* (ASFARAM et al., 2019).

Pouco se conhece sobre os fatores de risco relacionados à infecção por *L. infantum* em gatos nas áreas de ocorrência no mundo. Iatta et al. (2019), o qual evidenciou que os gatos residentes no sul da Itália, os mais velhos que 18 meses e os inteiros pertencem ao grupo de risco para contrair a infecção. No Brasil, em um estudo investigativo da ocorrência de infecção por *L. infantum* em felinos domésticos no Maranhão, Rocha et al. (2019) identificaram a associação de gatos infectados (32/105; 30,48%) com acesso às ruas, convívio com cães com LCan, ausência de coleta de lixo e limpeza do quintal. Estes fatos indicam a necessidade de mais estudos em diferentes áreas endêmicas para a doença canina e humana, no intuito de auxiliar no esclarecimento se há contribuição do felino no ciclo da leishmaniose, e identificar quais os fatores são intrínsecos à leishmaniose felina (LFe), em prol da saúde animal.

2.1.2 Distribuição da infecção por *Leishmania* spp. e *L. infantum* em felinos no Brasil

No Brasil, foram identificadas as espécies *L. infantum*, *L. braziliensis* e *Leishmania amazonensis* em gatos domésticos (**Quadro 2**). No estado de São Paulo, na cidade de Araçatuba foram identificadas *L. infantum* (VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012) e *Leishmania* spp. (BRESCIANI et al., 2010; CARDIA et al., 2013). *Leishmania* sp. foi também encontrada em Andradina (COELHO et al., 2011a). Em um estudo realizado em Campo Grande, foram identificados gatos positivos para *L. infantum* (METZDORF et al.,

2017). A positividade ao xenodiagnóstico foi estabelecida pela primeira vez em um gato doméstico naturalmente infectado por *L. infantum* no Brasil, em Belo Horizonte, Minas Gerais (DA SILVA et al., 2010). No Nordeste, foram identificados gatos positivos para *L. infantum* nos estados de Pernambuco, Piauí (SILVA et al., 2013, MENDONÇA et al., 2017), na cidade de Mossoró no Rio Grande do Norte, gatos foram soropositivos para *Leishmania* spp. (BEZERRA et al., 2019). Na cidade de São Luís/Maranhão, gatos foram positivos para infecção por *L. infantum* (ROCHA et al., 2019). A infecção de gatos por *L. braziliensis* foi diagnosticada no Rio de Janeiro (SCHUBACH et al., 2004). Houve também um relato de LFe cutânea por *L. amazonensis* em Ribas do Rio Pardo, Mato Grosso do Sul (SOUZA et al., 2009).

Quadro 2. Distribuição da positividade por *Leishmania* spp. em felinos domésticos no Brasil

Amostragem do estudo/ Local de estudo	Método de diagnóstico	Espécie	Autor/Ano de Publicação
84/Ceará	ELISA	<i>L. braziliensis</i>	Simões-Mattos et al. (2001)
1/Cotia, SP	Citologia e PCR	<i>L. infantum</i>	Savani et al. (2004)
2/Rio de Janeiro	Cultivo	<i>L. braziliensis</i>	Schubach et al. (2004)
1/Mato Grosso do Sul	Citologia, Cultivo e IFI	<i>L. amazonensis</i>	Souza et al. (2005)
8/ Rio de Janeiro	IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Silva et al. (2008)
1/Ribas do Rio Pardo, MS	Citologia, Cultivo e IFI	<i>L. amazonensis</i>	Souza et al. (2009)
283/Araçatuba, SP	Citologia e IFI	<i>Leishmania</i> spp.	Bresciani et al. (2010)
200/São Paulo	Citologia e ELISA	<i>L. infantum</i>	Costa et al. (2010)
1/Belo Horizonte, MG	Xenodiagnóstico, IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Da silva et al. (2010)
55/Andradina, SP	Citologia e PCR	<i>Leishmania</i> spp.	Coelho et al. (2011a)
70/Andradina, SP	ELISA	<i>Leishmania</i> spp.	Coelho et al.(2011b)
55/Araçatuba, SP	Citologia, ELISA, IFI, IHC e PCR	<i>L. infantum</i>	Vides et al. (2011)
302/Araçatuba, SP	Citologia, ELISA e IFI	<i>L. infantum</i>	Sobrinho et al. (2012)
386/Araçatuba, SP	IFI	<i>Leishmania</i> spp.	Cardia et al. (2013)
153/Pernambuco	ELISA	<i>L. infantum</i>	Silva et al. (2013)

Continuação...

Continuação...

83/Teresina, PI	ELISA, Cultivo e Citologia	<i>L. infantum</i>	Mendonça et al. (2017)
100/Campo Grande, MS	Citologia e PCR	<i>L. infantum</i>	Metzdorf et al. (2017)
1/Cuiabá, MT	Histopatológico, Cultivo e PCR	<i>L. infantum</i>	Madruga et al. (2018)
90/Araçatuba, SP	PCR	<i>L. infantum</i>	Marcondes et al. (2018)
2/Cuiabá, MT	IHC, Citologia e Histológico	<i>L. infantum</i>	Headley et al. (2019)
91/Mossoró, RN	IFI	<i>Leishmania</i> spp.	Bezerra et al. (2019)
1/Araguaína, TO	Histopatológico, Citologia e PCR	<i>L. infantum</i>	Sousa et al. (2019)
105/São Luís, MA	IFI e PCR	<i>L. infantum</i>	Rocha et al. (2019)
1/Belém, PA	Citologia, Cultivo e PCR	<i>L. amazonensis</i>	Carneiro et al. (2020)

(DAT) Teste de aglutinação direta; (ICH) Teste de imuno-histoquímica; (IFI) Teste de imunofluorescência indireta.

Poucos estudos investigaram a infecção por *Leishmania* spp. em felinos selvagens, havendo apenas dois registros em território brasileiro, ambos realizados em animais mantidos em cativeiro no zoológico da Universidade Federal do Mato Grosso. O primeiro identificou infecção por *L. infantum* em puma (*Puma concolor*), jaguar (*Panthera onca*) e o segundo em um leão (*Panthera leo*) (DAHROUG et al., 2010, 2011).

O primeiro relato de infecção autóctone por *L. infantum* no Brasil em gato foi descrito em 2004 por Savani et al. (2004), na cidade de Cotia, São Paulo. Essa área não era considerada endêmica para LCan ou LV. O animal apresentou uma lesão nodular em focinho, sendo identificadas formas amastigotas por meio da microscopia direta da amostra colhida. A espécie *L. infantum* foi confirmada pelo diagnóstico molecular a partir de amostras de tecido esplênico (SAVANI et al., 2004). Desde então, outros relatos da infecção em gatos foram descritos em diferentes regiões brasileiras (SILVA et al., 2008; COELHO et al., 2011a; HEADLEY et al., 2019; SOUSA et al., 2019).

A partir dessas descrições, estudos epidemiológicos passaram a ser desenvolvidos sobre a infecção por *L. infantum* em gatos nas diferentes regiões brasileiras. Os estudos de soroprevalência variaram de achados entre a ausência de positividade à sorologia positiva para a infecção em áreas investigadas variando de 0,5% a 30,48%. As análises de frequência de positividade em métodos moleculares identificaram 5,8% a 6%, enquanto valores

percentuais de 0,7% a 18,2% foram encontrados quando utilizadas técnicas de citologia (Quadro 3).

Quadro 3. Ocorrência da positividade para *Leishmania* spp. em felinos domésticos no Brasil, de acordo com amostragem, método de diagnóstico, espécie identificada e autor/ano da publicação

Amostragem do estudo / Local de estudo	Método de diagnóstico Sorológico/frequência	Espécie	Autor/Ano da Publicação
84/ Ceará	ELISA/ 9/84 (10,7%)	<i>L. braziliensis</i>	Simões-Mattos et al. (2001)
43/ Rio de Janeiro	ELISA/ 1/43 (2,4%) IFI/ 0/43 (0%)	<i>L. braziliensis</i>	Figueiredo et al. (2009)
283/Araçatuba, SP	IFI/ 0/283 (0%) Citologia/ 2/283 (0,7%)	<i>Leishmania</i> spp.	Bresciani et al. (2010)
200/São Paulo	ELISA/ 23/200 (11,5%) Citologia/ 8/200 (4%)	<i>L. infantum</i>	Costa et al. (2010)
52/Andradina, SP	PCR/ 3/52 (5,8%) Citologia/ 10/55 (18,2%)	<i>Leishmania</i> spp.	Coelho et al. (2011a)
70/Andradina, SP	ELISA/ 3/70 (4,2%)	<i>Leishmania</i> spp.	Coelho et al. (2011b)
113/Araçatuba, SP	ELISA/ 26/113 (23%) ELISA/ 15/113 (13,3%)	<i>Leishmania</i> spp.	Silveira-neto et al. (2011)
113/Araçatuba, SP	ELISA/ 18/113 (15,9%) ELISA/ 14/55 (25,4%) IFI/ 6/55 (10,9%) Citologia/ 10/27 (37,0%)	<i>L. infantum</i>	Vides et al. (2011)
302/Araçatuba, SP	ELISA/ 39/302 (12,91%) IFI/ 14/302 (4,64%) Citologia/ 30/302 (9,9%)	<i>L. infantum</i>	Sobrinho et al. (2012)
386/Araçatuba, SP	IFI/ 2/386 (0,5%)	<i>Leishmania</i> spp.	Cardia et al. (2013)
153/ Pernambuco	ELISA/ 6/153 (3,9%)	<i>L. infantum</i>	Silva et al. (2013)
443/ Belém, PA	IFI/ 18/443 (4,06%)	<i>Leishmania</i> spp.	Oliveira, G. et al. (2015)
83/Teresina, PI	ELISA/ 3/83 (4%) Cultivo/ 3/83 (4%) Citologia/ 3/83 (4%)	<i>L. infantum</i>	Mendonça et al. (2017)
100/Campo Grande, MS	PCR/ 6/100 (6%) Citologia/ 4/100 (4%)	<i>L. infantum</i>	Metzdorf et al. (2017)
91/Mossoró, RN	IFI/ 14/91 (15,38%)	<i>Leishmania</i> spp.	Bezerra et al. (2019)
105/São Luís, MA	IFI/ 32/105 (30,48%)	<i>L. infantum</i>	Rocha et al. (2019)

(DAT) Teste de aglutinação direta; (ICH) Teste de imuno-histoquímica; (IFI) Teste de imunofluorescência indireta.

Na revisão sistemática e meta-análise realizada por Asfaram et al., (2019) sobre a ocorrência da LFe no mundo, no Brasil a frequência sorológica e positividade por meio da PCR resultou em uma média de 8% (IC: 3,0 – 13,0) e 5% (IC: 1,0 – 11,0), respectivamente.

E, até o presente, foi descrita uma baixa prevalência da infecção por *L. infantum* em gatos em regiões brasileiras endêmicas para LCan (METZDORF et al., 2017), exceto por um estudo realizado em São Luís, no Maranhão, o qual apresentou a prevalência de 30,48% (32/105) (ROCHA et al., 2019). Apesar da prevalência reduzida em comparação a outros países europeus, o Brasil foi o país que mais reportou casos de felinos infectados por *L. infantum*.

Um estudo demonstrou a infecciosidade de um gato doméstico para flebotomíneos por meio de xenodiagnóstico e evidenciou a possibilidade do felino doméstico ser reservatório para a *L. infantum* (MAROLI et al., 2007). O relato de infecção natural em gato doméstico e a positividade no xenodiagnóstico sugerem a participação de felinos no ciclo da leishmaniose urbana (DA SILVA et al., 2010). Estudos posteriores confirmaram experimentalmente a possibilidade de infecção de vetores ao realizar o repasto em gatos (PENNISI et al., 2013).

Para confirmar que o gato é um reservatório de *Leishmania* spp. e contribuir significativamente para a circulação do parasito em áreas endêmicas, são necessárias evidências epidemiológicas robustas sobre a co-ocorrência da infecção no gato e outras espécies, por exemplo, cão e homem (DALVI et al., 2018). No Brasil, uma pesquisa sobre os fatores de risco para ocorrência de LCan levantou a hipótese de que a presença de gatos aumenta em 58% a chance da ocorrência da LCan (SILVA et al., 2012). Em outro estudo, encontrou-se uma prevalência de 2,8 vezes maior de LCan na presença de gatos (FERNANDES et al., 2016). Em contrapartida, Curi et al. (2014) observaram que a exposição a gatos estava associada a uma redução de 37% na prevalência de LCan. No que diz respeito à LV humana, somente um estudo encontrou um aumento no risco da ocorrência da infecção em pacientes humanos quando houve exposição a gatos (ALVES DA SILVA et al., 2013). Entretanto, de acordo com Dalvi et al. (2018), os estudos epidemiológicos sobre a infecção felina no Brasil até o momento não apresentaram desenhos experimentais robustos o suficiente para inferir associação ou não do gato como participante da cadeia epidemiológica de *Leishmania* spp.

2.1.3 O ciclo de transmissão de *Leishmania*

Nas Américas, *L. infantum* é transmitida pelo flebotomíneo fêmea do gênero *Lutzomyia* aos hospedeiros vertebrados, representados pelo homem, mamíferos silvestres ou domésticos, incluindo o cão (SAARI et al., 2019). A forma infectante promastigota metacíclica de *Leishmania* sp. é transmitida para o hospedeiro vertebrado durante o repasto

sanguíneo. O protozoário se transforma na forma amastigota no novo hospedeiro, no qual sobrevive e replica dentro das células fagocíticas. A continuidade do ciclo se dá através de um novo repasto sanguíneo pelo flebotomíneo em um hospedeiro vertebrado infectado pela forma amastigota da *Leishmania* sp. (PENNISI et al. 2013).

Os gatos são naturalmente infectados pelas espécies *L. infantum* (MARCONDES et al., 2018), *L. mexicana* (TRAINOR et al., 2010), *L. amazonensis* (SOUZA et al., 2005), *L. braziliensis* (ROUGERON et al., 2011) e *Leishmania venezuelensis* (BONFANTE-GARRIDO et al., 1991). *L. infantum* foi a espécie mais encontrada na maioria dos relatos de infecção em gatos tanto no Velho Mundo (NASEREDDIN et al., 2008; SHERRY et al., 2011; PRIOLO et al., 2019) como no Novo Mundo (SAVANI et al., 2004; SILVA et al., 2013; MARCONDES et al., 2018).

2.2. A fisiopatologia da leishmaniose felina causada por *L. infantum*

A compreensão sobre a fisiopatologia da LFe ainda é um desafio, mas sabe-se que na evolução natural da doença no gato, a natureza da resposta imune específica contra o parasito determina o desenvolvimento ou não de lesões observadas nos diferentes relatos clínicos (SILVA et al., 2008; COELHO et al., 2011a; DAY, 2016; HEADLEY et al., 2019). Similar ao que ocorre no cão, formas promastigotas metacíclicas inoculadas na pele do gato infectam e se replicam em vacúolos parasitóforos dos macrófagos e se disseminam para órgãos ricos nessas células pelo sistema linfático e sanguíneo (DA SILVA et al., 2010; SOBRINHO et al., 2012; MAIA et al., 2015; DAY, 2016).

No ano de 1984, foi demonstrado pela primeira vez o curso da infecção experimental por *L. infantum* em cinco gatos (KIRKPATRICK et al., 1984). Entre a 4^o e 16^o semana pós-infecção, os gatos foram sacrificados e colhidas amostras de diferentes órgãos para exame citológico e/ou cultivo. A análise das amostras dos diferentes órgãos possibilitou a identificação de *Leishmania* em impressões citológicas e/ou em meio de cultivo específico de fígado, baço e medula óssea. Em gatos naturalmente infectados, já foi confirmada a presença do parasito em lesão de pele, baço (SAVANI et al., 2004; MAIA et al., 2015), fígado e linfonodos (MAIA et al., 2015) e humor aquoso (MADRUGA et al., 2018). As alterações histológicas nesses tecidos são caracterizadas por infiltrado inflamatório comumente piogranulomatoso a granulomatoso (RUFENACHT et al., 2005; NAVARRO et al., 2010).

Na infecção natural dos gatos por *L. infantum*, o período de incubação é desconhecido. Estudos sugerem que a maioria dos gatos não desenvolve a doença por apresentar um sistema imunológico competente no controle da infecção (SOLANO-GALLEGO et al., 2007; SOARES et al., 2015; DAY, 2016). Priolo et al. (2019) demonstraram, em gatos infectados, a produção de IFN- γ *ex vivo* por células sanguíneas estimuladas com antígeno solúvel de *Leishmania*. A doença clínica manifesta - LFe - desenvolve-se quando os gatos apresentam alguma condição imunossupressora pré existente, a exemplo de infecções por retrovírus (GREVOT et al., 2005; SOBRINHO et al., 2012). Nesses casos, os gatos infectados por *L. infantum* evoluem para apresentação de sinais clínicos relacionados a lesões promovidas pela replicação do parasito em órgãos ricos em células pertencentes ao sistema fagocítico mononuclear, sobretudo, pele e linfonodos, e em raras vezes é descrito acometimento visceral (COSTA et al., 2010; VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; METZDORF et al., 2017; MENDONÇA et al., 2019).

O acometimento do tecido cutâneo e seus anexos é a alteração mais comum na LFe, embora seja variável quanto à sua extensão e caracterização (NAVARRO et al., 2010; CHATZIS et al., 2014). A dermatite granulomatosa associada a *L. infantum* pode ocorrer com parasitismo variável de formas amastigotas (NAVARRO et al., 2010; PENNISI et al., 2015). Estimou-se, pelo método imuno-histoquímico, que a carga parasitária na pele é de alta (> 50 amastigotas com marcação imunológica/campo) a moderada (10-50 amastigotas com marcação imunológica/campo) em casos de dermatite granulomatosa difusa (NAVARRO et al., 2010).

2.3 Aspectos clínicos associados à infecção por *L. infantum* em gatos

As lesões cutâneas ou mucocutâneas na LFe são caracterizadas por nódulos, ulcerações ou mais raramente dermatite esfoliativa (SAVANI et al., 2004; DA SILVA et al., 2010; NAVARRO et al., 2010; POCHOLLE et al., 2012). Estas alterações tegumentares podem ser localizadas ou generalizadas e com apresentação simétrica ou assimétrica, podendo coexistir no mesmo animal (SAVANI et al., 2004; NAVARRO et al., 2010; POCHOLLE et al., 2012). A maioria dos nódulos está localizada na cabeça, mais especificamente nas pálpebras, nariz e lábios, ou nas partes distais dos membros; nódulos também foram observados na mucosa anal (SAVANI et al., 2004; NAVARRO et al., 2010; BASSO et al., 2016; PEREIRA et al., 2019). As ulcerações estão localizadas geralmente em região da

cabeça, e podem ser caracterizadas pela forma difusa e superficial ou focal e profunda (SAVANI et al., 2004). Em alguns casos, as dermatites ulcerativas podem ser encontradas no tronco dos gatos ou em proeminências ósseas (POCHOLLE et al., 2012; BASSO et al., 2016) (Figura 1). A linfadenomegalia pode ser observada nos linfonodos superficiais de maneira isolada ou generalizada (PENNISI et al., 2004).

Figura 1. Sinais clínicos da leishmaniose felina. **A.** Alopecia, eritema e crostas na superfície externa da região da pina em orelha esquerda de gato. **B.** Úlcera profunda e crostas hemorrágicas em orelha esquerda de gato. **C.** Lesões bilaterais simétricas em base de orelha de gato com alopecia, hemorragia ativa e crostas hemorrágicas. **D.** Nódulos em pele de 2 a 10 mm, distribuídos na face externa da orelha direita que se unem em padrão de coalescência. **E.** Alopecia e eritema em área circular, de aproximadamente 1cm de diâmetro, onde formas amastigotas foram identificadas. **F.** Úlcera dérmica única medindo cerca de 20 a 50 mm de diâmetro em região de jarrete de gato



Fonte: Vides et al. (2011) e Basso et al. (2016).

Em menor frequência, a doença visceral caracteriza-se por perda de peso, desidratação, hipertemia, alopecia, hepatomegalia, presença de secreção mucopurulenta bilateral nasal e ocular, opacidade e úlcera de córnea, mucosas pálidas, alteração do estado de consciência, vômitos, diarreia, poliúria, polidipsia e hipotermia em quadros terminais (PENNISI et al., 2004; VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; PENNISI et al., 2013, PENNISI et al., 2015; SOUSA et al., 2019; LAPPIN et al., 2020), além de onicogribose (DA SILVA et al., 2010). Glândulas mamárias inflamadas contendo formas amastigotas de *L. infantum*, também foram alterações clínicas reportadas (PEREIRA et al., 2019).

Quanto aos achados em exames hematológicos na LFe, alguns estudos mostraram que anemia normocítica normocrômica, não regenerativa (PENNISI et al., 2004), hiperproteinemia e hipergamaglobulinemia são os mais comuns (PENNISI et al., 2004; PENNISI et al., 2015; URBANI et al., 2020). Em menor frequência, os gatos doentes podem apresentar linfocitose (AYLLON et al., 2008; PERILLO et al., 2013), linfopenia (SOUSA et al., 2019), leucopenia (PENNISI et al., 2004), trombocitopenia (PENNISI et al., 2004; SOUSA et al., 2019) ou aumento de níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT) e creatinina (PENNISI et al., 2004; MARCOS et al., 2009).

2.4 Diagnóstico da infecção por *L. infantum* em gatos

A suspeita clínica de LFe, à semelhança do que é feito no diagnóstico da LCan, pode ser reforçada por meio de exame sorológico (IFI – teste de imunofluorescência indireta, ELISA - *Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) e confirmada apenas por meio da identificação do parasito em exame parasitológico por citologia, cultura, histologia ou imuno-histoquímica, ou da detecção de DNA parasitário em exame molecular por meio de modalidades de PCR (PENNISI et al., 2015). Na maioria dos estudos, a PCR tem sido a ferramenta mais sensível no diagnóstico da infecção por *Leishmania* sp. em gatos (CHATZIS et al., 2014; OLIVEIRA, T. et al., 2015; BASSO et al., 2016; METZDORF et al., 2017; MADRUGA et al., 2018; MARCONDES et al., 2018).

2.4.1 Exame parasitológico direto

A técnica de citologia realizada em diferentes órgãos foi utilizada em alguns estudos mostrou ser bem sucedida na identificação parasitária na espécie felina (VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; METZDORF et al., 2017; PEREIRA et al., 2019; SOUSA et al.,

2019). A infecção por *Leishmania* sp. foi confirmada por exame citológico em amostras de medula óssea, baço (SOUSA et al., 2019), linfonodos (PENNISI et al., 2004; VIDES et al., 2011; METZDORF et al., 2017; SOUSA et al., 2019), fígado (VIDES et al., 2011; SOUSA et al., 2019), sangue (METZDORF et al., 2017; SOUSA et al., 2019), pulmão, rim, pele (SOUSA et al., 2019), exsudato nasal (MIGLIAZZO et al., 2014) e fluido de glândula mamária inflamada (PEREIRA et al., 2019). Amostras oriundas da pele, medula óssea e conjuntiva apresentaram maior celularidade quando comparadas a amostras colhidas dos linfonodos no mesmo animal (CHATZIS et al., 2014).

Alguns estudos apontaram como métodos de diagnóstico eficazes o exame histopatológico e a cultura em amostras oriundas de lesão de pele, baço, fígado e linfonodos (MAIA et al., 2015); mucosa oral (MIGLIAZZO et al., 2014) e humor aquoso (MADRUGA et al., 2018). Outros estudos demonstraram também a eficácia do método de imunohistoquímica em amostras de lesão de pele na identificação de formas amastigotas (NAVARRO et al., 2010; VIDES et al., 2011).

2.4.2 Técnicas sorológicas

Algumas técnicas sorológicas foram descritas para a identificação da positividade por meio da detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em gatos, a exemplo do método ELISA (RUFENACHT et al., 2005; NASERENDDIN et al., 2008; COELHO et al., 2011b; VIDES et al., 2011; PERSICHETTI et al., 2017), do teste de Imunofluorescência Indireta (IFI) (POLI et al., 2002; PENNISI et al., 2004; PERSICHETTI et al., 2017; IATTA et al., 2019; PEREIRA et al., 2019; ROCHA et al., 2019; SOUSA et al., 2019), da aglutinação direta (MARCOS et al., 2009) e do Western blotting (POCHOLLE et al., 2012; PERSICHETTI et al., 2017).

Os testes IFI e ELISA são os mais empregados, resultando em soropositividade média de 62,7% (32/51), e de 21,6% (11/51) a 72,5% (37/51), respectivamente (CHATZIS et al., 2014; ALVES-MARTÍN et al., 2017). Persichetti et al. (2017) compararam o desempenho das técnicas sorológicas ELISA, IFI e Western blotting para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* sp., utilizando antígenos extraídos da cultura de promastigotas de *L. infantum*, em 161 soros de gatos, 76 oriundos de região endêmica, 64 de não endêmica e 21 de gatos com LFe. Os autores concluíram que IFI mostrou-se mais sensível na detecção de infecção subclínica quando comparada ao ELISA (75% e 70%), entretanto, o ELISA mostrou-se mais

sensível na detecção dos casos clínicos de LFe quando comparado ao IFI (98% e 97%); mas o teste que apresentou a maior acurácia no experimento supracitado foi o Western blotting.

No Brasil, estudos em gatos empregando o teste imunocromatográfico *dual path platform* TR-DPP® (Biomanguinhos, Fiocruz, BR), oficialmente indicado pelo Ministério da Saúde do Brasil para o diagnóstico da infecção em cães, são escassos. Até onde alcançou a presente revisão, há apenas uma publicação sobre seu uso em felinos domésticos (51/564, 9,0%) em forma de resumo apresentado em evento científico (SILVA et al., 2018).

Como a titulação de anticorpos é variável nos gatos infectados, um resultado sorológico negativo ou com baixa reação não são suficientes para descartar a possibilidade de infecção, o que torna necessária a realização de testes de diagnósticos complementares como a citologia, PCR, cultura ou histologia com imuno-histoquímica para chegar a um diagnóstico sensível e específico (PENNISI et al., 2015).

2.4.3 Exame molecular

A detecção de DNA de *Leishmania* spp. em felinos domésticos pela técnica de PCR já foi descrita em diferentes amostras biológicas, dentre as quais (CHATZIS et al., 2014; OLIVEIRA, T. et al., 2015; BASSO et al., 2016; METZDORF et al., 2017; MADRUGA et al., 2018; MARCONDES et al., 2018; SOUSA et al., 2019; URBANI et al., 2020) incluem-se lesão de pele, aspirados de baço, fígado e linfonodos (DA SILVA et al., 2010; MAIA et al., 2015; METZDORF et al., 2017; SOUSA et al., 2019), conjuntiva (CHATZIS et al., 2014; BENASSI, 2015; OLIVEIRA, T. et al., 2015; KARAKUS et al., 2019; ROCHA et al., 2019), humor aquoso (MADRUGA et al., 2018), aspirados de medula óssea (METZDORF et al., 2017; MARCONDES et al., 2018), sangue (METZDORF et al., 2017; IATTA et al., 2019), mucosa oral (MIGLIAZZO et al., 2014) e pelo (URBANI et al., 2020).

A PCR é considerada a melhor ferramenta para confirmar a infecção por *L. infantum* em gatos (CHATZIS et al., 2014). Segundo os autores de um estudo comparativo de tecidos-alvo para colheita de amostras, o uso de mais de um tecido-avo aumenta a sensibilidade do diagnóstico da infecção no indivíduo por meio da PCR; as amostras que apresentaram diagnóstico mais sensível foram as obtidas por biópsia de pele, aspirado de medula óssea, sangue total e swab de conjuntiva, respectivamente (CHATZIS et al., 2014).

Basso et al. (2016) descreveram um relato de caso de um gato infectado por *L. infantum*, no qual avaliaram a carga parasitária em nódulos de pele, linfonodo e sangue antes

e após 30 dias, 45 dias, e 18 meses após tratamento. A carga parasitária detectada por meio da PCR foi diminuindo até não ser mais detectada em amostras de pele e sangue (BASSO et al., 2016).

2.5 Leishmaniose felina e coinfeções

Coinfeções devem ser pesquisadas para elucidar melhor o diagnóstico da LFe. Diversas doenças infecciosas coexistem com a leishmaniose zoonótica por *L. infantum* nas áreas endêmicas como as causadas por vírus da imunodeficiência felina (FIV) (PENNISI et al., 2004; SHERRY et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; MENDONÇA et al., 2017; POFFO et al., 2017; MARCONDES et al., 2018; IATTA et al., 2019), vírus da leucemia felina (FeLV) (SHERRY et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; POFFO et al., 2017; MARCONDES et al., 2018; PEREIRA et al., 2019), coronavírus felino (SPADA et al., 2016), *Toxoplasma gondii* (SHERRY et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; SOUSA et al., 2014; MARCONDES et al., 2018), *Mycoplasma* spp. (MARCONDES et al., 2018), *Bartonella* sp., e *Mycobacterium* sp.; além das infecções, outras comorbidades como metástase neoplásica, linfoma e diabetes mellitus também ocorrem (LEIVA et al., 2005; DA SILVA et al., 2010; SOBRINHO et al., 2012; MAIA et al., 2015; PENNISI et al., 2015). Há relatos de que o diagnóstico da LFe fica prejudicado em gatos previamente infectados com FIV (SOBRINHO et al., 2012).

Alguns estudos abordaram a associação de coinfeções com *L. infantum* em gatos (Quadro 4) no intuito de investigar este fator como indicador de susceptibilidade do gato ao desenvolvimento da leishmaniose. Estudos como o de Sobrinho et al. (2012) e Iatta et al. (2019) encontraram associação positiva com a coinfeção pelo FIV e infecção por *L. infantum* em 66 e 2.659 gatos, respectivamente. Em contrapartida, Poffo et al. (2017) não conseguiram provar associação entre a infecção por *L. infantum* e coinfeções pelas retrovíruses FeLV e FIV. Marcondes et al. (2018) observaram uma baixa frequência das coinfeções por FIV, FeLV e *Mycoplasma* spp., além de negatividade para *Ehrlichia* spp., *Babesia* spp. e *Anaplasma platys* em seu estudo em 50 gatos infectados por *L. infantum*.

Quadro 4. Associação da infecção por *L. infantum* e coinfeccões em felinos domésticos de acordo com amostragem, tipo de coinfeção e autor/ano da publicação

Amostragem do estudo/Local de estudo	Coinfeção	Gênero e espécie	Autor / Ano da Publicação
105/Espanha, Ibiza	FIV(-), FeLV(+), <i>T. gondii</i> (-)	<i>L. infantum</i>	Sherry et al. (2011)
66/Araçatuba, SP	FIV(+), FeLV(-), <i>T. gondii</i> (-)	<i>L. infantum</i>	Sobrinho et al. (2012)
151/Campo Grande, MS	<i>T. gondii</i> (+)	<i>L. infantum</i>	Sousa et al. (2014)
90/Itália	Coronavírus Felino(+), FIV(-), FeLV(-), <i>T. gondii</i> (-), <i>Bartonella henselae</i> (-), <i>Chlamydophila</i> (-)	<i>L. infantum</i>	Spada et al. (2016)
88/Cuiabá, MT	FIV(-), FeLV(-)	<i>L. infantum</i>	Poffo et al. (2017)
90/Araçatuba, SP	FIV(-), FeLV(-), <i>Mycoplasma</i> spp. (-)	<i>L. infantum</i>	Marcondes et al. (2018)
2.659/Itália	FIV(+), FeLV(-)	<i>L. infantum</i>	Iatta et al. (2019)

(+) presença de associação; (-) ausência de associação.

2.6 Tratamento e prevenção da LFe

Os tratamentos para combater a infecção por *Leishmania* sp. em felinos encontrados na literatura ainda não apresentam padronização e constituem relatos de casos e estudos isolados (PENNISI et al., 2018). O tratamento mais reportado na literatura consiste no uso do fármaco alopurinol (PENNISI et al., 2013). Em alguns casos, foram relatados o uso de antimoniato de meglumina (COSTA-DURÃO et al., 1994; IBBA, 2009), assim como a associação do alopurinol com o antimoniato de meglumina (BASSO et al., 2016). Apesar de bons resultados clínicos relatados, a segurança do uso terapêutico desses fármacos em felinos ainda é questionável devido às poucas informações disponíveis sobre sua farmacocinética e farmacodinâmica nessa espécie (PENNISI et al., 2015). Há ainda a possibilidade de efeitos adversos ao tratamento com esses fármacos, a exemplo da ocorrência de prurido, conforme descrito por Brianti et al. (2019).

Tratamentos de gatos a longo prazo com alopurinol (10mg/kg BID ou 20mg/kg SID) promoveram uma recuperação clínica significativa (PENNISI et al., 2004; LEIVA et al., 2005; PENNISI et al., 2013; RICHTER et al., 2014; MAIA et al., 2015; PENNISI et al., 2015; MADRUGA et al., 2018; PEREIRA et al., 2019), inclusive em casos com coinfeção por FIV (PENNISI et al., 2004) e FeLV (PENNISI et al., 2013; PEREIRA ET AL., 2019), ou com

pênfigo foliáceo associado (RUFENACHT et al., 2005). Em outro estudo, o tratamento com alopurinol não foi bem-sucedido em um caso em que o felino doméstico apresentou neoplasia concomitante à infecção por *Leishmania*, em Portugal (MAIA et al., 2015). Para comprovar a eficácia do tratamento para a LFe, é necessário realizar monitoramento com testes laboratoriais sorológicos ou parasitológicos com o intuito de identificar recidivas (PENNISI et al., 2015; BASSO et al., 2016).

Em alguns gatos, autores afirmam ser necessário associar o tratamento farmacológico à remoção cirúrgica dos nódulos e lesões em pele (RUFENACHT et al., 2005; BASSO et al., 2016). Contudo, o prognóstico da LFe ainda não está bem elucidado devido ao número limitado de estudos realizados e às diferentes abordagens utilizadas (PENNISI et al., 2015).

Ainda há pouca informação sobre métodos de prevenção de infecção em felinos. As vacinas são licenciadas apenas para cães (PENNISI et al., 2013). Atualmente, a coleira a base de imidacloprida a 10% e flumetrina a 4,5% (Seresto[®]) para prevenção da LFe (BRIANTI et al., 2017) está licenciada para o uso em gatos no Brasil. Adicionalmente, realizar teste de diagnóstico em felinos clinicamente saudáveis que serão transportados para áreas não endêmicas para leishmaniose e em pacientes doadores de sangue, poderiam ser medidas profiláticas a serem adotadas (PENNISI et al., 2015).

O médico veterinário atuante na clínica de pequenos animais possui um papel importante no controle e profilaxia da doença através da realização do diagnóstico da infecção por *Leishmania* sp. (SOUZA et al., 2009; MARCONDES e ROSSI, 2013), porém essa atividade é desencorajada por imperícia e ausência de testes diagnósticos comerciais de fácil acesso (DA SILVA et al., 2010).

É de suma importância a realização de estudos para elucidar a biologia do parasito associada à mecanismos de transmissão pelo vetor e fisiopatologia (OTRANTO, 2018). Da mesma forma, devem ser desenvolvidos estudos epidemiológicos abordando a infecção por *Leishmania* sp. para possibilitar a criação e uso de medidas estratégicas profiláticas e de controle eficientes para a população animal e humana em áreas endêmicas (TRAINOR et al., 2010; GRAMICCIA, 2011; ROUGERON et al., 2011; NEMATİ et al., 2015; PENNISI et al., 2018; IATTA et al., 2019). Devido a poucas medidas estratégicas estipuladas para a prevenção de infecção por *Leishmania* sp. em felinos domésticos, são necessárias mais pesquisas no âmbito da farmacologia para confecção de coleiras com fármacos não tóxicos e vacinas para gatos (PENNISI et al., 2015).

3. HIPÓTESE

A infecção por *Leishmania infantum* ocorre em felinos domésticos oriundos de áreas endêmicas para a LV humana e a LCan no estado da Bahia.

4. OBJETIVOS

Objetivo geral

Realizar um estudo descritivo sobre a ocorrência de infecção por *Leishmania infantum* em felinos domésticos provenientes de regiões endêmicas do estado da Bahia.

Objetivos específicos

- ✓ Investigar a presença de formas amastigotas por citologia ou pela detecção do DNA de *Leishmania* sp. em amostras obtidas por punção aspirativa de tecidos linfoides, pele e suabe conjuntival de gatos domiciliados provenientes de áreas endêmicas para infecção por *L. infantum* em cães e/ou humanos;
- ✓ Determinar a soropositividade para imunoglobulinas anti-*Leishmania* utilizando testes sorológicos padronizados e validados pelo Ministério da Saúde no Brasil para inquérito canino;
- ✓ Investigar a ocorrência de coinfeções por FeLV, FIV e/ou *Mycoplasma* sp. utilizando ensaios de diagnóstico molecular padronizados para detecção de material genético dos agentes em sangue total dos gatos estudados;
- ✓ Caracterizar as alterações observadas por anamnese, exame físico em gatos estudados, e exames hematológicos e bioquímica sérica em gatos com LFe.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Área de estudo

De julho de 2018 a dezembro de 2019, realizou-se um estudo investigativo sobre a ocorrência de infecção por *L. infantum* em gatos domésticos residentes em cinco municípios do Estado da Bahia: Muritiba e São Félix, situados na região do recôncavo baiano, Simões Filho e Camaçari, pertencentes à região metropolitana de Salvador, e Feira de Santana. Essas áreas foram selecionadas devido à sua endemicidade para LV humana (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020) e/ou canina (SOLCÀ et al., 2014). A investigação de locais com gatos infectados foi realizada em domicílios e abrigo que apresentavam histórico de cães soropositivos para anticorpos anti-*Leishmania*, ou localizados em bairros com notificações de cães com LCan.

O município de Muritiba (12° 37' 35'' latitude sul, 38° 59' 24'' longitude oeste) pertence à região do recôncavo baiano, caracterizada por uma área territorial de 86,311 km², localizada na região metropolitana de Salvador. Apresenta uma população estimada de 29.387 pessoas (IBGE, 2019), com densidade demográfica de 323,58 hab/km² (IBGE, 2019). Em 2016, o município notificou um caso de LV humana. Este município é classificado como área de transmissão esporádica para a LV humana (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020). Até o presente momento, não há estudos sobre a prevalência da LCan nesta região, entretanto, um estudo desenvolvido pelo nosso grupo de pesquisa apresentou soroprevalência de 15,7% (55/351) nesse município (dados ainda não publicados).

O município de São Félix (12° 36' 20'' latitude sul, 38° 58' 20'' longitude oeste) pertence à região do recôncavo baiano, caracterizada por uma área territorial de 103,226 km². Apresenta uma população estimada de 14.740 pessoas (IBGE, 2019), com densidade demográfica de 142,11 hab/km² (IBGE, 2019). Em 2011, o município notificou um caso de LV humana. Este município é classificado como área de transmissão esporádica para a LV humana (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020). Até o presente momento, não há estudos sobre a prevalência da LCan nesta região.

O município de Simões Filho (12° 47' 04'' latitude sul, 38° 24' 14'' longitude oeste) possui uma área territorial de 201,222 km², uma população estimada de 132.906 pessoas (IBGE, 2019), com densidade demográfica de 585,65 hab/km² (IBGE, 2019). Em 2011, foi notificado um caso de LV humana. O município de Simões Filho é classificado como área de

transmissão esporádica para LV (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020). Não foram encontrados estudos descrevendo a LCan neste município.

O Município de Camaçari (12° 41' 51'' latitude sul, 38° 19' 27'' longitude oeste) detém uma área territorial que abrange 785,335 km², uma população estimada de 293.723 pessoas, sendo o quarto município mais populoso do estado (IBGE, 2019), com densidade demográfica de 309,65 hab/km² (IBGE, 2019). Entre 2016 a 2018, foi notificado um caso de LV na área. O município de Camaçari é classificado como área de transmissão intensa para LV (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020). Estudos já relataram a LCan nesta área com incidência de 21,7% (56/258) (JULIÃO et al., 2007).

O município de Feira de Santana (12° 26' 00'' latitude sul, 39° 17' 00'' longitude oeste) está localizado a 110 km de Salvador, caracterizado por uma área territorial de 1.304,425 km². Apresenta uma população estimada de 614.872 pessoas (IBGE, 2019), com densidade demográfica de 416,03 hab/km² (IBGE, 2019). Em 2018, o município notificou 42 casos de LV humana. Este município é classificado como área de transmissão intensa para a LV humana, e é considerado o segundo município no estado da Bahia que mais notifica casos de LV (SESAB/SUVISA/DIVEP/SINAN, 2020). Até o presente momento, não há estudos publicados a respeito da prevalência LCan nesta região.

As áreas de colheita dos municípios estudados foram descritas por meio de observações das seguintes características no momento da visita; cobertura vegetal, sinais de intervenção antrópica, proximidade do gato das áreas de vegetação, contato com mamíferos e pássaros silvestres pelo gato, presença de matéria orgânica exposta próxima à residência e de lixo exposto, limpeza do quintal, características de processo de urbanização.

5.2 Animais e aspectos éticos

Cento e quatro gatos semi-domiciliados ou domiciliados (Apêndice 1), independentemente da raça e sexo, foram avaliados no presente estudo. A amostra foi estabelecida por conveniência. Os critérios de inclusão estabelecidos para o estudo foram: (1) os gatos terem seis meses ou mais de idade; (2) residirem nas áreas endêmicas para leishmaniose zoonótica; (3) a colheita das amostras biológicas ser consentida pelo responsável pelo animal. Os critérios de exclusão foram: (1) gestação; (2) os gatos terem menos de 2 kg de peso; (3) apresentarem comportamento irascível durante o manejo.

Os guardiões dos gatos assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo 1), após os devidos esclarecimentos sobre a pesquisa. O estudo foi conduzido de

acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (EMEVZ-UFBA), estando registrado sob o protocolo nº 013/2017-CEUA (Anexo 2).

5.3 Exame clínico e colheita de amostras biológicas *in vivo*

O exame clínico dos gatos foi realizado segundo Pennisi et al. (2015) e adaptado ao presente estudo. A anamnese reuniu informações acerca da idade, sexo, raça, pelagem, procedência, *status* vacinal, doenças prévias, tratamentos e medicações em uso. Ao exame físico, os sinais clínicos avaliados foram escore corporal, hidratação, coloração de mucosas, alopecia, dermatite, úlceras, crostas, presença de nódulos em pele, e ectoparasitas, aumento de linfonodos e baço (Anexo 3).

Amostras de medula óssea e de sangue periférico foram colhidas para o diagnóstico da infecção por *L. infantum* e coinfeções, respectivamente. Todos os exames laboratoriais foram realizados no Laboratório de Infectologia Veterinária do Hospital-Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia. Os procedimentos foram realizados nos gatos após adequada contenção física (manual) e uso toalhas e focinheiras para felinos, de modo a facilitar o manuseio dos mesmos durante as colheitas com segurança. Os aspirados de medula óssea foram obtidos após sedação com acepromazina (0,05mg/Kg/IM) e meperidina (3mg/Kg/IM), e anestesia local com lidocaína (3mg/kg).

O sangue periférico foi colhido por meio de punção da veia jugular ou cefálica com o auxílio de agulha de 07 x 25mm e seringa de 3mL. Um total de 3mL de amostra foi separado em alíquotas de 1mL e armazenado em microtubos livres de RNase e DNase contendo EDTA a 1 a 2mg/mL e um tubo sem aditivo, respectivamente. As amostras contendo EDTA foram destinadas para serem acondicionadas a -20°C para diagnóstico molecular de coinfeções. As amostras de sangue armazenadas em microtubos sem aditivos foram submetidas à centrifugação por 1.600 x g durante 10 minutos, para obtenção do soro para testes sorológicos.

Aproximadamente 1mL do aspirado de medula óssea da crista ilíaca foi colhido com o auxílio de agulha 40 x 12mm e seringa de 20mL com o gato posicionado em decúbito lateral esquerdo (BYERS, 2017). Uma parte do aspirado de medula óssea foi utilizada para confecção de esfregaço para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp. sob

microscopia óptica com o aumento de 1000x sob óleo de imersão. Outra parte do aspirado da medula óssea foi armazenada em um microtubo livre de RNase e DNase e acondicionadas a -20°C para posterior extração de DNA e realização da PCR para detecção do kDNA do protozoário *L. infantum*.

Nos gatos que apresentaram aumento dos linfonodos superficiais e/ou alguma lesão de pele, foi realizada colheita para análise citológica não aspirativa por agulha fina do órgão linfoide com o uso de agulha 13 x 45mm e citologia de pele com o auxílio de suabe e escova citológica estéril para a confecção de lâmina. Foram também realizadas citologia das amostras de suabe conjuntival e esfoliação por escova citológica da conjuntiva palpebral de acordo com o protocolo de Venancio et al. (2012) em ao menos um dos olhos do gato. Essas amostras foram coradas com corante tipo Romanowsky (Panótico Rápido[®], Laborclin, São Paulo) e observadas para identificação de formas amastigotas de *Leishmania* sp. por meio de microscopia óptica convencional.

O gato positivo em todos os testes diagnósticos foi avaliado em três momentos (T1, T2 e T3). A primeira avaliação (T1) para identificação da infecção. A segunda avaliação (T2) ocorreu 22 dias após T1. A terceira avaliação (T3) ocorreu 82 dias após a T2, quando a tutora relatou alterações oculares no gato. Nas duas últimas avaliações, foi determinado o perfil clínico do gato e colhidas diferentes amostras biológicas (aspirados de linfonodos poplíteos e medula óssea, suabe de conjuntiva palpebral e/ou esfoliação de conjuntiva palpebral por escova estéril) para identificação da presença do parasito.

5.4 Diagnóstico da infecção por *Leishmania* sp. em amostras de gatos

5.4.1 Método parasitológico direto

As lâminas confeccionadas com aspirado de medula óssea, linfonodo, pele e suabe conjuntival para exame citológico foram coradas com corante do tipo Romanowsky (Panótico Rápido[®], Laborclin, São Paulo), no total de três lâminas por amostra. As mesmas foram analisadas em microscópio óptico (aumento 1.000x) para pesquisa direta de formas amastigotas intracelulares de *Leishmania* sp.

5.4.2 Método sorológico

A presença de anticorpos anti-*Leishmania* nos gatos estudados foi avaliada por meio do teste imunocromatográfico *dual path platform* TR-DPP[®] (Biomanguinhos, Fiocruz, BR) que utiliza como antígeno a proteína recombinante k28 de *L. infantum*. Embora o teste tenha sido desenvolvido para diagnóstico de LCan, é possível sua aplicação em amostras biológicas de outros animais, como o gato (SILVA et al., 2018). O teste contém, ligada à fase sólida do kit, a proteína A (purificada de *Staphylococcus aureus*), que apresenta afinidade pela IgG de gatos (SNYDER et al., 1987). Para a realização do teste, utilizou-se 5 µL de soro seguindo as instruções do fabricante.

5.5 Método molecular para detecção de infecção por *L. infantum* e coinfeções

5.5.1 Extração de DNA

O DNA total de amostras de sangue ou aspirado de medula óssea dos gatos foi extraído por meio do kit comercial Wizard[®] Genomic DNA Purification Kit (Promega[®], EUA), de acordo com as recomendações do fabricante. A quantidade e qualidade do DNA foram determinadas por densidade óptica em espectrofotômetro L-quant 1.0 (Loccus[®], Brasil). As amostras de DNA com uma relação 260/280 com valores entre 1.8-2.0 foram submetidas à Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR).

5.5.2 PCR do controle endógeno

No presente estudo, foi padronizada a PCR para detecção do controle endógeno *glyceraldehyde-3-phosphate* (GAPDH) em amostras de DNA de gatos, com o objetivo de confirmar a ausência de inibidores da PCR nas amostras estudadas.

Todas as amostras de DNA extraídas do sangue total e da medula óssea dos gatos avaliados foram submetidas à amplificação do controle endógeno GAPDH por PCR. Para tanto, foram utilizados os iniciadores 5'- CCAAAGTTGTCATGGATGACC -3'(F) e 5'- CCTTCATTGACCTCAACTACAT -3'(R) (BIRKENHEUER et al., 2003). As condições padronizadas da PCR para uma reação de volume final de 20 µL foram: 2,0 µL de tampão 10x (Invitrogen[®], EUA); 2,5 mM de MgCl₂; 500 µM de dNTP (Invitrogen[®], EUA); 10 pmol dos

primers; 1.25 U de Taq *Platinum Polimerase* (Invitrogen[®], EUA); e 1 µL (80 a 100 ng) de DNA. O termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler[®]) foi ajustado nas seguintes configurações: 94°C por 2 min; 94°C por 30 seg; 61°C por 30 seg; 72°C por 30 seg; 72°C por 5 min em um total de 35 ciclos. Os produtos obtidos da amplificação foram corados com *Syber Gold* (Invitrogen[®], EUA) e visualizados em gel de agarose a 1,5%, com auxílio do fotodocumentador Biometra[®]. Foram considerados positivos aqueles produtos com aproximadamente 450 pares de bases (pb) (Apêndice 2).

5.5.3 PCR para detecção de DNA de *L. infantum*

A pesquisa de DNA de *L. infantum* nas amostras de medula óssea foi feita por PCR qualitativa cujo protocolo foi previamente padronizado para amostras caninas e empregado na rotina do Laboratório de Infectologia Veterinária do Hospital-Escola de Medicina Veterinária da UFBA. As condições da PCR foram: 13,3 µL água ultrapura livre de RNase e DNase; 2,5 µL de tampão 10x (Invitrogen[®], EUA); 1 mM de MgCl₂; 200 µM de dNTP (Invitrogen[®], EUA); 10 pmol dos *primers* 5'- CTTTTCTGGTCCCGCGGGTAGG -3'(RV1) e 5'- CCACCTGGCCTATTTTACACCA -3'(RV2) (Lachaud et al., 2002) para detecção da região alvo do DNA do cinetoplasto (kDNA) do protozoário *L. infantum*; 1.2 U de Taq *Platinum Polimerase* (Invitrogen[®], EUA); e 1 µL (80 a 100 ng) de DNA, em volume final de reação de 20 µL. O termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler[®]) foi ajustado nas seguintes configurações: 94°C por 2 min; 94°C por 30 seg; 61°C por 30 seg; 72°C por 30 seg; 72°C por 5 min em um total de 35 ciclos. O kDNA purificado de *L. infantum* de um cão naturalmente infectado foi utilizado como controle positivo e a água ultrapura livre de RNase e DNase foi utilizada como controle negativo. Os produtos obtidos da amplificação foram corados com *Syber Gold* (Invitrogen[®], EUA) e visualizados em gel de agarose a 1,5%, com auxílio do fotodocumentador Biometra[®]. Foram considerados positivos aqueles produtos com aproximadamente 145 pares de bases (pb).

5.5.4 Diagnóstico de coinfeções

Todas as amostras de DNA extraído de sangue total foram avaliadas por PCR para investigar DNA proviral dos retrovírus FIV e FeLV, como também DNA da bactéria

Mycoplasma sp. As amostras de DNA com uma relação 260/280 e valores entre 1.8-2.0 foram selecionadas para a reação.

Além da PCR, foi também feita citologia para pesquisa de inclusões típicas de *Mycoplasma* sp. por meio de exame microscópico de lâminas contendo o esfregaço de sangue periférico colhido da região da pina dos gatos, coradas com corante do tipo Romanowsky (Panótico Rápido[®], Laborclin, São Paulo).

5.5.5 PCR para FIV

Para detecção do DNA pró-viral do vírus da imunodeficiência felina (FIV) em amostras de sangue total de gatos após extração de DNA, foi utilizado como referência o protocolo de Finoketti et al. (2011) para a padronização com modificações. As condições padronizadas ideais para a reação foram: 2,5 µL de tampão 10x (Invitrogen[®], EUA); 2,5 mM de MgCl₂; 500 µM de dNTP (Invitrogen[®], EUA); 10 pmol dos *primers* 5'-CAAACAGTAAATGGAGCACC -3'(F) e 5'- GCTTAAGATGACTCATTGCC -3'(R) que amplificam uma região conservada do gene *gag* do vírus; 1.25 U de Taq *Platinum Polimerase* (Invitrogen[®], EUA); e 1,7 µL de DNA extraído, o qual resultou em um volume total de 20 µL para a reação. O termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler[®]) foi ajustado nas seguintes configurações: 94°C por 2 min; 94°C por 30 seg; 61°C por 30 seg; 72°C por 30 seg; 72°C por 5 min em um total de 35 ciclos. O DNA purificado de FIV de um gato naturalmente infectado foi utilizado como controle positivo e a água ultrapura livre de RNase e DNase foi utilizada como controle negativo (Apêndice 2). Os produtos obtidos da amplificação foram corados com *Syber Gold* (Invitrogen[®], EUA) e visualizados em gel de agarose a 1,5%, com auxílio do fotodocumentador Biometra[®]. Foram considerados positivos aqueles produtos com aproximadamente 750 pares de bases (pb).

5.5.6 PCR para FeLV

A reação em cadeia da polimerase convencional (PCR) para detecção do DNA pró-viral do vírus da leucemia viral felina (FeLV) em amostras de sangue total de gatos ocorreu após extração de DNA. Foi utilizado como referência o protocolo de Finoketti et al. (2011) para a padronização com modificações. As condições ideais padronizadas para a reação foram: 2,5 µL de tampão 10x (Invitrogen[®], EUA); 2,5 mM de MgCl₂; 500 µM de dNTP

(Invitrogen[®], EUA); 10 pmol dos *primers* 5'- ACTAACCAATCCCCACGC -3'(F) e 5'- ATGGCTGTCCCCTAGAG -3'(R) que amplificam uma região conservada do gene *gag* do vírus; 1.25 U de Taq *Platinum Polimerase* (Invitrogen[®], EUA); e 1,5 µL de DNA extraído, o qual resultou em um volume total de 20 µL para a reação. O termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler[®]) foi ajustado nas seguintes configurações: 94°C por 2 min; 94°C por 30 seg; 60°C por 30 seg; 72°C por 30 seg; 72°C por 5 min em um total de 35 ciclos. O DNA purificado de FeLV de um gato naturalmente infectado foi utilizado como controle positivo e a água ultrapura livre de RNase e DNase foi utilizada como controle negativo (Apêndice 2). Os produtos obtidos da amplificação foram corados com *Syber Gold* (Invitrogen[®], EUA) e visualizados em gel de agarose a 1,5%, com auxílio do fotodocumentador Biometra[®]. Foram considerados positivos aqueles produtos com aproximadamente 650 pares de bases (pb).

5.5.7 PCR para *Mycoplasma* sp.

Para detecção do DNA bacteriano de *Mycoplasma* sp. em amostras de sangue total de gatos após extração de DNA foi utilizado como referência o protocolo de Criado-Fornelio et al. (2003) com modificações. As condições padronizadas ideais para a reação foram: 2,5 µL de tampão 10x (Invitrogen[®], EUA); 2,5 mM de MgCl₂; 500 µM de dNTP (Invitrogen[®], EUA); 10 pmol dos *primers* 5'- ATACGGCCCATATTCCTACG -3'(F) e 5'- TGCTCCACCACTTGTTC -3'(R) os quais pareiam com o fragmento gênico 16S do RNA ribossômico da bactéria; 1.25 U de Taq *Platinum Polymerase* (Invitrogen[®], EUA); e 1,0 µL de DNA extraído, o qual resultou em um volume total de 25 µL para a reação. O termociclador (Applied Biosystems 2720 Thermal Cycler[®]) foi ajustado nas seguintes configurações: 94°C por 2 min; 94°C por 30 seg; 59°C por 30 seg; 72°C por 30 seg; 72°C por 5 min em um total de 35 ciclos. Dois eluídos de DNA purificado de *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum* de gatos naturalmente infectados foram utilizados como controles positivos e a água ultrapura livre de RNase e DNase foi utilizada como controle negativo (Apêndice 3).

Após a adição da solução *Syber Gold* (Invitrogen[®], EUA), tampão Tris Borato EDTA (TBE) e o marcador de peso molecular de 100 pares de bases (pb) aos amplicons, foi realizada a corrida em eletroforese horizontal em gel de agarose a 2,0% para a reação de *Mycoplasma* sp. O resultado amplificado da reação produziu os pares de bandas aproximadamente entre

595pb e 618pb (Tabela 1). A PCR foi combinada com digestão por endonucleases de restrição nos produtos amplificados para confirmação da espécie da bactéria. A reação da digestão realizada com *HaeIII* produziu três fragmentos, 92pb, 203pb e 301pb quando amplificado *Mycoplasma haemofelis*, e não houve clivagem de fragmentos quando amplificado *Mycoplasma haemominutum* (Apêndice 3). A fotodocumentação dos resultados foi realizada com o auxílio de um transluminador (Biometra®).

Tabela 1. Descrição dos oligonucleotídeos, sequências e genes, temperatura de anelamento, tamanho do amplicon e referência

<i>Primers</i>	Sequência 5'-3'	Gene	T°C Anelamento	Pares de bases	Referência
GAPDH-F	CCAAAGTTGTCATGGATGACC	GAPDH	61°C	450pb	Birkenheuer et al., 2003
GAPDH-R	CCTTCATTGACCTCAACTACAT				
L. INFANTUM RV1	CTTTTCTGGTCCCGCGGGTAGG	kDNA	61°C	145pb	Lachaud et al., 2002
L. INFANTUM RV2	CCACCTGGCCTATTTTACACCA				
FIV-F	CAAACAGTAAATGGAGCACC	DNA pró-viral	61°C	750pb	Finoketti, 2011
FIV-R	GCTTAAGATGACTCATTGCC				
FELV-F	ACTAACCAATCCCCACGC	DNA pró-viral	60°C	650pb	Finoketti, 2011
FELV-R	ATGGCTGTCCCACTAGAG				
<i>Mycoplasma</i> sp.- F	ATACGGCCCATATTCCTACG	16S rDNA	59°C	595pb e 618pb	Criado- Fornelio et al., 2003
<i>Mycoplasma</i> sp.- R	TGCTCCACCACTTGTTC				

5.6 Exames de patologia clínica

Os exames de patologia clínica foram realizados apenas no monitoramento do gato em que a infecção foi confirmada em exame citológico, sorológico e molecular. Aproximadamente, 0,5 mL de sangue periférico foram colhidos e armazenados em tubos contendo EDTA K3 (Labor Import®, Brasil) para exame hematológico de rotina. As amostras de sangue foram processadas utilizando-se técnica automatizada em analisador hematológico de impedância (Sysmex pochH-100iV Diff™, Kobe, Japão). Além disso, foi realizada a

contagem diferencial de leucócitos em esfregaços sanguíneos corados com corante tipo Romanowsky (Kit rápido[®], Renylab, Brasil), e analisados por meio da microscopia óptica convencional (SCHALM et al., 2010).

Para determinação da bioquímica sérica, 2mL de sangue periférico foram colhidos e armazenados em tubos plásticos sem aditivos (Labor Import[®], Brasil) para obtenção de soro. Os parâmetros séricos avaliados foram ureia, creatinina, proteínas totais e suas frações (albumina e globulina), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina. Os testes foram realizados por meio do ensaio colorimétrico utilizando o equipamento semiautomático (Bioplus - BIO 200FL[®], Brasil) e kits comerciais (Labtest[®], Lagoa Santa-MG, Brasil).

Na urinálise, primeiramente foi realizado o exame físico macroscópico da urina através da microscopia óptica em aumento de 400x. Posteriormente, foi feita a centrifugação da amostra a 400 x g por 10 minutos para a análise do sedimento urinário. A densidade da urina foi determinada por meio do refratômetro (Akso[®], Brasil) e o exame químico foi analisado por meio de tiras reagentes comerciais (Labor Import[®], Brasil) de acordo com as recomendações dos fabricantes. Além disso, foram dosadas a proteína e creatina por meio de analisador bioquímico semiautomático (Bioplus - BIO 200FL[®], Brasil), respeitando o protocolo estabelecido pelo fabricante de reagentes comerciais (Labtest[®], Lagoa Santa-MG, Brasil).

5.7 Análise dos dados

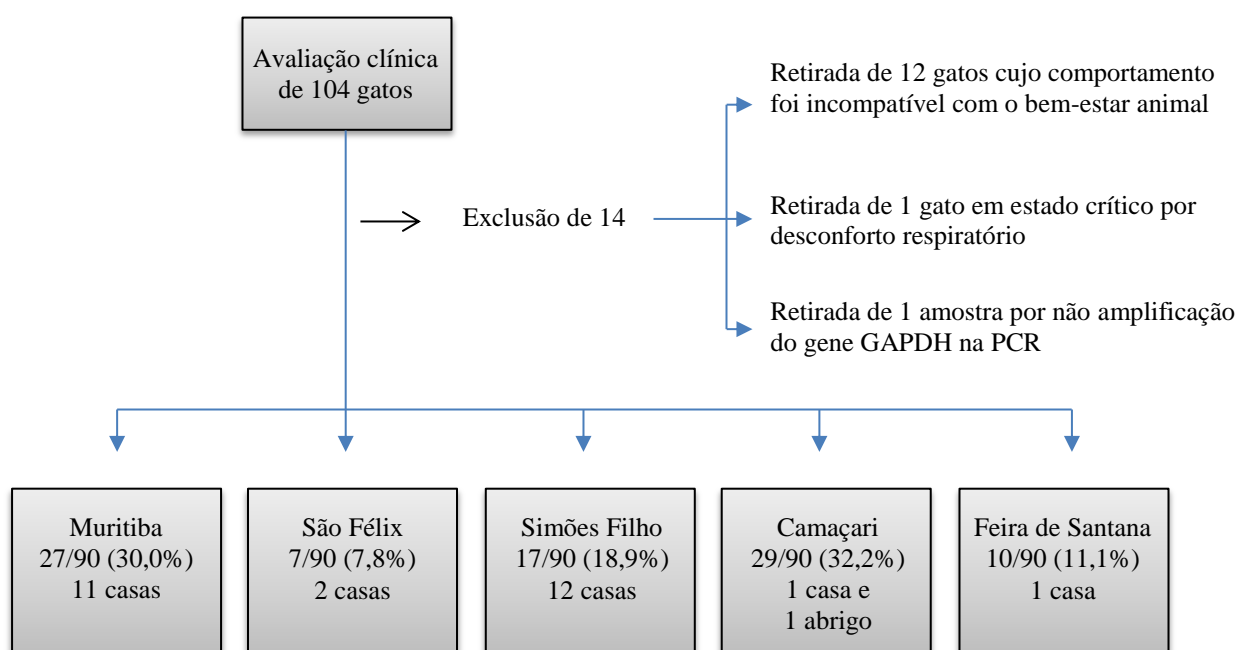
Os dados obtidos pelo estudo foram tabulados em planilhas do programa Microsoft Excel 2000 para obtenção dos cálculos de frequências, para consequente análise descritiva. O critério de positividade para LFe utilizado foi a detecção do DNA do protozoário por PCR em qualquer amostra biológica avaliada. Mapas foram construídos no programa QGIS v3.8 para visualização das áreas de estudo e dos casos de LFe detectados.

6. RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Caracterização dos gatos incluídos no estudo

Do total de 104 gatos abordados inicialmente neste estudo, 13,5% (14/104) foram excluídos. Destes, 12 apresentaram comportamento irascível mesmo após administração de fármacos tranquilizantes, motivo que impossibilitou a colheita das amostras biológicas, além da incompatibilidade com o bem-estar animal. Um gato se apresentou extremamente apático no momento do exame clínico, com alterações clínicas compatíveis com o desenvolvimento do complexo respiratório felino, o que indicou o seu retorno para o internamento de origem. Um gato foi excluído do estudo porque a qualidade da amostra colhida para a realização do diagnóstico por PCR não estava adequada. Desta forma, foram incluídos no estudo 90 gatos. A **Figura 2** ilustra a distribuição dos gatos incluídos no estudo nos cinco municípios avaliados. As visitas foram realizadas em 29 casas (N=87) e 1 abrigo (N=17) de cães e gatos (Apêndice 1)

Figura 2. Fluxograma da proporção de gatos estudados por município em relação ao total de gatos examinados e número de casas e abrigo visitados para pesquisa de infecção por *Leishmania infantum* em municípios baianos



A média de gatos por domicílio foi de 2,5 animais por casa. No abrigo em Camaçari foram avaliados 17 gatos.

As características gerais da população felina estudada estão descritas na **Tabela 2**. Dentre os felinos avaliados, a maioria 77,8% (70/90) eram domiciliados, 52% (47/90) machos, 91,1% (82/90) apresentavam entre 1 e 14 anos e 96,7% (87/90) sem raça definida (SRD). Apenas dois gatos da raça Persa 2,2% (2/90) e da raça Siamês 1,1% (1/90) foram examinados.

Na amostra avaliada neste estudo não houve diferença entre a proporção de machos e fêmeas, e houve uma baixa ocorrência de animais com raça definida, fato já descrito em alguns trabalhos (SHERRY et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; METZDORF et al., 2017).

Tabela 2. Frequências das características gerais da amostra de gatos estudada quanto ao sexo, raça, idade e forma de criação nos diferentes municípios do estado da Bahia

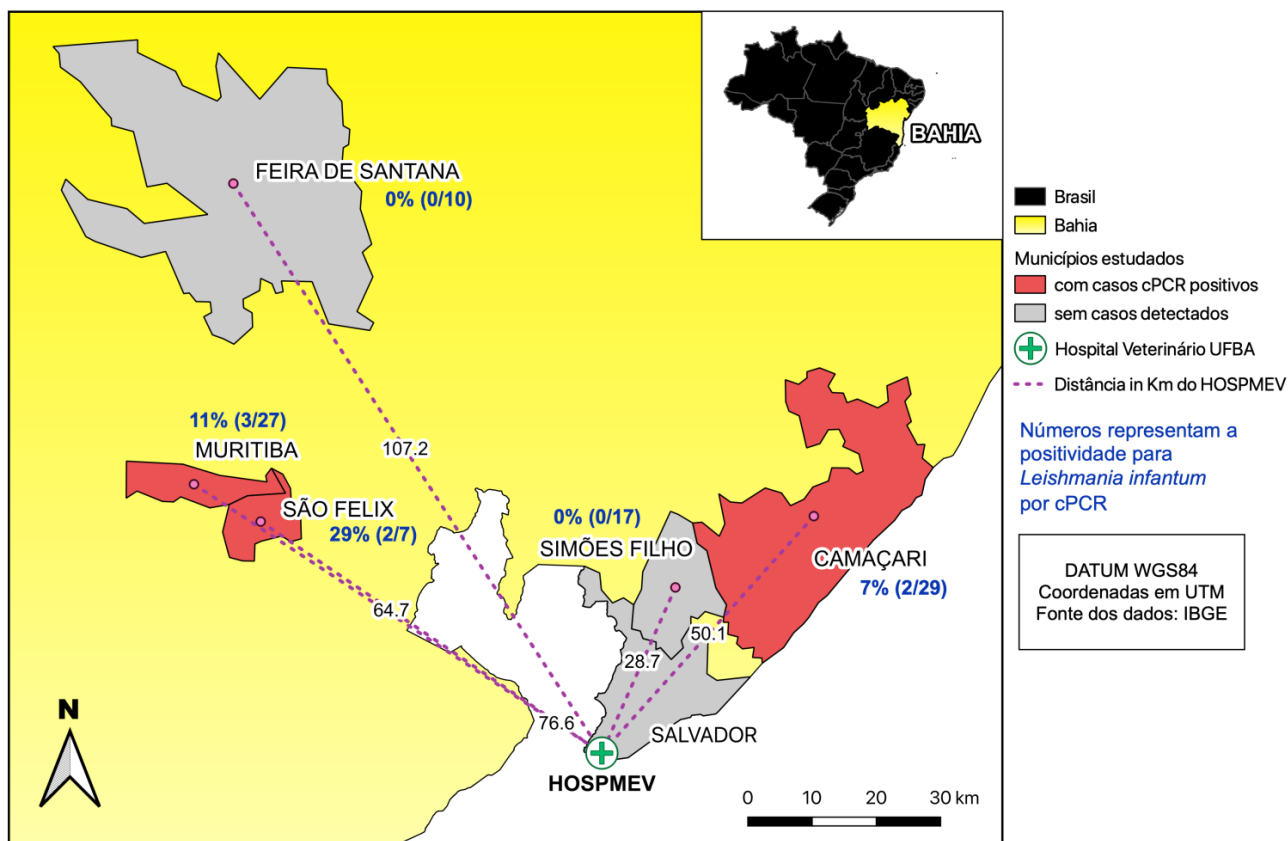
Variáveis	Municípios					Total
	Muritiba	São Félix	Simões Filho	Camaçari	Feira de Santana	
Idade						
6 a 11 meses	22,2% (6/27)	14,3% (1/7)	5,9% (1/17)	0% (0/29)	0% (0/10)	8,9% (8/90)
1 a 14 anos	77,8% (21/27)	85,7% (6/7)	94,1% (16/17)	100% (29/29)	100% (10/10)	91,1% (82/90)
Domiciliação						
Domiciliado	88,9% (24/27)	100% (7/7)	29,4% (5/17)	82,8% (24/29)	100% (10/10)	77,8% (70/90)
Semidomiciliado	11,1% (3/27)	0% (0/7)	70,6% (12/17)	17,2% (5/29)	0% (0/10)	22,2% (20/90)
Abrigo	0% (0/27)	0% (0/7)	0% (0/17)	48,2% (14/29)	0% (0/10)	15,5% (14/90)
Presença de cães com LCan em casa e/ou bairro	100% (27/27)	100% (7/7)	100% (17/17)	100% (29/29)	100% (10/10)	100% (90/90)
Sexo						
Macho	63% (17/27)	42,9% (3/7)	47,1% (8/17)	44,8% (13/29)	60% (6/10)	52,2% (47/90)
Fêmea	37% (10/27)	57,1% (4/7)	52,9% (9/17)	55,2% (16/29)	40% (4/10)	47,8% (43/90)
Raça						
S.R.D.	96,3% (26/27)	100% (7/7)	100% (17/17)	100% (29/29)	80% (8/10)	96,7% (87/90)
Persa	3,7% (1/27)	0% (0/7)	0% (0/17)	0% (0/29)	10% (1/10)	2,2% (2/90)
Siamês	0% (0/27)	0% (0/7)	0% (0/17)	0% (0/29)	10% (1/10)	1,1% (1/90)
Total	27	7	17	29	10	100% (90/90)

Os municípios estudados apresentaram características de áreas de cobertura vegetal (ABRANTES et al., 2018) com sinais de intervenção antrópica, proximidade dos animais domésticos com áreas contendo vegetação, contato dos animais domésticos com mamíferos e pássaros silvestres, presença de matéria orgânica exposta próxima à residência e de lixo exposto, condizente com o padrão rural de transmissão da leishmaniose (LOPES et al., 2010). Rocha et al. (2019) confirmaram a associação da ausência de limpeza do quintal e ausência de coleta de lixo apropriada como fatores de risco para a infecção por *L. infantum* em gatos em um estudo realizado no Maranhão. Havia casas residenciais e comerciais entre um a dois andares, com poucas características de áreas urbanizadas, as quais são definidas pelo sensoriamento remoto por elevada densidade de estruturas com coloração cinza.

6.2 Ocorrência de infecção por *Leishmania* sp. e *L. infantum* nos gatos

Das 90 amostras de medula óssea de gatos analisadas pela PCR, 7,8% (7/90) foram positivas para detecção do material genético de *L. infantum*. Além disso, foram detectadas amostras positivas em 60% (3/5) dos municípios avaliados (Figura 3).

Figura 3. Mapa representando os municípios estudados, a detecção de casos de leishmaniose felina (LFe) por PCR e a distância do Hospital Veterinário da UFBA (HOSPMEV). Em vermelho estão representados os municípios com detecção de casos de LFe por PCR, em cinza, os municípios sem detecção de casos, e em amarelo, o território do Estado da Bahia. A linha tracejada rosa representa a distância em km do HOSPMEV.



Fonte: Os autores, 2020.

No Brasil, a ocorrência encontrada da LFe é em torno de 0,5% a 30,48% em testes sorológicos, parasitológicos e/ou moleculares (SIMÕES-MATTOS, et al., 2001; FIGUEIREDO et al., 2009; BRESCIANI et al., 2010; COSTA et al., 2010; COELHO et al., 2011a, 2011b; SILVEIRA-NETO et al., 2011; VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; CARDIA et al., 2013; SILVA et al., 2013; OLIVEIRA G. et al., 2015; MENDONÇA et al., 2017; METZDORF et al., 2017; BEZERRA et al., 2019; ROCHA et al., 2019). Dentre esses estudos, poucos foram realizados nas regiões do Nordeste, apesar de concentrarem o maior número de casos de leishmaniose humana e canina, a exemplo da Bahia (GONÇALVES et al., 2014; SOLCÀ et al., 2014; OPAS/OMS, 2019).

A frequência de gatos infectados encontrada (7,8%) no presente estudo foi semelhante ao descrito em outras pesquisas em outros estados (COELHO et al., 2011a; METZDORF et

al., 2017). Em Andradina (SP), um estudo avaliou LFe em gatos do centro de controle de zoonoses encontrando 3,8% (2/52) de infecção empregando como técnica diagnóstica a PCR de amostras de baço ou linfonodo (COELHO et al., 2011a). Em Campo Grande (MS), a frequência observada foi de 6% (6/100) em felinos oriundos de clínicas veterinárias e centro de controle de zoonoses (METZDORF et al., 2017). No estudo supracitado em Campo Grande, os autores consideraram 6% de positividade como alta, sugerindo o gato como um reservatório secundário nessa área, embora nesta região LCan alcançou uma prevalência de 20% nos últimos anos.

Em contrapartida, Marcondes et. al (2018) encontraram uma ocorrência de 58% (29/50) de positividade para *L. infantum*, em amostras de medula óssea por PCR, empregando uma amostragem de conveniência, de gatos do Hospital-Escola de Veterinária de Araçatuba e gatos de abrigo, oriundos de uma área com 8,1% de soroprevalência de LCan em Araçatuba, São Paulo (COSTA et al., 2018).

Em outras cidades do mundo, os autores reportaram taxas de infecção confirmadas por técnicas moleculares variadas, a exemplo de 8,7% (9/104) na Espanha em gatos de abrigo por PCR de amostras de sangue (SHERRY et al., 2011), e 1,3% (1/79) em amostras de sangue total de gatos atendidos em hospital veterinário em Doha, Catar (LIMA et al., 2019).

Estudos futuros mais abrangentes, com amostragens representativas da população felina são necessários para poder correlacionar a prevalência da LFe nas áreas de transmissão intensa de leishmaniose humana ou canina, pois a evolução da infecção no gato, muitas vezes é subclínica e com baixa carga parasitária (CHATZIS et al., 2014; BASSO et al., 2016; PENNISI et al., 2018).

A amostragem empregada no presente estudo não permite estimar a prevalência acurada da infecção na população felina dos municípios avaliados, nem no Estado da Bahia. Contudo, o achado de DNA de *L. infantum* na PCR nas amostras de medula óssea dos gatos do presente estudo (Apêndice 4) comprova a circulação do parasita nos municípios de Muritiba (11,1%; 3/27), São Félix (2,8%; 2/7) e Camaçari (6,9%; 2/29) constatando cientificamente sua ocorrência em gatos no estado da Bahia pela primeira vez.

Desta forma, os achados apontam para necessidade de mais investigações para elucidar o papel epidemiológico do felino doméstico no ciclo e possível manutenção da LV, principalmente nos municípios de Muritiba, São Félix e Camaçari, além de esclarecer os fatores de risco associados à transmissão e desenvolvimento da LFe. A detecção da infecção em gatos é de suma importância para a melhor capacitação do médico veterinário no

diagnóstico, tratamento e prevenção da enfermidade nas regiões estudadas. Portanto, apesar de não comprovar a ocorrência da infecção por *L. infantum* em gatos oriundos do município de Feira de Santana, sugere-se a investigação em mais residências nesta localidade devido a sua alta endemicidade para LV.

Para a pesquisa de infecção por *L. infantum* em gatos no presente estudo, a PCR foi empregada devido à alta sensibilidade do teste e por permitir a confirmação da espécie do parasito (SARIDOMICHELAKIS et al., 2005; FRANCINO et al., 2006). A escolha da medula óssea como tecido-alvo para realização da PCR, deveu-se tanto a razões técnicas, por ser um órgão conhecidamente parasitado em cães (MOMO et al., 2014; OIKONOMIDIS et al., 2019) como em humanos (NORONHA E FOCK, 2019; AHUJA et al., 2020) e por possibilitar a obtenção de amostras em volume que permitisse a realização de pelo menos dois tipos de testes, o parasitológico por citologia e a PCR, com margem para possíveis repetições. Ademais, a colheita de medula óssea assegura o bem-estar aos gatos examinados, sendo uma amostra de colheita mais segura quando comparada, por exemplo, ao baço. Especialmente quando as amostras são colhidas fora das instalações hospitalares veterinárias. Outros autores, em estudo retrospectivo de gatos atendidos em hospital veterinário, reforçam que a medula óssea permitiu um resultado mais acurado na comparação com outras amostras para o diagnóstico de infecção por *L. infantum* por PCR (MARCONDES et al, 2018).

No presente estudo, a pesquisa de infecção por *Leishmania* sp. nos 90 gatos também foi realizada por citologia em três lâminas confeccionadas com amostras de aspirado de medula óssea por gato avaliado. O método resultou na detecção de formas parasitárias amastigotas por meio da microscopia óptica em apenas um gato dentre os 90 avaliados (1/90, 1,1%), sendo este animal também um dentre os sete gatos positivos à técnica PCR. O resultado positivo à PCR neste gato confirma também que a espécie de *Leishmania* envolvida na infecção foi *L. infantum* (Tabela 3).

Tabela 3. Amostras de linfonodo, pele, medula óssea e suabe conjuntival de gatos oriundos dos municípios de Muritiba, São Félix, Simões Filho e Camaçari e Feira de Santana, analisadas por citologia por microscopia óptica para pesquisa de formas parasitárias de *Leishmania* spp.

Tipo de Amostras	Citologia	PCR
	Porcentagem de positividade/número de gatos positivos e amostragem	Porcentagem de positividade/número de gatos positivos e amostragem
Linfonodo	0% (0/8)	-
Pele	0% (0/37)	-
Medula óssea	1,1% (1/90)	7,8% (7/90)
Suabe conjuntival	0% (0/34)	-

Em cães, que são suscetíveis à infecção por *L. infantum*, já está bem estabelecido que o exame citológico direto de órgãos linfoides tem uma sensibilidade baixa, variando entre 40 a 60%, e depende principalmente da carga parasitária e da experiência do profissional que realiza a técnica (LAURICELLA et al., 2016; SRIVIDYA et al., 2012). Dessa forma, podemos tecer algumas considerações sobre o achado de baixa detecção de amastigotas no exame citológico da população de gatos avaliada no presente estudo. Neste trabalho, os gatos foram avaliados nas próprias residências, diferentemente dos estudos realizados em hospitais veterinários, onde os guardiões buscam atendimento para seus animais de estimação ao perceberem sinais de doença. Aqui, os gatos poderiam apresentar baixos índices de parasitismo, terem debelado a infecção, ou a distribuição parasitária estar compartimentalizada em diferentes sítios da medula óssea ou em outros órgãos de predileção do protozoário. Conforme mostrado por diferentes estudos, o gato parece ser resistente à infecção por *L. infantum*, o que implica naturalmente um baixo parasitismo nos tecidos alvo de replicação parasitária, dificultando o diagnóstico pelo exame citológico em amostras de tecidos (CHATZIS et al., 2014).

O único gato com citologia positiva no presente trabalho foi também o único a desenvolver a leishmaniose felina (LFe) e infecção ativa, caracterizada por positividade na PCR e por microscopia direta. Os sinais se tornaram detectáveis em avaliações posteriores ao dia do primeiro exame físico (T1) e colheita da amostra de medula óssea. De fato, nesse primeiro momento (T1), o animal apresentava-se clinicamente hígido. Entretanto, aos 22 dias

após a primeira colheita (T2), o gato apresentou sinais clínicos que motivaram a realização de testes hematológicos e sumário de urina, além de nova avaliação citológica que resultou no achado de amastigotas tanto em medula óssea, quanto em secreção conjuntival obtida por meio de suabe. Aos 82 dias após o segundo exame (T3), o gato apresentou citologia positiva em aspirado de linfonodo e suabe de conjuntiva palpebral, além da citologia esfoliativa por escova estéril.

A identificação de formas amastigotas de *Leishmania* spp. no exame citológico pode indicar uma infecção ativa no gato. No caso presente, ao considerarmos a evolução clínica do animal monitorado, o achado pode também sugerir uma possível evolução da fisiopatologia da LFe, através da indicação dos órgãos onde amastigotas foram encontradas durante o curso clínico da doença. Devido à alta sensibilidade da PCR e resistência da espécie felina à *Leishmania* sp., já levantada por outros autores (CHATZIS et al., 2014; PENNISI et al., 2018), alguns resultados positivos à PCR qualitativa podem indicar apenas infecção ocasional ou em vias de controle pelo organismo do hospedeiro, não necessariamente uma infecção ativa ou infecciosidade ao flebotomíneo. Estudos que avaliem a carga parasitária por meio do emprego da PCR quantitativa podem auxiliar na melhor compreensão da evolução da infecção em gatos de área endêmica. Na LCan, já foi demonstrado que há uma relação positiva entre carga parasitária, doença clínica e infecciosidade ao vetor (SOUZA et al., 2011; BORJA et al., 2016).

No presente estudo, além da medula óssea, aspirados de linfonodo de oito gatos que apresentavam linfadenomegalia ao exame físico foram também examinados por meio de citologia para pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp. Dentre esses oito gatos com linfonodos aumentados, um gato era positivo para infecção por *L. infantum* por meio da PCR em amostras de medula óssea, porém nem na amostra de aspirado de linfonodo deste gato PCR-positivo, e em nenhuma das demais sete amostras foram visibilizadas formas amastigotas do protozoário.

Nossos resultados diferem dos achados de Costa et al. (2010), que encontraram maior frequência de positividade ao exame citológico dos linfonodos poplíteos (7/8) de oito gatos positivos para infecção por *L. infantum* em comparação a outros aspirados de órgãos linfoides, medula óssea (3/8), baço (2/8) e fígado (1/8). Esses autores propuseram que os linfonodos poderiam consistir em um órgão alvo para diagnóstico mais sensível dentre os avaliados por citologia (COSTA et al. 2010). Contudo, a população avaliada pertencia a um centro de zoonoses, onde apenas 4% (8/200) dos exames citológicos apresentaram positividade e podem

estar relacionadas ao curso da doença e compartimentação da *L. infantum* no órgão punccionado.

No presente trabalho, também foram examinadas por citologia amostras de lesões de pele diversas como raspados de áreas alopecicas, úlceras, crostas, escoriações e dermatose furfurácea de 37 gatos, não tendo sido observadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. Foram ainda examinadas 34 amostras de suabe conjuntival de gatos com e sem presença de alterações oftálmicas, por exame citológico. Nossos resultados de exames citológicos foram similares aos encontrados por Chatzis et al. (2014), que também não encontraram positividade em amostras de tecidos cutâneos e suabe conjuntival em 100 gatos avaliados para infecção por *L. infantum* (41/100; 41%).

Em resumo, dos sete gatos positivos para infecção por *L. infantum* pela PCR neste estudo, dois foram submetidos à citologia de pele e três gatos tiveram amostras colhidas por suabe conjuntival, para exames citológicos por microscopia direta; todas as amostras resultaram em negativo. Um gato positivo à PCR neste estudo foi submetido à colheita de linfonodo poplíteo, o qual foi negativo para detecção de formas amastigotas do protozoário. Possivelmente, esses gatos estavam no início da infecção ou em fase tardia caracterizada por uma infecção controlada não ativa e, portanto, o protozoário não atingiu os demais órgãos comumente encontrados em gatos com LFe. Um único gato foi positivo ao exame parasitológico direto por citologia de medula óssea e este foi o único a desenvolver doença ativa, que começou a manifestar-se em três semanas após o primeiro exame. A doença clínica desse gato pode ter sido associada à mudança de domicílio do animal logo após o diagnóstico. Estresse ambiental é considerado um dos fatores mais importantes no desencadeamento de doenças felinas, e associado a imunossupressão (WESTROPP et al., 2006; STELLA et al., 2013).

6.3 Detecção de anticorpos anti-*Leishmania* por meio de teste imunocromatográfico

Dos 90 gatos testados pelo TR-DPP[®], cinco (5,6%; 5/90) foram positivos para detecção de anticorpos anti-*Leishmania*. A escolha desse teste foi devido aos seguintes critérios: (1) aplicabilidade em amostras biológicas de gatos; (2) teste recomendado pelo Ministério da Saúde para triagem dos cães com LCan; (3) teste de fácil execução a campo; (4) limitação de recursos para adquirir outros testes.

O diagnóstico sorológico da LFe é difícil, pois os gatos, mesmo doentes, apresentam a titulação bastante variável de anticorpos anti-*Leishmania* que pode ser baixa, mediana ou alta (PENNISI et al., 2015). Por exemplo, Iatta et al. (2019) encontraram soropositividade em gatos com títulos variando entre 1:160 a 1:5120. Outros autores relataram gatos com altos títulos de anticorpos (IFI 1: 160), uma proporção baixa de positividade na PCR em amostras de sangue, mas em gatos com baixos títulos de anticorpos (IFI: 20), uma alta proporção de positivos (31,6%) à PCR em amostras de sangue (MARTÍN-SANCHEZ et al., 2007). Não há concordância na relação entre a infecção em gatos e produção de anticorpos relatados pela literatura, sugerindo que a soropositividade acontece apenas na fase tardia pós-infecção (SIMÕES-MATTOS et al., 2005; CAN et al., 2016).

Dos sete gatos positivos na PCR do presente estudo apenas um apresentou positividade no teste TR-DPP[®], perfazendo 14,3% (1/7) de soropositividade confirmada para *L. infantum*. Em diferentes regiões brasileiras, estudos mostram que a sensibilidade e especificidade do TR-DPP[®] são, em média, de 90,6% e 95,1%, respectivamente, para diagnóstico da LCan (LAURENTI et al., 2014). No Brasil, até o presente momento, foi encontrado apenas um estudo em forma de resumo em evento científico com o uso do teste TR-DPP[®] para detecção de imunoglobulinas anti-*Leishmania* em gatos (51/564; 9%) comparado ao ELISA (68/564; 12%) (SILVA et al., 2018). Em um estudo envolvendo 198 gatos no Irã, verificou-se a detecção de imunoglobulinas anti-*Leishmania* (18/195; 9,23%) por meio de teste rápido imunocromatográfico contendo antígeno rk39 (MOSALLANEJAD et al., 2013).

Os testes sorológicos IFI e ELISA são rotineiramente empregados para diagnóstico da LCan (GRIMALDI et al., 2012), assim como na LFe, são os mais utilizados no contexto epidemiológico ou médico veterinário (PENNISI et al., 2015; SOARES et al., 2015). Um exemplo de estudo que atesta a aplicabilidade dessas técnicas sorológicas para investigar a infecção por *Leishmania* sp. em felinos domésticos foi realizado em 276 gatos oriundos de Bauru-SP, área endêmica para LCan, e revelou uma soropositividade de 29,71% (82/276) e 6,15% (17/276) no ELISA e IFI, respectivamente (CAMPRIGHER et al., 2019).

No presente estudo, hipotetizamos que os quatro gatos soropositivos pelo TR-DPP[®] podem ter tido contato com o parasito e até mesmo terem sido infectados, porém seu sistema imune pode ter debelado a infecção, e os títulos de anticorpos anti-*Leishmania* permaneceram detectáveis por um período pós-infecção, que incluiu o momento em que as amostras de sangue foram colhidas. Fenômenos semelhantes foram descritos na literatura (BASSO et al.,

2016; IATTA et al.,2019). No entanto, ainda pode-se considerar a possibilidade de reação cruzada por outros agentes infecciosos, como alguns hemoparasitos que acometem felinos, como já foi reportado em cães (LUCIANO et al., 2009; SOLANO-GALLEGGO et al., 2014).

6.4 Ocorrência de infecções por FeLV, FIV, *Mycoplasma* sp. e coinfeções por *Leishmania infantum*

Com o objetivo de estabelecer a possível ocorrência e associação de comorbidades comuns em felinos domésticos com a infecção por *L. infantum*, testamos amostras de sangue total dos 90 gatos que haviam sido previamente examinados para infecção por *Leishmania* sp. para detecção de material genético de FIV, FeLV e *Mycoplasma* sp. Do total de amostras sanguíneas, duas (2/90; 2,22%) foram positivas na pesquisa de DNA de FIV (Apêndice 5), quatro (4/90; 4,44%) foram positivas para FeLV (Apêndice 5). Quinze dessas amostras (15/90; 16,7%) foram positivas para infecção por *Mycoplasma* sp., dentre essas, três amostras (3/15; 20,0%) foram *Mycoplasma haemofelis* e catorze (14/15; 93,3%) foram *Mycoplasma haemominutum*. Desses gatos, dois (2/15; 13,3%) estavam coinfectados por *M. haemofelis* e *M. haemominutum* (Apêndice 6). Em um gato (1/90; 1,11%) houve positividade para os três agentes infecciosos FIV, FeLV e *Mycoplasma haemominutum*. Apenas a avaliação das amostras de um gato (1/90; 1,11%) mostrou que o animal estava coinfectado por *L. infantum* e FeLV conforme mostra o **Quadro 5**.

Quadro 5. Diagnóstico de infecção por *Leishmania infantum* e coinfeções por retrovírus e *Mycoplasma* sp. por meio da detecção de DNA por PCR e TR-DPP® em amostras de sangue total (ST) e medula óssea (MO) de gatos oriundos de municípios do estado da Bahia

Gato	Procedência	TR-DPP® Soro	PCR <i>L. infantum</i> (MO)	PCR FIV (ST)	PCR FeLV (ST)	PCR <i>Mycoplasma</i> sp. (ST)
1	Muritiba	-	+	-	-	-
2	Muritiba	-	+	-	-	-
3	Muritiba	-	+	-	+	-
4	Camaçari	-	+	-	-	-
5	Camaçari	-	+	-	-	-
6	São Félix	+	+	-	-	-
7	São Félix	-	+	-	-	-
8	Muritiba	+	-	-	-	-
9	Camaçari	+	-	-	-	-
10	São Félix	+	-	-	-	-
11	São Félix	+	-	-	-	-

Medula óssea (MO). Sangue total (ST).

O presente achado de coinfeção *L. infantum* / FeLV parece ser raro e muito pouco sobre essa comorbidade é encontrado na literatura. Em seu estudo com 105 gatos residentes em dois abrigos para gatos na Espanha, Sherry et al. (2011) relataram a associação entre *L. infantum* e FeLV, assim como tripla infecção envolvendo *L. infantum*, FIV e FeLV. Entretanto, não houve detecção das infecções por *L. infantum* e FIV no nosso estudo. Talvez o estudo de Sherry et al. (2011) esteja superestimando a associação, já que a transmissão dessas retrovírus são por contato íntimo, muito presente em abrigos. Esta característica difere da população selecionada no nosso estudo por estarem distribuídos em 29 domicílios, diminuindo a probabilidade de associação à uma doença existente em um estabelecimento específico.

Diferentemente dos nossos achados, o estudo de Sobrinho et al (2012), que analisou 66 gatos infectados por *L. infantum* de um total de 302 gatos avaliados oriundos de um centro de zoonoses e dois abrigos em Araçatuba, em São Paulo, indentificou a coinfeção *L. infantum*/FIV, mas não encontrou coinfeção com FeLV. Contudo, a população selecionada no estudo supracitado pode superestimar a associação por ser um estabelecimento onde a superpopulação está presente, facilitando a transmissão das retrovírus. Outro estudo realizado no Brasil, com 50 gatos atendidos em um hospital veterinário e oriundo de abrigos positivos para infecção por *L. infantum*, verificou uma baixa prevalência de coinfeções, inclusive o único animal coinfectado por FeLV também estava infectado por *Mycoplasma* spp. (MARCONDES et al., 2018). Interessante ressaltar que os gatos acima citados

representam um grupo, que em sua maioria, os guardiões procuraram o serviço médico veterinário por alguma razão, o que poderia torná-los mais susceptíveis à comorbidades.

6.5 Caracterização clínica dos gatos do estudo

Os sete gatos comprovadamente infectados por *L. infantum* no presente estudo, por meio de detecção do DNA do parasito pela PCR, apresentaram, no momento da colheita de amostras biológicas, quadro clínico que variou de alterações leves ou ausência de sinais clínicos. Quatro desses sete gatos apresentaram alterações clínicas e estão descritos no **Quadro 6**.

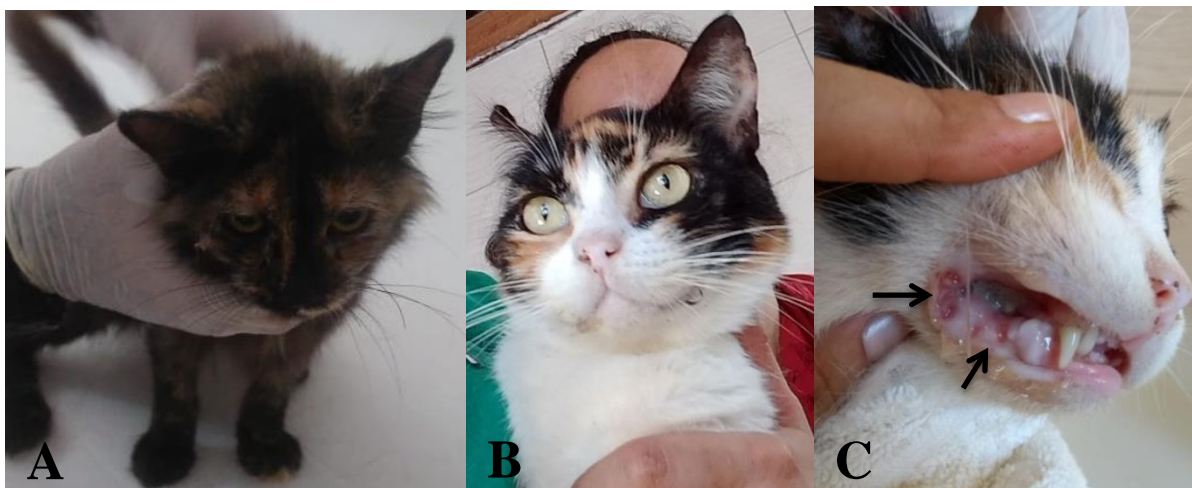
Quadro 6. Sinais clínicos dos sete gatos positivos para *L. infantum* com base nos métodos diagnósticos e amostras clínicas avaliadas, e perfil clínico do gato 6 em T1, T2 e T3

Gatos	Sinais clínicos	Exame hematológico	Urinálise	Coinfecções	Amostras (Diagnóstico)	TR-DPP®
1	SA	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito -)	-
2	SA	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito -)	-
3	Emagrecimento, desidratação, crostas em ponta de orelha, áreas de alopecia circulares em região cervical ventral	NR	NR	S (FeLV)	Medula óssea (PCR+; Cito -)	-
4	Emagrecimento, desidratação, linfadenomegalia, espirros	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito -) Linfonodo D e E (Cito-)	-
5	Complexo gengivite-estomatite	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito -)	-
6 (T1)	Desidratação leve	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito +) Suabe de conjuntiva (Cito -)	+
6 (T2)	Desidratação leve, linfonodo poplíteo levemente aumentado, lesão ulcerada em região caudal do MPE	Hiperproteinemia, linfócitos reativos, (↑) GGT	SA	N	Medula óssea (PCR+; Cito +) Suabe de conjuntiva (Cito -) Citologia de pele (Cito -)	+
6 (T3)	Hiperemia e edema de conjuntiva, protusão da membrana nictante, linfadenomegalia de linfonodos poplíteos e mandibulares bilaterais, afta em região do canino superior	Hiperproteinemia, linfocitose, hiperglobulinemia, FA (↑)	NR	N	Linfonodo D e E (Cito +) Suabe de conjuntiva (Cito +) Esfoliação de conjuntiva por escova estéril (Cito +)	-
7	SA	NR	NR	N	Medula óssea (PCR+; Cito -) Suabe de conjuntiva (Cito -)	-

Sem alterações (SA). Não realizado (NR). (M). GGT (Gama Glutamil Transferase). FA (Fosfatase Alcalina). S (Sim). N (Não). Cito (Citologia). D (Direito). E (Esquerdo). MPE (Membro posterior esquerdo).

Na avaliação física do gato 3, oriundo do município de Muritiba, foi observado emagrecimento, desidratação, lesões crostosas em pontas de orelha, e áreas de alopecia em região cervical ventral, em formato circular medindo cerca de 0,7cm, com um total de quatro lesões. Este felino também foi o único coinfestado com FeLV. O gato 4 (Figura 4-A) pertencente ao abrigo localizado em Vilas de Abrantes-Camaçari, apresentou emagrecimento, desidratação, aumento de ambos linfonodos poplíteos, e espirros frequentes. No gato 5, (Figura 4-B e C) pertencente à casa localizada em Jauá-Camaçari, foi observado o complexo gengivite-estomatite na avaliação clínica. O gato 6 apresentava apenas leve desidratação. Este gato foi positivo no exame citológico, sorológico e molecular.

Figura 4. Gatos positivos para infecção por *L. infantum* pela PCR. **A.** Gato 4 positivo para *L. infantum*. **B.** Gato 5 positivo para *L. infantum*. **C.** Presença de úlceras (*setas pretas*) em cavidade oral condizente com o complexo gengivite-estomatite do gato 5.



Fonte: Os autores, 2020.

As manifestações clínicas comumente descritas na LFe estão relacionadas a alterações cutâneas, mucocutâneas e em linfonodos. Os linfonodos aumentados podem ser isolados ou multicêntricos (GRAMICCIA, 2011; PENNISI et al. 2015). Outros sinais clínicos são descritos em menor frequência como lesões oculares, a exemplo da uveíte, anorexia, perda de peso, letargia, desidratação, lesões orais, e raramente relatados estão os sinais clínicos hepatomegalia, esplenomegalia, icterícia, caquexia, febre, vômitos, diarreia, poliúria e polidipsia (PENNISI et al., 2015; BASSO et al., 2016).

Esses achados perfazem 57,1% de ocorrência de desenvolvimento clínico (4/7) em gatos infectados por *L. infantum* no presente estudo, classificados como portadores de doença clínica discreta e os demais gatos classificados como portadores de infecção subclínica.

Os dados obtidos ao exame clínico dos 83 gatos que foram negativos ao exame de PCR de medula óssea para detecção de material genético de *L. infantum*, ou em exames citológicos para pesquisa de amastigotas de *Leishmania* sp., estão descritos na **Tabela 4**. Deste total, 22 gatos apresentavam-se hígidos (22/83, 26,5%) e 61 com sinais clínicos variados (61/83, 73,5%). Os sinais clínicos gerais mais frequentes foram alterações cutâneas (33/83, 39,8%), desidratação (22/83, 26,5%) e emagrecimento (20/83, 24,0%). Os gatos com sinais clínicos mais graves eram os que apresentavam doença no sistema respiratório, e eram do abrigo localizado no município de Camaçari. Devido às restrições orçamentárias para manutenção do abrigo, os gatos não eram vacinados para prevenção do complexo respiratório felino e panleucopenia.

Tabela 4. Frequências de sinais clínicos de gatos oriundos dos diferentes municípios do estado da Bahia negativos para infecção por *L. infantum*

Sinais clínicos	Muritiba	São Félix	Simões Filho	Camaçari	Feira de Santana	Total
Emagrecimento	4,2% (1/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	51,9% (14/27)	20,0% (2/10)	24,0% (20/83)
Apatia	8,3% (2/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	3,6% (3/83)
Mucosas hipercoradas	0% (0/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Mucosas hipocoradas	12,5% (3/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	3,6% (3/83)
Desidratação	16,7% (4/24)	20,0% (1/5)	11,8% (2/17)	37,0% (10/27)	20,0% (2/10)	26,5% (22/83)
Alterações cutâneas	37,5% (9/24)	20,0% (1/5)	35,3% (6/17)	55,6% (15/27)	10,0% (1/10)	39,8% (33/83)
Opacidade de pelo	0% (0/24)	20,0% (1/5)	5,9% (1/17)	3,7% (1/27)	0% (0/10)	3,6% (3/83)
Alopecia	20,8% (5/24)	20,0% (1/5)	5,9% (1/17)	51,9% (14/27)	10,0% (1/10)	27,7% (23/83)
Descamação furfurácea	0% (0/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Ectoparasitos	8,3% (2/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	7,4% (2/27)	0% (0/10)	6,0% (5/83)
Ulcerações	12,5% (3/24)	20,0% (1/5)	0% (0/17)	7,4% (2/27)	0% (0/10)	7,2% (6/83)
Escoriações	12,5% (3/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	4,8% (4/83)
Lesão em ponta de orelha	12,5% (3/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	3,7% (1/27)	0% (0/10)	6,0% (5/83)
Unha frágil	4,2% (1/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Linfadenopatia	8,3% (2/24)	0% (0/5)	17,6% (3/17)	18,5% (5/27)	0% (0/10)	13,3% (11/83)
Alterações oftálmicas	8,3% (2/24)	0% (0/5)	17,6% (3/17)	7,4% (2/27)	60,0% (6/10)	15,7% (13/83)
Secreção ocular	4,2% (1/24)	0% (0/5)	11,8% (2/17)	7,4% (2/27)	60,0% (6/10)	13,3% (11/83)
Conjuntivite	0% (0/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Opacidade de córnea	4,2% (1/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	2,4% (2/83)
Protrusão de pálpebra	0% (0/24)	20,0% (1/5)	0% (0/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)

Continuação...

Continuação...

Sinais clínicos	Muritiba	São Félix	Simões Filho	Camaçari	Feira de Santana	Total
Uveíte	0% (0/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	3,7% (1/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Alterações gastrointestinais	4,2% (1/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	3,7% (1/27)	0% (0/10)	3,6% (3/83)
Úlceras em cavidade oral	4,2% (1/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	0% (0/27)	0% (0/10)	3,3% (3/83)
Diarreia	0% (0/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	3,7% (1/27)	0% (0/10)	1,2% (1/83)
Alterações respiratórias	8,3% (2/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	48,2% (13/27)	0% (0/10)	18,8% (17/83)
Secreção nasal	0% (0/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	48,1% (13/27)	0% (0/10)	16,9% (14/83)
Espirros	0% (0/24)	0% (0/5)	5,9% (1/17)	37,0% (10/27)	0% (0/10)	13,3% (11/83)
Crepitação pulmonar	8,3% (2/24)	0% (0/5)	0% (0/17)	7,4% (2/27)	0% (0/10)	4,8% (4/83)

6.6 Monitoramento do perfil clínico do gato 6

O gato 6 foi avaliado em três momentos (T1, T2 e T3), pois foi o único com evolução clínica para LFe (Quadro 6). A primeira avaliação (T1) para identificação da infecção. A segunda avaliação (T2) ocorreu 22 dias após T1, após informar o diagnóstico e chamar atenção para a elevada quantidade de formas amastigotas encontradas no exame citológico de medula óssea. A terceira avaliação (T3) ocorreu 82 dias após a T2, quando a tutora relatou queixas de alterações oculares no gato não responsivas ao tratamento realizado por atendimento veterinário externo ao HOSPMEV-UFBA. Foi possível determinar o perfil clínico do gato em T2 e T3 e identificar a presença do parasito em diferentes amostras biológicas; aspirados de medula óssea (T1 e T2) e linfonodos poplíteos (T3) e, suabe de conjuntiva palpebral (T3) e/ou esfoliação de conjuntiva palpebral por escova estéril (T3).

No primeiro exame físico (T1) do gato 6, observou-se apenas uma leve desidratação. Na segunda avaliação (T2), o animal permaneceu com um quadro clínico leve, mas além da desidratação, apresentou um aumento sutil do linfonodo poplíteo esquerdo e uma lesão ulcerada em torno de 1,5cm em região caudal superior do membro posterior esquerdo (Figura 5). Foi prescrita a pomada com gentamicina, sulfanilamida, sulfadiazina, ureia e vitamina A (Vetaglós[®]) e solução de digliconato de clorexidina 10mg/mL, para tratar a lesão de pele. A lesão de pele teve total cicatrização em sete dias após o início do tratamento. Nos exames de patologia clínica do T2, o gato apresentou discreto aumento nas proteínas totais e nos valores de gama glutamil transferase (GGT) (Anexo 4). As análises do exame de urina estavam dentro dos valores estipulados para a espécie (Anexo 5).

Após 82 dias (T3) da segunda avaliação, a tutora contatou a nossa equipe por orientação da médica veterinária responsável pelo gato, no intuito de investigar a LFe como diagnóstico diferencial, pois o gato apresentava sinais clínicos oculares não responsivos ao tratamento estipulado pela mesma para o complexo respiratório felino. Ao exame físico foi observado edema de conjuntiva e hiperemia bilaterais, presença de afta em região superior do dente canino direito, bem como aumento dos linfonodos mandibulares e poplíteos. Nesse momento, o gato apresentou linfocitose, hiperproteinemia devido a uma hiperglobulinemia e aumento de fosfatase alcalina (Anexo 4).

A linfadenomegalia é relatada em aproximadamente 50% dos casos de LFe. As lesões oculares e orais estão presentes em torno de 25% dos gatos acometidos pela leishmaniose (PENNISI et al., 2015). O primeiro relato de LFe com manifestações unicamente oftálmicas

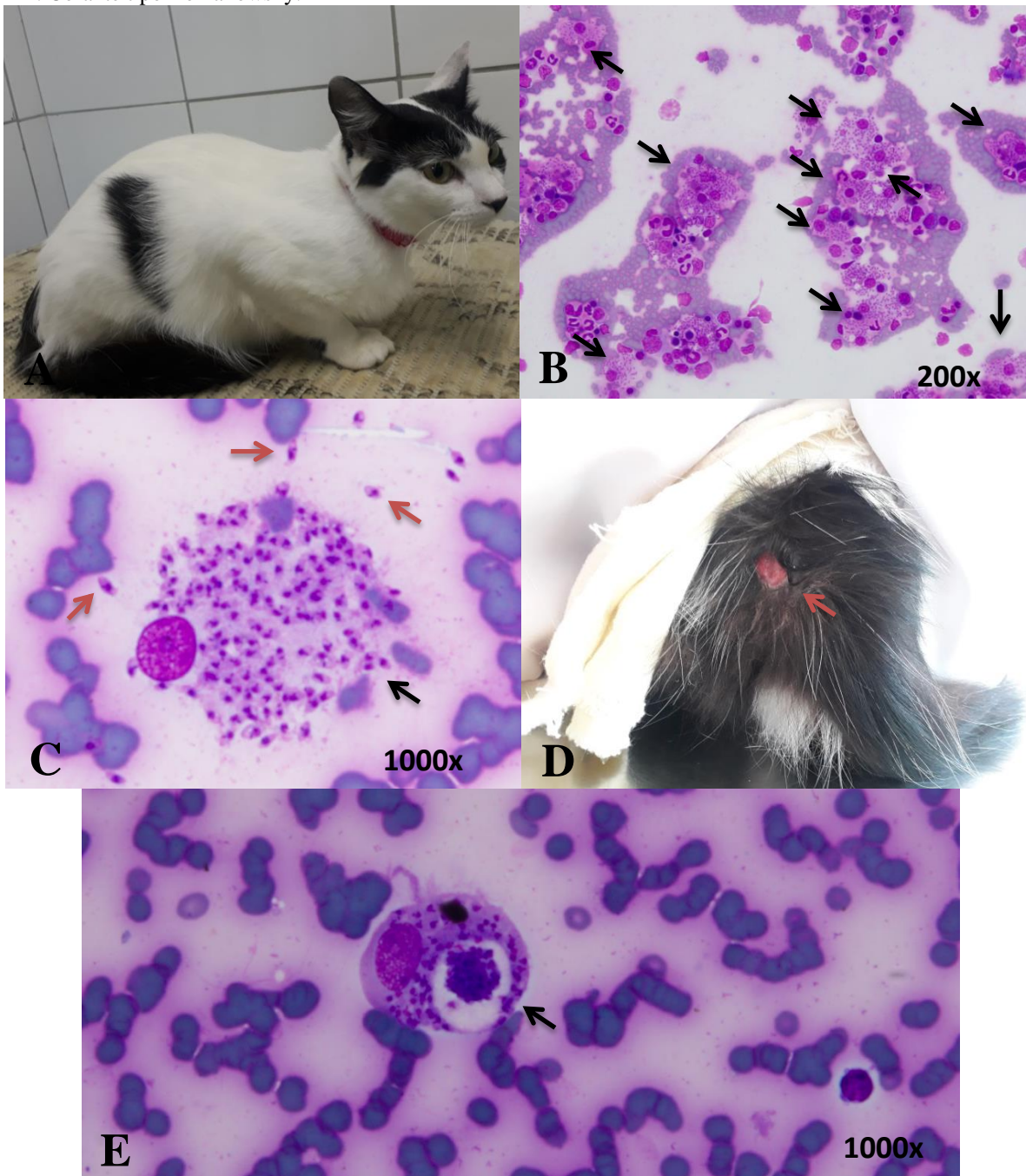
como sinal clínico no Brasil foi descrito na cidade de Cuiabá, Mato Grosso. O gato apresentou no exame físico uveíte bilateral e formação pseudotumoral na região da íris (MADRUGA et al., 2018), diferindo clinicamente do relatado no gato do presente estudo. Esses sinais clínicos mais os observados no nosso estudo podem ser sugestivos da LFe em gatos pertencentes à locais endêmicos para a LCan e/ou LV.

As informações sobre as alterações nos parâmetros laboratoriais na LFe ainda são escassas (PENNISI et al., 2015). Sabe-se que a anemia normocítica normocrômica não regenerativa é a anormalidade hematológica mais frequente em gatos doentes (PENNISI et al., 2004; MENDONÇA et al., 2017). Na bioquímica sérica, a hiperglobulinemia, aumento da creatinina sérica e proteinúria renal são as alterações mais descritas (PENNISI et al., 2004; MARCOS et al., 2009; NAVARRO et al., 2010).

No gato do presente estudo, a hiperglobulinemia foi a alteração mais relevante nos resultados de patologia clínica, com maior destaque no T3. Apesar disso, o teste sorológico TR-DPP[®] nesse período foi negativo. O exame realizado fornece informações apenas sobre o quantitativo total de globulinas séricas, e não subtipos α , β e γ . Dessa forma, pode-se hipotetizar que a hiperglobulinemia no referido gato é devido ao aumento de citocinas inflamatórias que constituem as globulinas séricas do tipo α e β , que são produzidas em resposta a infecção contra a *L. infantum* (BOGGIATTO et al., 2010; PROVERBIO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015; MCGROTTY et al., 2016; COURA et al., 2018). Outra possibilidade é a presença de coinfeções. Vale acrescentar, que a quantidade de imunoglobulinas (tipo γ) no gato com LFe é variável e muitas vezes não detectáveis nos testes sorológicos, por ser um hospedeiro resistente à infecção e a doença felina com mecanismos fisiopatológicos ainda não bem esclarecidos (LEIVA et al., 2005; PENNISI et al., 2015; PERSICHETTI et al., 2017; PEREIRA et al., 2019; URBANI et al., 2020).

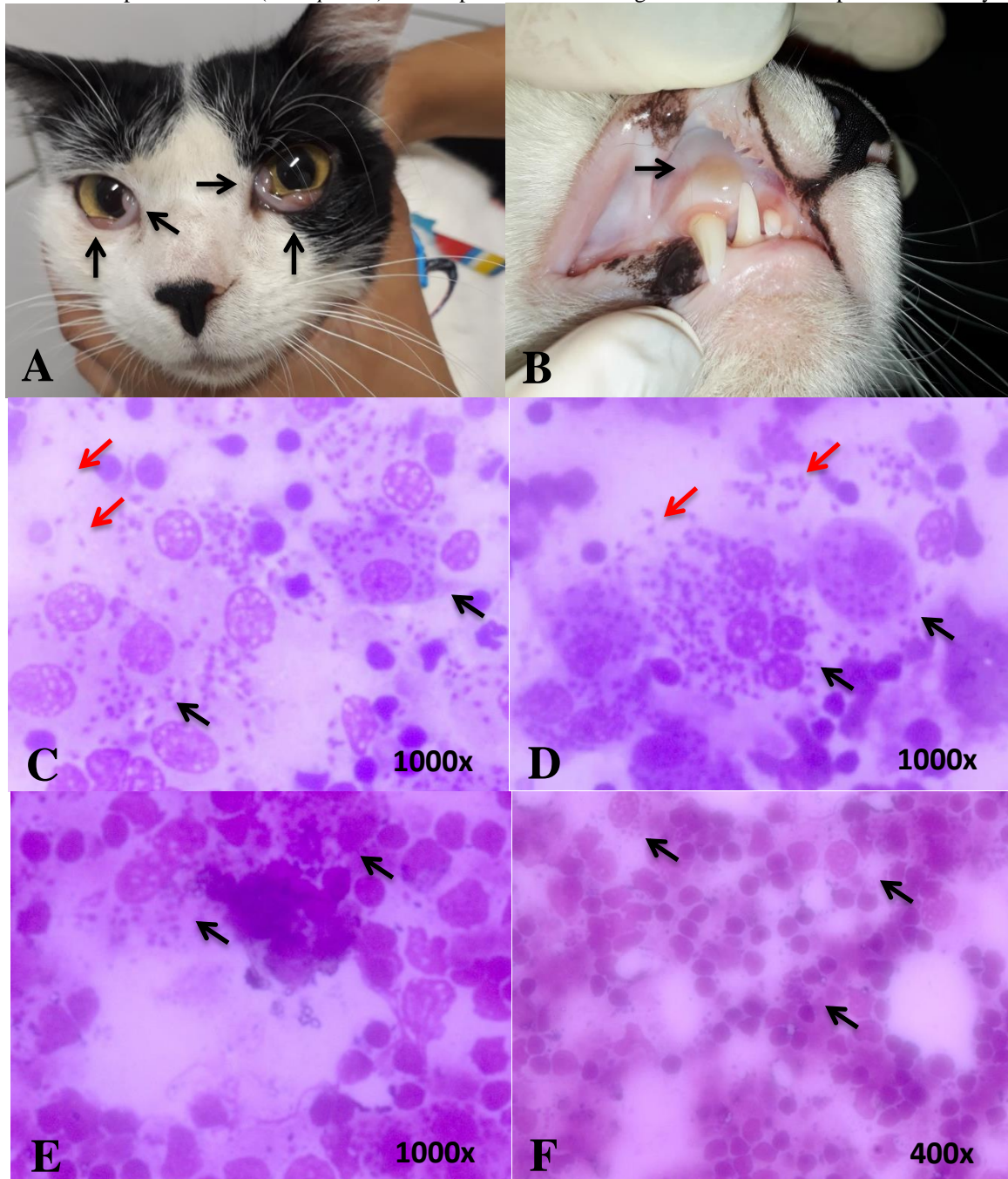
Os exames de citologia de conjuntiva por meio da técnica de suabe e escova estéril, assim como a citologia de ambos linfonodos poplíteos, foram positivos para a presença de formas amastigotas na microscopia direta (Figura 6), sugerindo o desenvolvimento da LFe. Diversos relatos utilizaram a técnica de citologia de aspirados de linfonodos, medula óssea (LEIVA et al., 2005; VIDES et al., 2011), citologia de conjuntiva com auxílio de suabe (PENNISI et al., 2004), e histopatológico de olho (VERNEUIL, 2013) obtendo positividade na identificação de formas amastigotas de *Leishmania* sp.. Até o momento, não houve publicações utilizando a técnica de citologia esfoliativa de conjuntiva por escova estéril para diagnóstico por microscopia óptica de LFe.

Figura 5. Gato 6 positivo para infecção por *L. infantum* por PCR e citologia, nos diferentes tempos de avaliação T1 e T2, e os respectivos exames citológicos realizados. **A.** Gato 6 sem alterações no exame físico em T1. **B.** Fotomicrografia da medula óssea repleta de formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófagos em T1. **C.** Fotomicrografia da medula óssea contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófago e extracelular (*setas vermelhas*) em T1. **D.** Úlcera única (*setas vermelhas*) em região caudal superior ao membro posterior esquerdo medindo cerca de 1,5 cm em T2. **E.** Fotomicrografia do esfregaço de aspirado de medula óssea contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófago em T2. Corante tipo Romanowsky.



Fonte: Os autores, 2020.

Figura 6. Gato 6 positivo para infecção por *L. infantum* por PCR e citologia, em T3 com sinais clínicos e os respectivos exames citológicos realizados. **A.** Gato 6 no momento do exame físico apresentando conjuntivite, hiperemia e edema de conjuntiva (*setas pretas*) em T3. **B.** Gato 6 no momento do exame físico apresentando afta em região superior ao dente canino direito (*setas pretas*) em T3. **C.** Fotomicrografia do aspirado de linfonodo direito contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófagos e extracelular (*setas vermelhas*) em T3. **D.** Fotomicrografia do aspirado de linfonodo esquerdo contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófagos e extracelular (*setas vermelhas*) em T3. **E.** Fotomicrografia da lâmina por suabe de conjuntiva palpebral contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófagos em T3. **F.** Fotomicrografia da lâmina por citologia esfoliativa por escova estéril contendo formas amastigotas de *Leishmania* sp. intracelular (*setas pretas*) em citoplasma de macrófagos em T3. Corante tipo Romanowsky.



Fonte: Os autores, 2020.

Ao considerar a pesquisa de coinfeções, alguns autores relataram alterações oftálmicas juntamente sem a presença de coinfeções por FIV e FeLV (PENNISI et al., 2004; VERNEUIL, 2013; MIGLIAZZO et al., 2014; RICHTER et al., 2014; SOUSA et al., 2019) na LFe como o encontrado neste caso clínico. Assim como em alguns relatos de casos da LFe, não foi possível a identificação da coinfeção ou comorbidade possivelmente associada ao desenvolvimento da doença (VERNEUIL, 2013; MADRUGA et al., 2018). Entretanto, o histórico da terapêutica com corticosteroide sistêmico anteriormente administrado ao felino doméstico, assim com a mudança de ambiente por adoção a um novo tutor, gerando um estresse ambiental ocorrido entre T2 e T3, podem ter sido os fatores desencadeadores da LFe, como o suspeitado em um relato de caso descrito na Itália por Migliazzo et al. (2014), em que não foi possível a identificação de comorbidades associadas, apenas o histórico recente do uso do fármaco imunossupressor.

Até o presente momento, esta foi a primeira descrição de LFe no município de São Félix e no estado da Bahia.

7. CONCLUSÕES

Houve a ocorrência de infecção por *L. infantum* em gatos domésticos nos municípios estudados no estado da Bahia, cujo diagnóstico foi confirmado por meio da detecção do kDNA presente no cinetoplasto da *L. infantum* em gatos nas áreas estudadas nos municípios de Muritiba, São Félix e Camaçari.

Um caso de leishmaniose felina (LFe) causada por *Leishmania infantum* foi identificado em um gato domiciliado no município de São Félix, no estado da Bahia. Além de formas amastigotas do protozoário visualizadas em amostra de medula óssea, linfonodo e secreção conjuntival por microscopia direta, o gato era positivo à PCR para detecção do DNA de *L. infantum* e positivo à sorologia para detecção de imunoglobulinas anti-*Leishmania*. O gato também apresentou doença progressiva com acometimento ocular e cutâneo, associado a hiperproteinemia com hiperglobulinemia e linfocitose. Esses sinais podem ser indicativos da LFe e auxiliar a levantar a suspeita de LFe em gatos pertencentes à áreas endêmicas.

O teste TR-DPP[®] não mostrou um desempenho confiável ao diagnóstico da infecção de gatos por *Leishmania* sp. por meio de sorologia. Mais estudos sobre a resposta humoral felina a *Leishmania* sp. e *Leishmania infantum* são necessários, sendo imprescindível desenvolvimento de um teste sorológico adequado a gatos.

Apenas um dentre os sete gatos infectados por *L. infantum* estava coinfestado com FeLV. Houve ocorrência de infecção pelos retrovírus FeLV, FIV e pela bactéria *Mycoplasma* sp. nos 83 gatos restantes, portanto foram infecções predominantes no grupo de gatos negativos para infecção por *L. infantum* avaliados no presente estudo. FeLV estava presente nos municípios Muritiba, Simões Filho e Camaçari, FIV no município de Simões Filho e infecção por *Mycoplasma* sp. estava presente em todos os cinco municípios estudados, sendo esta última, a infecção de maior frequência nos gatos avaliados neste estudo, seguida da infecção por *L. infantum*, FeLV e FIV. A abundância de sinais clínicos verificada no presente estudo, portanto, não pôde ser associada à infecção por *Leishmania*, mas a outras infecções mais frequentes na mesma área endêmica.

Os achados deste estudo indicam que embora a infecção circule entre gatos nessa área onde as doenças humana e canina são endêmicas, a ocorrência da infecção em gatos é baixa e

essa espécie animal parece ser mais resistente que os cães. Porém, esses aspectos encontrados indicam também a necessidade de mais investigações sobre a infecção por *L. infantum* em felinos domésticos em áreas endêmicas no Brasil, para uma caracterização mais abrangente, incluindo outros aspectos, como resposta imunológica, infecciosidade e transmissibilidade parasitária e aspectos fisiopatológicos.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES, T. R.; WERNECK, G. L.; ALMEIDA, A. S.; FUGUEIREDO, F. B. Environmental factors associated with canine visceral leishmaniasis in na área with recente introduction of disease in the State of Rio de Janeiro, Brazil. **Reports in Public Health**. v.31, n.1, p.1-12, 2018.
- AHUJA, A.; CHATTERJEE, T.; GUNJAN, M.; GAHLOT, G. P. S.; BARANWAL, A. K.; SINGH, K.; SINGH, B. Leishmaniasis: Rainbow of presentations unveiled on bone marrow. **International Journal of Scientific Research**. v.9, n.1, p.1-3, 2020.
- ALVES-DA-SILVA, A.; PACHECO-SILVA, A.; DE CASTRO, C. S. R.; ESMERALDO, R. M.; OLIVEIRA, C. M. C.; FERNANDES, P. F.; OLIVEIRA, R. A.; SILVA, L. S.; CARVALHO, V. P.; COSTA, C. H. N. The risk factors for and effects of visceral leishmaniasis in graft and renal transplant recipients. **Transplantation**. v.95, n.5, p.721-727, 2013.
- ALVES-MARTIN, M. F.; PAIXÃO, M. S.; SILVA, D. T.; TENÓRIO, M. S.; ALVES, M. L.; STARKE-BUZETTI, W. A.; PEREIRA, V. B. R.; LUCHESIS, S. B. Detection of *Leishmania* spp. using parasitological, serological and molecular assays in asymptomatic and sick cats from na endemic área of visceral leishmaniosis in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**. v.7, n.11, p.659-664, 2017.
- ASFARAM, S.; FAKHAR, M.; TESHNIZI, S. H. Is the cat na importante reservoir host for visceral leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. v.25, p.1-10, 2019.
- AYLLON, T.; TESOUREO, M. A.; AMUSATEGUI, I.; VILLAESCUSA, A.; RODRIGUEZ-FRANCO, F.; SAINZ, A. Serologic and molecular evaluation of *Leishmania infantum* in cats from Central Spain. **Annals of the New York Academy of Sciences**. v.1149, n.1, p.361-364, 2008.
- BOGGIATTO, P. M.; RAMER-TAIT, A. E.; METZ, K.; KRAMER, E. E.; GIBSON-CORLEY, K.; MULLIN, K.; HOSTETTER, J. M.; GALLUP, J. M.; JONES, D. E.; PETERSEN, C. A. Immunologic indicators of clinical progression during canine *Leishmania infantum* infection. **Clinical and Vaccine Immunology**. v.17, n.2, p.267-273, 2010.
- BASSO, M. A.; MARQUES, C.; SANTOS, M.; DUARTE, A.; PISSARA, H.; CARREIRA, L. M.; GOMES, L.; VALÉRIO-BOLAS, A.; TAVARES, L.; SANTOS-GOMES, G.; FONSECA, I. P. Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl-glucamine antimoniate. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.2, n.1, p.1-7, 2016.
- BENASSI, J. C. **Detecção de *Leishmania* spp. por PCR em tempo real em amostras de suabe conjuntival de cães, gatos e equinos**. 2015. 74f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Zootecnia e Engenharia de Alimentos, Universidade de São Paulo, Pirassununga, 2015.

BEZERRA, J. A. B.; OLIVEIRA, I. V. P. M.; YAMAKAWA, A. C.; NILSSON, M. G.; TOMAZ, K. L. R.; OLIVEIRA, K. D. S.; ROCHA, C. S.; CALABUIG, C. I. P.; FORNAZARI, F.; LANGONI, H.; ANTUNES, J. M. A. P. Serological and molecular investigation of *Leishmania* spp. infection in cats from na área endemic for canine and human leishmaniasis in Northeast Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.28, n.4, p.790-796, 2019.

BIRKENHEUER, A. J.; Development and evaluation of a seminested PCR for detection and differentiation of *Babesia gibsoni* (Asian Genotype) and *B. canis* DNA in Canine Blood Samples. **Journal of Clinical Microbiology**. v.41, n.9, p.4172-4177, 2003.

BONFANTE-GARRIDO, R.; URDANETA, I.; URDANETA, R.; ALVARADO, J. Natural infection of cats with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.85, n.1, p.53, 1991.

BORJA, L. S.; SOUSA, O. M. F.; SOLCÀ, M. S.; BASTOS, L. A.; BORDONI, M.; MAGALHÃES, J. T.; LARANJEIRA, D. F.; BARROUIN-MELO, S. M.; FRAGA, D. B. M.; VERAS, P. S. T. Parasite load in the blood and skin of dogs naturally infected by *Leishmania infantum* is correlated with their capacity to infect sand fly vectors. **Veterinary Parasitology**. v.229, n.15, p.110-117, 2016.

BRASIL. **Guia de orientação para vigilância de leishmaniose visceral canina (LVC)**. Disponível em: <<https://saude.itajai.sc.gov.br/download.php?id=281>> 2015.

BRASIL. **Ministério Da Saúde, Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**, Série A, Normas e Manuais técnicos, p.9-15, 2006.

BRESCIANI, K. D. S.; SERRANO, A. C. M.; MATOS, L. V. S.; SAVANI, E. S. M. M.; D'AURIA, S. R. N.; PERRI, S. H. V.; BONELLO, F. L.; COELHO, W. M. D.; AOKI, C. G.; COSTA, A. J. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.19, n.2, p.127-129, 2010.

BRIANTI, E.; CELI, N.; NAPOLI, E.; ABBATE, J. M.; ARFUNSO, F.; GAGLIO, G.; IATTA, R.; GIANNETTO, S.; GRAMICCIA, M.; OTRANTO, D. Treatment and long-term follow-up of a cat with leishmaniosis. **Parasites & Vectors**. v.12, n.121, p.1-7, 2019.

BRIANTI, E.; FALSONE, L.; NAPOLI, E.; GAGLIO, G.; GIANNETTO, S.; PENNISI, M. G.; PRIOLO, V.; LATROFA, M. S.; TARALLO, V. D.; BASANO, F. S.; NAZZARI, R.; DEUSTER, K.; POLLMEIER, M.; GULOTTA, L.; COLELLA, V.; DANTAS-TORRES, F.; CAPELLI, G.; OTRANTO, D. Prevention of feline leishmaniosis with na imidacloprid 10%/flumethrin 4,5% polymer matrix collar. **Parasites & Vectors**. v.10, n.334, p.1-8, 2017.

BYERS, C. G. Diagnostic boné marrow sampling in cats – Currently accepted best practices. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.19, p.759-767, 2017.

CAMPRIGHER, V. M.; MATOS, A. M. R. N.; FERREIRA, F. P.; BATINA, P. N.; COSTA, S. C.; NAVARRO, I. T.; ZANUTTO, M. S. Ocorrência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em felinos em área endêmica do estado de São Paulo. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**. v.71, n.2, p.439-446, 2019.

CAN, H.; DOSKAYA, M.; OZDEMIR, H. G.; SAHR, E. A.; KARAKAVUK, M.; PEKTAS, B.; KARAKUS, M.; TOZ, S.; CANER, A.; DOSKAYA, A. D.; IZ, S. G.; OZBEL, Y.; GURUZ, Y. Seroprevalence of *Leishmania* infection and molecular detection of *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* in stray cats of Izmir, Turkey. **Experimental Parasitology**. v.167, p.109-114, 2016.

CARDIA, D. F. F.; CAMOSSO, L. G.; NETO, L. S.; LANGONI, H.; BRESCIANI, K. D. S. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. infection in cats from Brazil. **Veterinary Parasitology**. v. 197, p.634-637, 2013.

CARNEIRO, L. A.; SANTOS, T. V.; LIMA, L. V. R. R.; RAMOS, P. K. S.; CAMPOS, M. B.; SILVEIRA, F. T. First report on feline leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonenses* in Amazonian Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. v.19, 2020.

CHATZIS, M. K.; ANDREADOU, M.; LEONTIDES, L.; KASABALIS, D.; MYLONAKIS, M.; KOUTINAS, A. F.; RALLIS, T.; IKONOMOPOULOS, J.; SARIDOMICHELAKIS, M. N. Cytological and molecular detection of *Leishmania infantum* in different tissues on clinically normal and sick cats. **Veterinary Parasitology**. v.202, p.3-4, 2014.

COELHO, W. M. D.; AMARANTE, A. F. T.; APOLINÁRIO, J. C.; COELHO, N. M. D.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; BRESCIANI, K. D. S. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum*, and *Leishmania* spp. infections and risk factors for cats from Brazil. **Parasitology Research**. v.109, n.4, p.1009-1013, 2011.

COELHO, W. M. D.; RICHINICI-PEREIRA, V. B.; LAGONI, H.; BRESCIANI, K. D. S. Molecular detection of *Leishmania* sp. in cats (*Felis catus*) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.2176, p.281-282, 2011.

COSTA, D. N. C. C.; BLANGIARDO, M.; RODAS, L. A. C.; NUNES, C. M.; HIRAMOTO, R. M.; TOLEZANO, J. E.; BONFIETTI, L. X.; BERMUDI, P. M. M.; CIPRIANO, R. S.; CARDOSO, G. C. D.; CODEÇO, C. T.; NETO, F. C. Canine visceral leishmaniasis in Araçatuba, state of São Paulo, Brazil, and its relationship with characteristics of dogs and their owners: a cross-sectional and spatial analysis using a geostatistical approach. **BMC Veterinary Research**. v.14, n.229, p.1-13, 2018.

COSTA, T. A. C.; ROSSI, C. N.; LAURENTI, M. D.; GOMES, A. A. D.; VIDES, J. P.; SOBRINHO, L. S. V.; MARCONDES, M. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.47, n.3, p.213-217, 2010.

COSTA-DURÃO, J. F.; REBELO, E.; PETELEIRO, M. C.; CORREIA, J. J.; SIMÕES, G. Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias**. v.89, p.140-144, 1994.

COURA, F. M.; PASSOS, S. K. P.; PELEGRINO, M. O. F.; LEME, F. O. P.; PAZ, G. F.; GONTIJO, C. M. F.; COSTA-VAL, A. P. Serological, molecular, and microscopis detections of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais state, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.27, n.4, p.570-574, 2018.

- CRIADO-FORNELIO, A.; MARTINEZ-MARCOS, A.; BULING-SARAÑA, A.; BARBA-CARRETERO, J. Presence of *Mycoplasma haemofelis*, *Mycoplasma haemominutum* and piroplasmids in cats from Southern Europe: a molecular study. **Veterinary Microbiology**. v.93, n.4, p.307-317, 2003.
- CURI, N. H. A.; PASCHOAL, A. M. O.; MASSARA, R. L.; MARCELINO, A. P.; RIBEIRO, A. A.; PASSAMANI, M.; DEMÉTRIO, G. R.; CHIARELLO, A. G. Factors associated with the soroprevalence of leishmaniasis in dogs living around atlantic forest fragments. **PLOS ONE**. v.9, n.8, 2014.
- DAHROUG, M. A.; ALMEIDA, A. B.; SOUSA, V. R.; DUTRA, V.; GUIMARÃES, L. D.; SOARES, C. E. L.; SOUZA, R. L. The first case report os *Leishmania (leishmania) chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v.1, n.3, p.249-250, 2011.
- DAHROUG, M. A.; ALMEIDA, A. B.; SOUSA, V. R.; DUTRA, V.; TURBINO, N. C.; NAKAZO, L. *Leishmania (Leishmania) chagasi* in captive wild felids in Brazil. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine Hygiene**. v.104, p.73-74, 2010.
- DALVI, A. P. R.; CARVALHO, T. D. G.; WERNECK, G. L. Is there an association between exposure to cats and occurrence of visceral leishmaniasis in humans and dogs?. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. p.1-8, 2018.
- DA SILVA, S. M.; RABELO, P. F.; GONTIJO, N. F.; RIBEIRO, R. R.; MELO, M. N.; RIBEIRO, V. M.; MICHALICK, M. S.; First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.174, p.150-154, 2010.
- DAY, M. J. Cats are not small dogs: is there na immunological explanation for why cats are less affected by arthropod-borne disease than dogs? **Parasites & Vectors**. v.9, n.1, p.1-9, 2016.
- FERNANDES, A. R. F.; PIMENTA, C. L. R. M.; VIDAL, I. F.; OLIVEIRA, G. C.; SARTORI, R. S.; ARAÚJO, R. B.; MELO, M. A.; LANGONI, H.; AZEVEDO, S. S. Risk factors associated with seropositivity for *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* in dogs in the state of Paraíba, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.25, n.1, p.90-98, 2016.
- FERNANDEZ, N. J.; KIDNEY, B. A. Alkaline phosphatase: beyond the liver. **Veterinary Clinical Pathology**. v.36, n.3, p.223-233, 2007.
- FIGUEIREDO, F. B.; BONNA, I. C. F.; NASCIMENTO, L. D.; COSTA, T.; BAPTISTA, C.; PACHECO, T. M. V.; AMENDOEIRA, M. R. R.; MADEIRA, M. F. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. v.42, n.2, p.141-145, 2009.
- FINOKETTI, F. **Ocorrência dos virus da imunodeficiência feline (FIV) e leukemia feline (FeLV) em felinos no município de Porto Alegre, RS**. 2011. 37 p. Trabalho de

conclusão de curso de graduação, Instituto de Ciências Básicas da Saúde da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.

FRANCINO, O.; ALTET, L.; SÁNCHEZ-ROBERT, E.; RODRIGUEZ, A.; SOLANO-GALEGO, L.; ALBEROLA, J.; FERRER, L.; SÁNCHEZ, A.; ROURA, X. Advantages of real-time PCR assay for diagnosis and monitoring of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**. v.30, n.137, p.214-221, 2006.

GONÇALVES, L. R.; FILGUEIRA, K. D.; AHID, S. M. M.; PEREIRA, J. S.; VALE, A. M.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Study on coinfecting vector-borne pathogens in dogs and ticks in Rio Grande do Norte, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.23, n.3, p.407-412, 2014.

GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniosis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary Parasitology**. v. 181, p.23-30, 2011.

GREVOT, A.; JAUSSAUD HUGUES, P.; MARTY, P.; PRATLONG, F.; OZON, C.; HAAS, P.; BRETON, C.; BOURDOISEAU, G. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**. v.12, p.271-275, 2005.

GRIMALDI, G. J.; TEVA, A.; FERREIRA, A. L.; DOS SANTOS, C. B.; PINTO, I.; DE-AZEVEDO, C. T.; FALQUETO, A. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.106, n.1, p.54-59, 2012.

HEADLEY, S. A.; PIMENTEL, L. A.; GONTIJO, I. F.; AMUDE, A. M.; VIANA, N. E.; MURARO, L. S.; TAFURI, W. L.; SANTOS, M. D. Immunohistochemical characterization of cutaneous leishmaniasis in cats from Central-west Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**. v.17, 2019.

IATTA, R.; FURLANELLO, T.; COLELLA, V.; TARALLO, V. D.; LATROFA, M. S.; BRIANTI, E.; TREROTOLI, P.; DECARO, N.; LORUSSO, E.; SCHUNACK, B.; MIRÒ, G.; DANTAS-TORRES, F.; OTRANTO, D. A Nationwide survey of *Leishmania infantum* infection in cats and associated risk factors in Italy. **PLOS Neglected Tropical Diseases**. v.13, n.7, p.3-11, 2019.

IBBA, F. **Proceedings of the 62nd International SCIVAC Congress. Rimini: Società Culturale Italiana Veterinari pe Animali da Comagnia**. Um caso di rinite cronica in corso di leishmaniosi felina. 2009.

IBGE (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística). 2018/2019. **Cidades**. Disponível em:< <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ba/muritiba/panorama>>. Acesso em 21 Jun. 2019.

JULIÃO, F. S.; SOUZA, B. M. P. S.; FREITAS, D. S.; OLIVEIRA, L. S.; LARANJEIRA, D. F.; DIAS-LIMA, A. G.; SOUZA, V. M. M.; BARROUIN-MELO, S. M.; MOREIRA JR, E. D.; PAULE, B. J. A.; FRANKE, C. R. Investigação de áreas de risco como

metodologia da leishmaniose visceral canina. **Brazilian Journal of Veterinary Research**. v.27, n.8, p.319-324, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, I. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6ed. San Diego: Academic Press, 2008. 928p.

KARAKUS, M.; ARSERIM, S. K.; KASAP, O. E.; PEKAGIRBAS, M.; AKUZUM, D.; ALTEN, B.; TOZ, S.; OZBEL, Y. Vector and reservoir surveillance study in a canine and human leishmaniasis endemic area in most western part of Turkey, Karaburun. **Acta Tropica**. v.190, p.177-182, 2019.

KIRKPATRICK, C. E.; FARRELL, J. P.; GOLDSCHMIDT, M. H. *Leishmania chagasi* and *L. donovani*: Experimental infections in domestic cats. **Experimental Parasitology**. v.58, n.2, p.125-131, 1984.

LACHAUD, L.; MARCHERGUI-HAMMAMI, S.; CHABBERT, E.; DEREURE, J.; DEDET, J. P.; BASTIEN, P. Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection of canine visceral leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**. v.40, n.1, p.210-215, 2002.

LAPPIN, M. R.; TASKER, S.; ROURA, X. Role of vector-borne pathogens in the development of fever in cats-2. Tick-and sandfly-associated diseases. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.22, p.41-48, 2020.

LAURENTI, M. D.; LEANDRO JR, M. V. S.; TOMOKANE, T. Y.; DE LUCCA, H. R. L.; ASCHAR, M.; SOUZA, C. S. F.; SILVA, R. M.; MARCONDES, M.; MATTA, V. L. R. Comparative evaluation of DPP[®] CVL rapid test for canine serodiagnosis in area of visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**. v.205, p.444-450, 2014.

LAURICELLA, M. A.; MAIDANA, C. G.; FRIAS V. F.; ROMAGOSA, C. M.; NEGRI, V.; BENEDETTI, R.; SINAGRA, A. J.; LUNA, C.; TARTAGLINO, L.; LAUCELLA, S.; REED, S. G.; RIARTE, A. R. An rK28-Based immunoenzymatic assay for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Latin America. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.95, n.6, p.92-98, 2016.

LEIVA, M.; LLORET, A.; PENA, T.; ROURA, X. Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat. **Veterinary Ophthalmology**. v.8, n.1, p.71-75, 2005.

LIMA, C.; COLELLA, V.; LATROFA, M. S.; CARDOSE, L.; OTRANTO, D.; ALHO, A. M. Molecular detection of *Leishmania* spp. in dogs and a cat from Doha, Qatar. **Parasites & Vectors**. v.12, n.125, 2019

LONGONI, S. S.; LÓPEZ-CESPEDES, A.; SANCHEZ-MORENO, M.; BOLIO-GONZALEZ, M. E.; SAURI-ARCEO, C. H.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R. I.; MARÍN, C. Detection of different *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**. v.35, p.469-476, 2012.

LOPES, E. G. P.; MAGALHÃES, D. F.; SILVA, J. A.; HADDAD, J. P. A.; MOREIRA, E. C. Distribuição temporal e espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte-MG, 1993 a 2007. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**. v.62, n.5, p.1062-1071, 2010.

LUCIANO, R. M.; LUCHEIS, D. B.; TRONCARELLI, M. Z.; LUCIANO, D. M.; LANGONI, H. Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.46, n.3, p.181-187, 2009.

MADRUGA, G.; RIBEIRO, A. P.; RUIZ, T.; SOUSA, V. R. F.; CAMPOS, C. G.; ALMEIDA, A. B. P. F.; PESCADOR, C. A.; DUTRA, V. Ocular manifestations of leishmaniasis in a cat: first case report from Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**. v.70, n.5, p.1514-1520, 2018.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Can domestic cats be considered reservoir hosts of zoonotic leishmaniasis? **Trends in Parasitology**. v.27, n.8, p.341-344, 2011.

MAIA, C.; GOMES, J.; CRISTÓVÃO, J.; NUNES, M.; MARTINS, A.; REBÊLO, E.; CAMPINO, L. Feline *Leishmania* infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal. **Veterinary Parasitology**. v.174, p.336-340, 2010.

MAIA, C.; SOUZA, C.; RAMOS, C.; CRISTÓVÃO, J. M.; FAÍSCA, P.; CAMPINO, L. First case of feline leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* genotype E in a cat with a concurrent nasal squamous cell carcinoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery – Open Reports**. p.1-5, 2015.

MARCONDES, M.; ROSSI, C. N. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**. v.50, n.5, p.341-352, 2013.

MARCONDES, M.; HIRATA, K. Y.; VIDES, J. P.; SOBRINHO, L. S. V.; AZEVEDO, J. S.; VIEIRA, T. S. W. J.; VIEIRA, R. F. C. Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. **Parasites & Vectors**. v.11, n.131, 2018.

MARCOS, R.; SANTOS, M.; MALHÃO, F.; PEREIRA, R.; FERNANDES, A. C.; MONTENEGRO, L.; ROCCABIANCA, P. Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**. v.38, n.2, p.201-205, 2009.

MAROLI, M.; PENNISI, M. G.; DI MUCCIO, T.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection on sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**. v.145, p.357-360, 2007.

MARTÍN-SANCHEZ, J.; ACEDO, C.; MUNOZ-PEREZ, M.; PESSON, B.; MARCHAL, O.; MORILLAS-MARQUEZ, F. Infection by *Leishmania infantum* in cats: Epidemiological study in Spain. **Veterinary Parasitology**. v.145, n.3-4, p.267-273, 2007.

MCGROTTY, Y.; BELL, R.; MCLAUCHLAN, G. Disorders of plasma proteins. In: VILLIERS, E.; RISTIC, J. **BSAVA Manual of Canine and Feline Clinical Pathology**. 3rd. Ed. Gloucester: British Small Animal Veterinary Medical Association, 2016: 123-141.

MENDONÇA, I. L.; BATISTA, J. F.; RIBEIRO, J. M. M.; ROCHA, F. S. B.; SILVA, S. O.; MELO, M. N. *Leishmania infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. **Parasitology Open**. v.3, p.1-8, 2017.

METZDORF, I. P.; LIMA JUNIOR, M. S. C.; MATOS, M. F. C.; SOUZA FILHO, A. F.; TSUJISAKI, R. A. S.; FRANCO, K. G.; SHAPIRO, J. T.; BORGES, F. A. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**. v.116, p.121-125, 2017.

MIGLIAZZO, A.; VITALE, F.; CALDERONE, S.; PULEIO, R.; BINANTI, D.; ABRAMO, F. Feline leishmaniasis: a case with a high parasitic burden. **Veterinary Dermatology**. v.26, n.1, p.69-70, 2014.

MIRÓ, G.; REPÉREZ, C.; CHECA, R.; GÁLVEZ, R.; HERNÁNDEZ, L.; GARCÍA, M.; CANOREA, I.; MARINO, V.; MONTOYA, A. Current status of *L. infantum* infection in stray cats in the Madrid region (Spain): implications for the recent outbreak of human leishmaniasis? **Parasites & Vectors**. v.7, p.112, 2014.

MOMO, C.; JACINTHO, A. P. P.; MOREIRA, P. R. R.; MUNARI, D. P.; MACHADO, G. F.; VASCONCELOS, R. O. Morphological changes in the bone marrow of the dogs with visceral leishmaniasis. **Veterinary Medicine International**. p.1-5, 2014.

MOSALLANEJAD, B.; AVIZEH, B.; JALALI, R. R.; POURMEHDI, M. H. Antibody detection against *Leishmania infantum* in sera of companion cats in Ahvaz, south west of Iran. **Archives of Razi Institute**. v.68, n.2, p.165-171, 2013.

NASERENDDIN, A.; SALANT, H.; ABDEEN, Z. Feline leishmaniasis in Jerusalem: Serological investigation. **Veterinary Parasitology**. v.158, p.364-369, 2008.

NAVARRO, J. A.; SÁNCHEZ, J.; PEÑAFIEL-VERDÚ; BUENDÍA, A. J.; ALTIMIRA, J.; VILAFRANCA, M. Histopathological lesions in 15 cats with leishmaniasis. **Journal of Comparative Pathology**. v.143, p.297-302, 2010.

NEMATI, T.; KHANMOHAMMADI, M.; BAZMANI, A.; MIRSAMADI, N.; KOSHKI, M. H. K.; MOHEBALI, M.; FATOLLAHZADEH, M.; FALLAH, E. Study on *Leishmania* infection in cats from Ahar, East Azerbaijan Province and North West Iran by parasitological, serological and molecular methods. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. v.5, p. 40-43, 2015.

NORONHA, T. R.; FOCK, R. A. Visceral leishmaniasis: amastigotes in the bone marrow. **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**. v.41, n.1, p.99-100, 2019.

OIKONOMIDIS, I. L.; TSOULOUFI, T. K.; MYLONAKIS, M. E.; PSALLA, D.; SOUBASIS, N.; RALLIS, T.; KRITSEPI-KONSTANTINOOU, M. Circulating and bone marrow myeloid cells containing *Leishmania* amastigotes in a case of advanced canine

leishmaniosis. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. v.31, n.5, p.726-731, 2019.

OLIVEIRA, G. C.; PAIZ, L. M.; MENOZZI, B. D.; LIMA, M. S.; MORAES, C. C. G.; LANGONI, H. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. p.1-7, 2015.

OLIVEIRA, T. M. F. S.; PEREIRA, V. F.; BENVENGA, G. U.; MARTIN, M. F. A.; BENASSI, J. C.; SILVA, D. T.; STARKE-BUZETTI, W. A. Conjuntival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.24, n.2, p.220-222, 2015.

OPAS (Organización Panamericana de la Salud). 2019. **Manual de procedimientos para vigilância y control de las leishmaniasis em las Américas**. Washington, D. C. Disponível em: <<http://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>>. Acesso em: 25 Jul. 2019.

OTRANTO, D. Arthropod-borne pathogens of dogs and cats: From pathways and times of transmission to disease control. **Veterinary Parasitology**. v.251, p.68-77, 2018.

PENNISI, M. G.; CARDOSO, L.; BANETH, G.; BOURDEAU, P.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; SOLANO-GALLEGU, L. Leishvet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & Vectors**. v.8, p.302, 2015.

PENNISI, M. G.; HARTMANN, K.; LLORET, A.; ADDIE, D.; BELÁK, S.; BOUCRAUT-BARALON, C.; EGBERINK, H.; FRYMUS, T.; GRUFFYDD JONES, T.; HOSIE, M. J.; LUTZ, H.; MARSILIO, F.; MOSTL, K.; RADFORD, A. D.; THIRY, E. TRUYEN, U. HORZINEK, M. C.; Leishmaniose in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.14, p.638-642, 2013.

PENNISI, M. G.; LUPO, T.; MALARA, D.; MASICCI, M.; MIGLIAZZO, A.; LOMBARDO, G. Serological and molecular prevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from Southern Italy (abstract). **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.14, p.656-657, 2012.

PENNISI, M. G.; PERSICHETTI, M. F. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog?. **Veterinary Parasitology**. v.251, p.131-137, 2018.

PENNISI, M. G.; VENZA, M.; REALE, S.; VITALE, F.; LO GIUDICE, S. Case report os feline leishmaniosis in four cats. **Veterinary Research Communications**. v.28, p.363-366, 2004.

PEREIRA, A.; VALENTE, J.; PEREIRA, R.; CRISTOVÃO, J. M.; AZINHEIRA, S.; CAMPINO, L.; MAIA, C. An unusual case os feline leishmaniosis with involvement of the mammary glands. **Topics in Companion Animal Medicine**. p.1-4, 2019.

PERILLO, L.; PENNISI, M. G.; SOLANO-GALLEGU, L.; LUPO, T.; MIGLIAZZO, A.; MAZZULO, G. *Leishmania infantum* PCR positive lymph node aspirates: cytologic patterns in cats. In: **Proceedings of the International SCIVAC Congress “Canine leishmaniasis and other vector-born diseases: our current state of knowledge”**. Pisa: Società Culturale Italiana Veterinari per Animali da Compagnia. 2013. p.144-145.

PERSICHETTI, M. F.; SOLANO-GALLEGO, L.; VULLO, A.; MASUCCI, M.; MARTY, P.; DELAUNAY, P.; VITALE, F.; PENNISI, M. G. Diagnostic performance of ELISA, IFAT and Western blot for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in cats using a Bayesian analysis without a gold standard. **Parasites & Vectors**. v.10, n.119, p.1-8, 2017.

POCHOLLE, E.; REYES-GOMES, E.; GIACOMO, A.; DELAUNAY, P.; HASSEINE, L.; MARTY, P. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. Le chat (*Felis catus*), réservoir potentiel de *Leishmania infantum*. **Parasite**. v.19, p.77-80, 2012.

POFFO, D.; ALMEIDA, A. B. P. F.; NAKAZATO, L.; DUTRA V.; CORREA, S. H. R.; MENDONÇA, A. J.; SOUSA, V. R. S.; Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and *Leishmania* sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.37, n.5, p.491-494, 2017.

POLI, A.; ABRAMO, F.; BARSOTTI, P.; LEVA, S.; GRAMICCIA, M.; LUDOVISI, A.; MANCIANTI, F. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in Italy. **Veterinary Parasitology**. v.106, n.3, p.181-91, 2002.

PRIOLO, V.; MARTÍNEZ-ORELLANA, P.; PENNISI, M. G.; MASUCCI, M.; PRANDI, D.; IPPOLITO, D.; BRUNO, F.; CASTELLI, G.; SOLANO-GALLEGO, L. *Leishmania infantum*-specific IFN- γ production in stimulates blood from cats living in areas where canine leishmaniosis is endemic. **Parasites & Vectors**. v.12, n.133, p.1-9, 2019.

PROVERBIO, D.; SPADA, E.; GIORGI, G. B.; PEREGO, R.; VALENA, E. Relationship between *Leishmania* IFAT titer and clinicopathological manifestations (clinical score) in dogs. **BioMed Research International**. p.1-5, 2014.

RICHTER, M. SCHAARSCHMIDT-KIENER, D.; KRUEWING, C. Ocular signs, diagnosis and long-term treatment with allopurinol in a cat with leishmaniasis. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**. v.156, n.6, p.289-294, 2014.

ROCHA, A. V. V. O.; MORENO, B. F. S.; CABRAL, A. D.; LOUZEIRO, N. M.; MIRANDA, L. M.; SANTOS, V. M. B.; COSTA, F. B.; NOGUEIRA, R. M. S.; MARCILI, A.; SPERANÇA, M. A.; COSTA, A. P. Diagnosis and epidemiology of *Leishmania infantum* in domestic cats in an endemic area of the Amazon region, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.273, p.80-85, 2019.

ROUGERON, V.; CATZEFLIS, F.; HIDE, M.; DE MEEÛS, T.; BAÑULS, A. L. First clinical case of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* in a domestic cat from French Guiana. **Veterinary Parasitology**. v.181, p.325-328, 2011.

RUFENACHT, S.; SAGER, H.; MUELLER, N.; SCHAEERER, V.; HEIER, A.; WELLE, M. M.; ROSIE, P. J. Two cases of feline leishmaniasis in Switzerland. **Veterinary Record**. v.156, p.542-545, 2005.

SAARI, S.; NAREAHO, A.; NIKANDER, S. **Canine Parasites and Parasitic Diseases**. Academic Press: Elsevier Inc., 2019, 287p.
SARIDOMICHELAKIS, M. N.; MYLONAKIS, M. E.; LEONTIDES, L. S.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS, C.; KONTOS, V. I. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.73, n.1, p.83-86, 2005.

SAVANI, E. S. M.; CAMARGO, M. C. G. O.; CARVALHO, M. R.; ZAMPIERI, R. A.; SANTOS, M. G.; D'ÁURIA, S. R. N.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.120, p.229-233, 2004.

SESAB/SINAN (Secretaria da Saúde do Estado da Bahia/Sistema de Informação de Agravos de Notificação). **Dados epidemiológicos SINAN**. Disponível em: <<http://portalsinan.saude.gov.br/dados-epidemiologicos-sinan>> Acesso em 16 Jan. 2020.

SCHALM, O. W.; JAIN, N. C. **Schalm's veterinary hematology**. 6 ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1232p. 2010.

SCHUBACH, T. M.; FIGUEREDO, F. B.; PEREIRA, S. A.; MADEIRA, M. F.; SANTOS, I. B.; ANDRADE, M. V. American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Transaction of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**. v.98, p.165-167, 2004.

SHERRY, K.; MIRÓ, G.; TROTTA, M.; MIRANDA, C.; MONTOYA, A.; ESPINOSA, C.; RIBAS, F.; FURLANELLO, T.; SOLANO-GALLEGO, L. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**. v.11, n.3, p.239-245, 2011.

SILVA, A. V.; CÂNDIDO, C. D. S.; PEREIRA, D. P.; BRAZIL, R. P.; CARREIRA, J. C. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**. v.105, p.92-94, 2008.

SILVA, J. P.; WERNECK, G. L.; MACEDO, E. C.; CARVALHO, H.; CRUZ, M. S. P. Factors associated with *Leishmania chagasi* infection in domestic dogs from Teresina,

State of Piauí, Brazil. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. v.45, n.4, p.480-484, 2012.

SILVA, R. B. S.; LEITE, D. P. S. B. M.; FILHO, E. M.; SILVA, L. F. F.; BRAZ, B. M. A.; MELO, M. A. Anticorpos anti-*Leishmania* sp. em *Felis catus domesticus* atendidos no Hospital Veterinário da UFCG, Patos-PB. In: MEDTROP - Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, 54^o, 2018, Olinda-PE. **Resumo...**Olinda: Sociedade Brasileira de Medicina Tropical; 2018. 1p.

SILVA, R. C. N.; RAMOS, R. A. N.; PIMENTEL, D. S.; OLIVEIRA, G. M. A.; CARVALHO, G. A.; SANTANA, M. A.; FAUSTINO, M. A. G.; ALVES, L. C. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the State of Pernambuco, Brazil. **Journal of the Brazilian Society of Tropical Medicine**. v.47, p.108-109, 2013.

SILVEIRA-NETO, L.; SOBRINHO, L. S.; MARTINS, C. O.; MACHADO, R. Z.; MARCONDES, M. LIMA, V. M. F. Use of crude, FML and rK39 antigens in ELISA to detect anti-*Leishmania* spp. Antibodies in *Felis catus*. **Veterinary Parasitology**. v.177, n.34, p.374-377, 2011.

SIMÕES-MATTOS, L.; MATTOS, M. R. F.; RODRIGUES, T. P.; PRATA-JÚNIOR, J. R. C.; TEIXEIRA M. J.; SILVA, T. F. P.; HOLANDA, C. M.; PEREIRA, B. S.; LOPES, C. A. P.; POMPEU, M. M. L. Survey of anti-*Leishmania chagasi* antibodies in stray cats (*Felis catus*) in the city of Fortaleza (Ceará, Brazil). **Revista Ciência Animal**. v.11, p.79-81, 2001.

SIMÕES-MATTOS, L.; MATTOS, M. R. F.; TEIXEIRA, M. J.; OLIVEIRA-LIMA, J. W.; BEVILAQUA, C. M. L.; PRATA-JÚNIOR, R. C.; HOLANDA, C. M.; RONDON, F. C. M.; BASTOS, K. M. S.; COELHO, I. C. B.; BARRAL, A.; POMPEU, M. M. L. The susceptibility of domestic cats (*Felis catus*) to experimental infection with *Leishmania braziliensis*. **Veterinary Parasitology**. v.127, p.199-208, 2005.

SNYDER, H. W.; ERNST, J. N. R.; GROSMIRE, L. S.; BALINT, J. P.; YOSHIDA, L. H.; JONES, F. R. Selective removal of antigen-complexed IgG from cat plasma by adsorption onto a protein A-silica matrix. **Journal of Immunological Methods**. v.101, p.209-217, 1987.

SOARES, C. S. A.; DUARTE, S. C.; SOUSA, S. R. What do we know about feline leishmaniasis? **Journal of Feline Medicine and Surgery**. v.18, n.6, p.435-442, 2015.

SOBRINHO, L. S. V.; ROSSI, C. N.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. A. D.; DE LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; GENEROSO, D.; LANGONI, H.;

- LEUTENEGGER, C.; BIONDO, A. W.; LAURENTI, M. D.; MARCONDES, M. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**. v.187, p.302-306, 2012.
- SOLANO-GALLEGO, L.; RODRÍGUEZ-CORTÉS, A.; INIESTA, L.; QUINTANA, J.; PASTOR, J.; ESPADA, Y.; PORTÚS, M.; ALBEROLA, J. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**. v.76, n.4, p.676-680, 2007.
- SOLANO-GALLEGO, L.; VILLANUEVA-SAZ, S.; CARBONELL, M.; TROTTA, M.; FURLANELLO, T.; NATALE, A. Serological diagnosis of canine leishmaniasis: comparison of three commercial ELISA tests (Leiscan[®], ID Screen[®] and *Leishmania* 96[®]), a rapid test (Speed Leish K[®]) and an in-house IFAT. **Parasites & Vectors**. v.7, n.111, p.1-10, 2014.
- SOLCÀ, M. S.; BASTOS, L. A.; GUEDES, C. E. S.; BORDONI, M.; BORJA, L. S.; LARANJEIRA, D. F.; TUY, P. G. S. E.; AMORIM, L. D. A. F.; NASCIMENTO, E. G.; OLIVEIRA, G. G. S.; DOS-SANTOS, W. L. C.; FRAGA, D. B. M.; VERAS, P. S. T. Evaluating the accuracy of molecular diagnostic testing for canine visceral leishmaniasis using class analysis. **PLOS ONE**. v.9, n.7, p.1-11, 2014.
- SOUSA, K. C. M.; HERRERA, H. M.; DOMINGOS, I. H.; CAMPOS, J. B. V.; SANTOS, I. M. C.; NEVES, H. H.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R. Sorological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**. v.23, n.4, p.449-455, 2014.
- SOUSA, A. P. S.; SANTOS, H. D.; CARVALHO, C. A.; MACHADO, A. M.; OLIVEIRA, L. E.; RIBEIRO, T. M. P.; CARREIRA, A. G.; GALVÃO, S. R.; MINHARRO, S.; DIAS, F. E. F.; JAYME, V. D. S. Acute visceral leishmaniasis in a domestic cat (*Felis silvestres catus*) from the state of Tocantins, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias, Londrina**. v.40, n.4, p.1723-1730, 2019.
- SOUZA, A. I.; BARROS, E. M. S.; ISHIKAWA, E.; ILHA, I. M. N.; MARIN, G. R. B.; NUNES, V. L. B. Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.127, p.41-45, 2005.
- SOUZA, A. I.; NUNES, V. L. B.; BORRALHO, V. M.; ISHIKAWA, E. A. Domestic feline cutaneous leishmaniasis in the municipality of Ribas do Rio Pardo, MS State, Brazil: a case report. **Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases**. v.15, p.359-365, 2009.
- SOUZA, D. M.; OLIVEIRA, R. C.; SÁ, R. G.; GIUNCHETTI, R. C.; CARVALHO, A. T.; FILHO, O. A. M.; OLIVEIRA, G. C.; REIS, A. B. Cytokine and transcription factor profiles in the skin of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* presenting

distinct cutaneous parasite density and clinical status. **Veterinary Parasitology**. v.177, n.1-2, p.39-49, 2011.

SPADA, E.; CANZI, I.; BAGGIANI, L.; PEREGO, R.; VITALE, F.; MIGLIAZZO, A.; PROVERBIO, D. Prevalence of *Leishmania infantum* and co-infections in stray cats in northern Italy. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**. v.45, p.53-58, 2016.

SRIVIDYA, G.; KULSHRESTHA, A.; SINGH, R.; SALOTRA, P. Diagnosis of visceral leishmaniasis: developments over the last decade. **Parasitology Research**. v.110, n.3, p.1065-1078, 2012.

STELLA, J.; CRONEY, C.; BUFFINGTON, T. Effects of stressors on the behaviour and physiology of domestic cats. **Applied Animal Behaviour Science**. v.143, n.2-4, p.157-163, 2013.

SVS/MS (Serviço de Vigilância da Saúde/Ministério da Saúde). **Cenários da leishmaniose visceral no Brasil**. São Paulo. Disponível em:<http://www.saude.sp.gov.br/resources/ccd/apresentacao/simposio-lv/3._francisco_edilson_ferreira_lima_jr._cenarios_da_lv_e_perspectivas.pdf>. Acesso em 15 Jul. 2018.

TRAINOR, K. E.; PORTER, B. F.; LOGAN, K. S.; HOFFMAN, R. J.; SNOWDEN, K. F. Eight cases of feline cutaneous leishmaniasis in Texas. **Veterinary Pathology**. v.47, p.1076-1081, 2010.

URBANI, L.; TIROLO, A.; SALVATORE, D.; TUMBARELLO, M.; SEGATORE, S.; BATTILANI, M.; BALBONI, A.; DONDI, F. Serological, molecular and clinicopathological findings associated with *Leishmania infantum* infection in cats in Northern Italy. **Journal of Feline Medicine and Surgery**. p.1-9, 2020.

VENANCIO, S. A. S.; VIEIRA, A. B.; ALENCAR, N. X.; SOARES, A. M. B. Evaluation of the exfoliative cytology technique using cytobrush in healthy cats: Comparison between palpebral surface of nictitating membrane and palpebral conjunctiva. **Brazilian Journal of Veterinary Research**. v.32, n.11, p. 1199-1204, 2012.

VERNOUIL, M. Ocular leishmaniasis in a cat: case report. **Journal français d'ophtalmologie**. v.36, p.67-72, 2013.

VIDES, J. P.; SCHWARDT, T. F.; SOBRINHO, L. S. V.; MARINHO, M.; LAURENTI, M. D.; BIONDO, A. W.; LEUTENEGGER, C.; MARCONDES, M. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**. v.178, p.22-28, 2011.

WESTROPP, J. L.; KASS, P. H.; BUFFINGTON, C. A. T. Evaluation of the effects of stress in cats with idiopathic cystitis. **American Journal of Veterinary Research**. v.67, n.4, p.731-736, 2006.

WHO (World Health Organization). 2010. **WHO Technical Report Series: Control of the leishmaniases**. Geneva. Disponível em:

<<http://www.who.int/leishmaniasis/disease/en/>>. Acesso em: 25 Jul. 2019.

ANEXO 1**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA**

ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
HOSPITAL-ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente termo tem o objetivo de informar ao (a) guardião (ã) do animal quanto aos principais aspectos relacionados ao atendimento clínico no projeto “Investigação da ocorrência de *Leishmania* sp. em felídeos domésticos, silvestres ou exóticos em conservação *ex situ* e *in situ*”, sob cujas regras o felídeo será avaliado e tratado, complementando as informações prestadas pelo (a) seu (sua) médico (a) veterinário (a) e pela equipe de pesquisadores e médicos veterinários pertencentes ao projeto, no Hospital-Escola de Medicina Veterinária da UFBA, a Equipe do Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas do LIVE-HOSPMEV-UFBA.

Eu, _____, nascido em ___/___/___, portador do RG/CPF _____, declaro que fui devidamente informado (a) sobre o protocolo aplicado pela Equipe Atendimento LVC – HOSPMEV - UFBA, sendo o meu felídeo de nome _____, sexo _____, raça _____, idade _____, RG _____, submetido a triagem a partir da avaliação por meio de colheita de amostras de sangue, urina, aspirado esplênico, medula óssea e linfonodos pertencente ao projeto intitulado “Estudos Sistêmicos para o Aprimoramento das Ações de Prevenção e Controle das Leishmanioses no Estado da Bahia”. Parte das colheitas dessas amostras serão mediante sedação, com o objetivo de tranquilizar o animal para a execução dos procedimentos.

Declaro estar ciente de que tanto os procedimentos de colheita de amostras quanto os medicamentos podem implicar riscos à saúde do meu animal, sob a forma de reações adversas ou reações idiossincrásicas (reações adversas ainda não descritas no felídeo) aos fármacos utilizados em qualquer etapa do diagnóstico ou tratamento, ou ainda de possibilidades de acidentes devido ao uso de instrumentos perfurantes, associados ou não ao próprio estado de saúde do felídeo portador de infecção. Estou ciente de que embora todos os riscos sejam possíveis, os métodos previstos no protocolo são de extrema importância para o tratamento adequado do animal e para impedir a transmissão da infecção. Todos os procedimentos serão realizados por médicos veterinários treinados, o que minimiza a possibilidade de ocorrências adversas.

Confirmo que recebi explicações, li, compreendo e concordo com tudo que me foi esclarecido e que me foi concedida a oportunidade de anular, questionar, alterar qualquer espaço, parágrafo ou palavras com as quais não concordasse. Tive a oportunidade de fazer perguntas que me foram respondidas satisfatoriamente. Assim, tendo conhecimento, autorizo a realização do procedimento proposto em meu animal.

Muritiba/São Félix/Cachoeira/Simões Filho/Camaçari/Feira de Santana -BA, ___ de _____ de _____

Assinatura guardião (a) do felino doméstico

Assinatura / CRMV
Responsável da Equipe Atendimento LIVE – UFBA

ANEXO 2



Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comissão de Ética no Uso de Animais

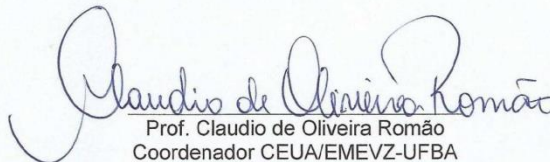
Av. Ademar de Barros, 500 - Ondina-40170-110 Salvador-BA
 Fone: (071) 3283-6701/6702/6718
 E-mail: escmev@ufba.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Metabolismo, Diagnóstico e intervenção terapêutica na Leishmaniose zoonótica naturalmente adquirida: Estudos clínicos, parasitológicos, imunológicos, de estresse oxidativo, farmacocinéticos e farmacodinâmicos de drogas anti-Leishmania e utilizadas em doenças concomitantes**”, registrada com o nº 13/2017, sob a responsabilidade da **Prof. Dr^a Stella Maria Barrouin Melo**, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, **em reunião de 22.05.2017.**

Finalidade	() Ensino/Treinamento (X) Pesquisa científica
Vigência da autorização	23/05/2017 à 13/05/2027
Espécie/linhagem/raça	<i>Canis familiaris</i> (Cão), <i>Felis catus</i> (gato)
Nº de animais	>6/grupo
Peso/Idade	Cães >10 Kg / Não informada Gatos >2 Kg / Não informada
Sexo	Ambos
Origem	Animais de companhia e domiciliados com seus responsáveis, em área endêmica para LV.

Salvador, 22/05/2017.


 Prof. Claudio de Oliveira Romão
 Coordenador CEUA/EMEVS-UFBA

ANEXO 3

**Universidade Federal da Bahia
Hospital de Medicina Veterinária
Laboratório de Infectologia Veterinária**



FICHA PARA EXAME CLÍNICO

Identificação

Animal _____ RG: _____ Nº LIVE _____ Tempo: _____ Data: _____
Sexo: () Macho () Fêmea Raça: _____ Cor: _____
Peso: _____ kg; Idade: _____ Procedência: _____ Domiciliado: _____

Exame clínico

Emagrecimento: () Sim () Não
- Ganho de peso: () Sim () Não
Ulcerações na pele: () Sim () Não
- Localização: () Focinho () Orelha () Rabo () Genital. Outros: _____
Vasculite: () Sim () Não
Aspectos das unhas saudáveis: () Sim () Não
Descamação furfurácea: () Sim () Não
- () Focal () Generalizada Onde: _____
Alopecia: () Sim () Não . Onde: _____
- () Localizada () Generalizada
- Alopecia periocular: () Sim () Não
Hiperqueratose: () Sim () Não. Onde: _____
Croscas: () Sim () Não. Onde: _____
Linfonodos superficiais aumentados: () Sim () Não. Quais? _____
Baço palpável: () Sim () Não
Oftalmopatia: () Sim () Não. Quais: _____
Despigmentação no focinho: () Sim () Não
Nódulos/Massa Subcutâneos: () Sim () Não
Edema: () Sim () Não
Mucosas: () Hipo () Normo () Hiperconradas
Neuropatia: () Sim () Não
Hematoquesia/Melena/Diarreia/Aquesia/Disquesia/Tenesmo: () Sim () Não
Apatia: () Sim () Não
Febre: () Sim () Não .T° _____.
Epistaxe: () Sim () Não
Normorexia () Hiporexia/Anorexia ()
Vacinas A.R., Múltipla: () Sim () Não. Qual? _____ N. doses? _____ Data? _____
FeLV? () Sim () Não. Tratamento? () Sim () Não. Quando? _____.
FIV? () Sim () Não. Tratamento? () Sim () Não. Quando? _____.
FC: _____ bpm. FR: _____ mpm. TPC: _____. Normohidratado: () Sim () Não
Medicações em uso: _____
Outras infirmações: _____

ANEXO 4

Tabela 4 - Parâmetros hematológicos laboratoriais em T2 e T3 do gato 6 positivo para infecção por *L. infantum* por meio da cPCR e microscopia direta em amostra de medula óssea oriundo do município de São Félix, Bahia

Parâmetros	Valor Referência*	Gato 6 T2	Gato 6 T3
Eritrograma			
Hemácias (x10 ³ /μL)	5,0-10,0	6,51	7,02
Hemoglobina (g/dL)	8,0 – 15,0	8,3	8,5
Hematócrito (%)	24 – 45	26,6	27,9
VGM (fL)	39,0 – 55,0	41,0	39,8
CHGM (%)	30 – 36	31,2	30,4
Plaquetas (x10 ³ /mm ³)	230 – 680	324	191.000**
Hemácias nucleadas		0	1
Proteínas totais (g/dL)	6,0 – 8,0	8,4 (↑)	8,4 (↑)
Reticulócitos (mm³)	Regeneração acima 60.000 reticulócitos agregados		
Reticulócitos agregados		19.530	49.140
Reticulócitos agregados		13.020	21.060
Leucograma			
Leucócitos (mm ³)	5.500 – 19.500	6.900	17.300
Bastões (mm ³)	0 – 300	0	0
Segmentados (mm ³)	2.500 – 12.500	2.553	6.920
Linfócitos (mm ³)	1.500 – 7.000	4.278	9.515 (↑)
Monócitos (mm ³)	0 – 800	69	173
Eosinófilos (mm ³)	0 – 1.500	69	692
Basófilo (mm ³)	0	Raros	0
Observações morfológicas		Linfócitos reativos	
Bioquímico			
Proteínas totais (g/dL)	5,4 – 7,8	7,9 (↑)	8,8 (↑)
Albumina (g/dL)	2,1 - 3,3	3,0	2,9
Globulinas (g/dL)	2,6 - 5,1	4,9	5,9 (↑)
Ureia (g/dL)	42,8 - 64,2	46,0	53,0
Creatinina (g/dL)	0,8 - 1,8	1,5	1,3
ALT (U/L)	6 – 83	28,0	34,0
Fosfatase Alcalina (U/L)	25 - 93	65,0	109,0 (↑)
GGT (U/L)	1,5 - 5,3	6,3 (↑)	3,5

*Kaneko et al., 2008; Schalm et al., 2010. ** A contagem de plaquetas pode estar subestimada devido à presença de agregados plaquetários. (↓)

Valores abaixo da faixa da normalidade para a espécie. (↑) Valores acima da faixa da normalidade para a espécie.

ANEXO 5

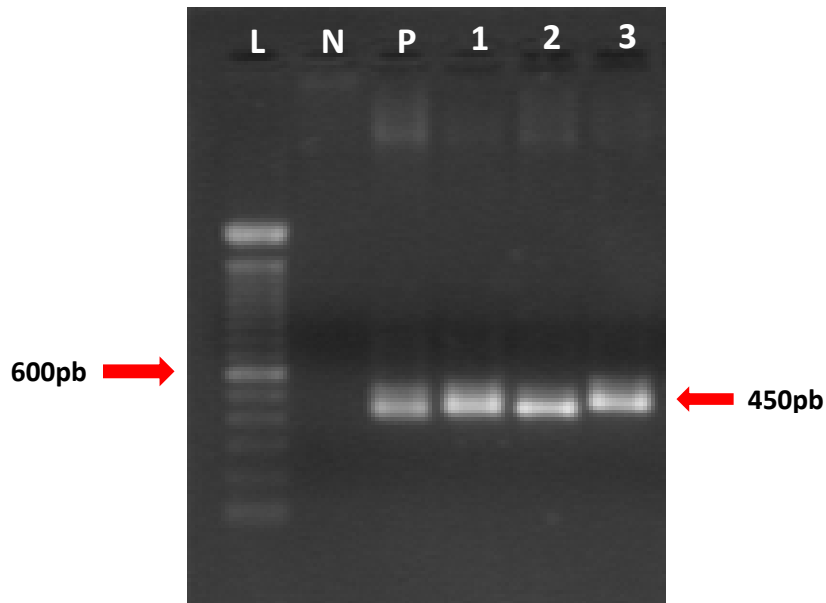
Tabela 5 - Parâmetros do sumário de urina e relação proteína/creatinina urinárias (UPC) do gato positivo para infecção por *L. infantum* por meio da cPCR e microscopia direta em amostra de medula óssea oriundo do município de São Félix, Bahia

Parâmetros	Gato 6
Físico	
Volume (mL)	10
Colheita	Cistocentese
Aspecto	Ligeiramente turvo
Cor	Amarelo citrino
Densidade	1.040
Químico	
Proteínas	Traços
Glicose	Negativo
Corpos cetônicos	Negativo
Bilirrubina	Negativo
Urobilinogenio	Normal
Sangue oculto	Negativo
pH	6,0
Sedimentoscopia	
Hemácias	Ausentes/Campo de grande aumento
Leucócitos	Ausentes/Campo de grande aumento
Células escamosas	Raras/Campo de grande aumento
Bactérias	+
Cilindros	A+/Campo de pequeno aumento
Cristais	Ausentes
Gotículas de gordura	+
Relação proteína/creatinina urinárias (UPC)	
Proteína urinária (mg/dL)	36,7
Creatinina urinária (mg/dL)	192,0
UPC (mg/dL)	0,19

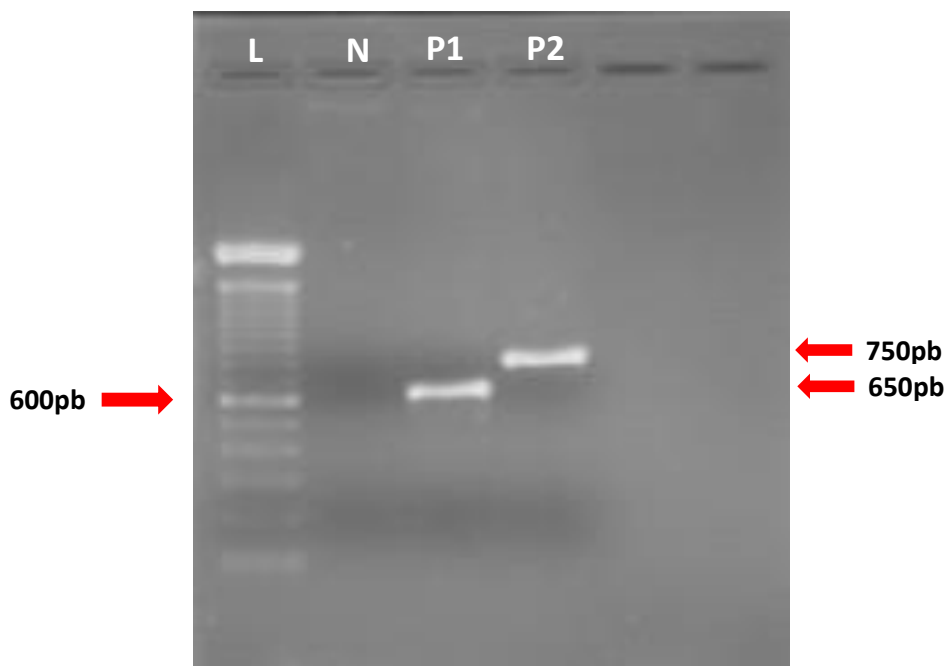
APÊNDICE 1 – Distribuição do número de gatos por casa nos diferentes municípios do estado da Bahia.

Município	Casa/Abrigo	Número de gatos	Positivos cPCR	Total de residências por município	Total de gatos por município
Muritiba	1	15	2	11	27
Muritiba	2	2	1		
Muritiba	3	2	0		
Muritiba	4	1	0		
Muritiba	5	1	0		
Muritiba	6	1	0		
Muritiba	7	1	0		
Muritiba	8	1	0		
Muritiba	9	1	0		
Muritiba	10	1	0		
Muritiba	11	1	0		
São Félix	12	6	2	2	7
São Félix	13	1	0		
Simões Filho	14	6	0	12	17
Simões Filho	15	1	0		
Simões Filho	16	1	0		
Simões Filho	17	1	0		
Simões Filho	18	1	0		
Simões Filho	19	1	0		
Simões Filho	20	1	0		
Simões Filho	21	1	0		
Simões Filho	22	1	0		
Simões Filho	23	1	0		
Simões Filho	24	1	0		
Simões Filho	25	1	0		
Camaçari	26/27 Abrigo	14	1	3	29
Camaçari	28	10	1		
Camaçari	29	5	0		
Feira de Santana	30	10	0	1	10
Total	30	90	7	30	90

APÊNDICE 2 – Fotodocumentação das cPCRs padronização para GAPDH, FIV e FeLV de amostras de gatos.

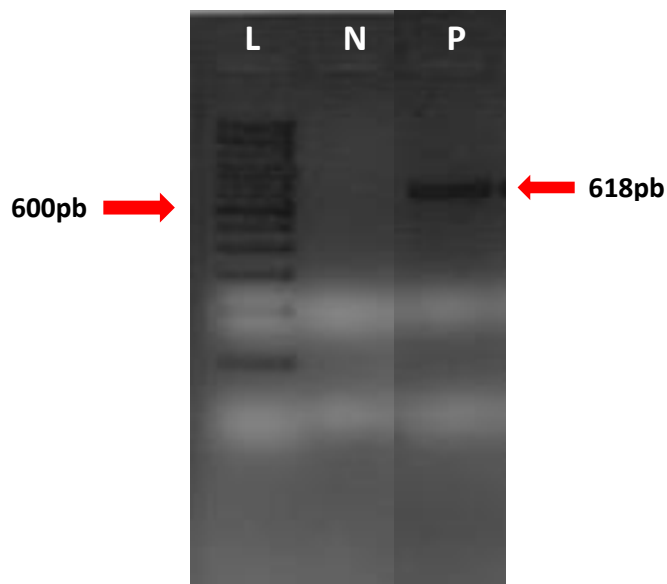


Padronização da cPCR para detecção do gene endógeno GAPDH no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 100pb). **N.** Controle negativo. **P.** Controle positivo. **1.** Amostra de sangue do gato 1. **2.** Amostra de sangue do gato 2. **3.** Amostra de sangue do gato 3.

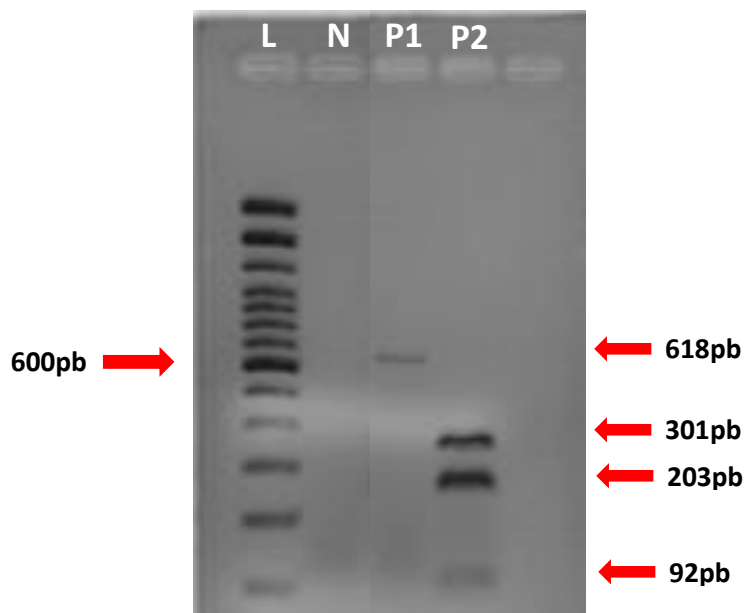


Padronização da cPCR para detecção do DNA pró-viral de FIV e FeLV no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 100pb). **N.** Controle negativo. **P1.** Controle positivo de FeLV. **P2.** Controle positivo de FIV.

APÊNDICE 3 – Fotodocumentação da padronização da cPCR para *Mycoplasma* sp., *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum* de amostras de sangue de gatos.

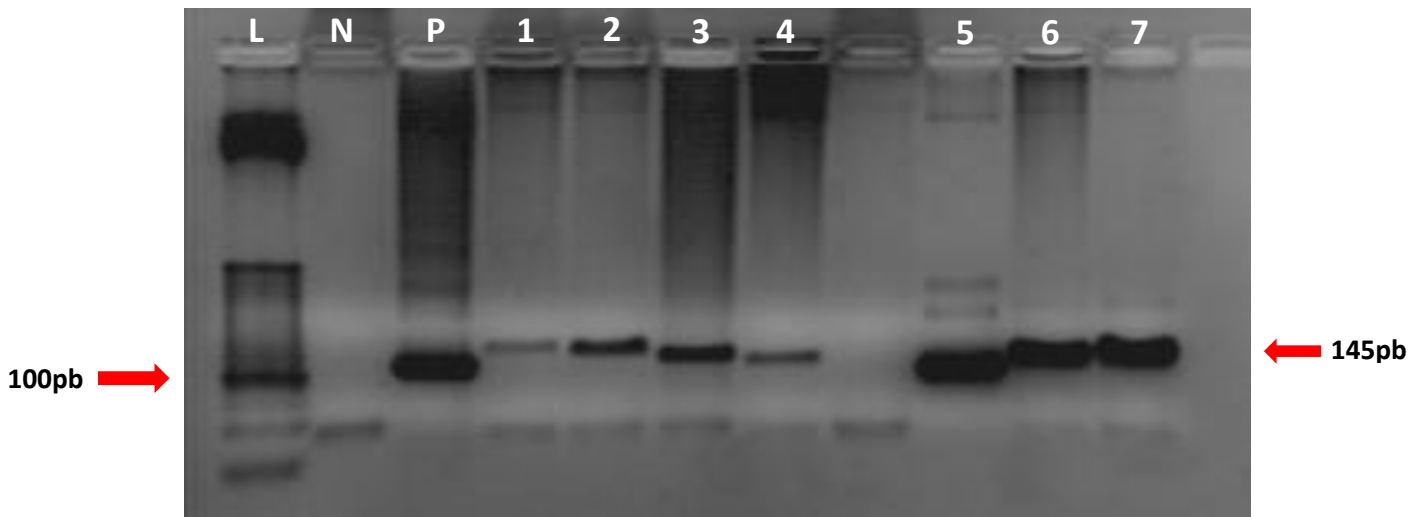


Padronização da cPCR para detecção do DNA bacteriano de *Mycoplasma* sp. no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 100pb). **N.** Controle negativo. **P.** Controle positivo.



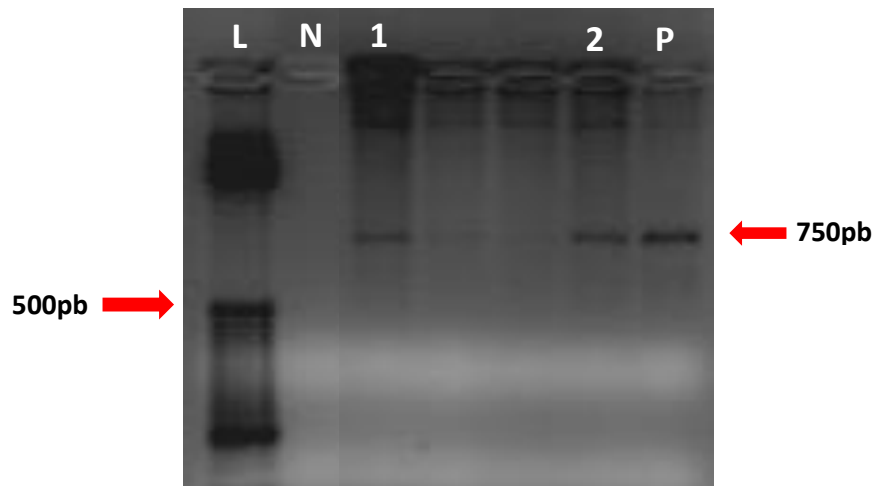
Padronização da cPCR para identificação das espécies *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum* no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 100pb). **N.** Controle negativo. **P1.** Controle positivo *M. haemominutum*. **P2.** Controle positivo *M. haemofelis*.

APÊNDICE 4 – Fotodocumentação das amostras positivas para cPCR para *Leishmania infantum* de amostras de medula óssea de gatos.

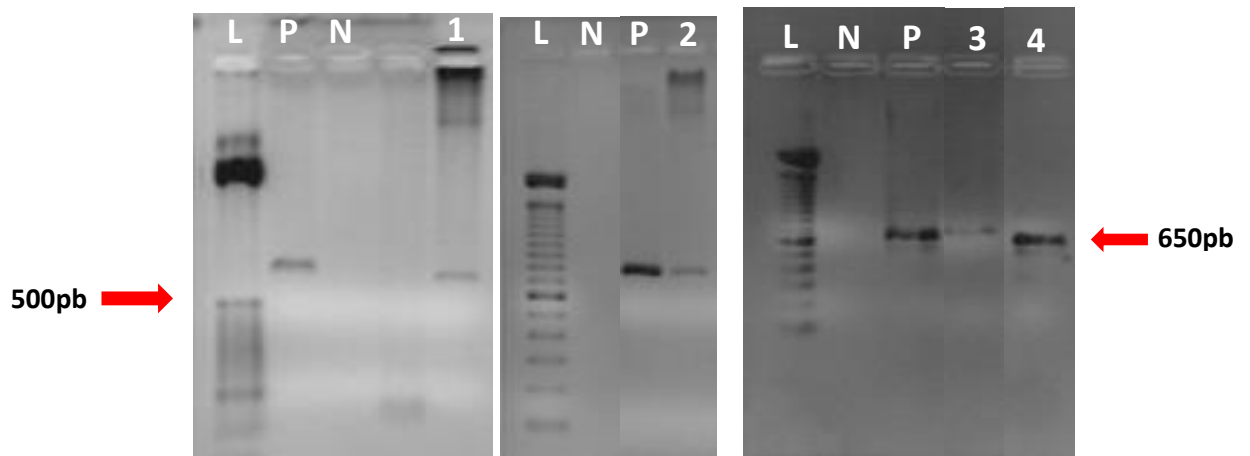


cPCR para detecção kDNA da *Leishmania infantum* no LIVE-UFBA.
L. *Ladder* (Marcador de peso molecular 50pb). **N.** Controle negativo. **P.** Controle positivo. **1.** Amostra de medula óssea do gato 1. **2.** Amostra de medula óssea do gato 2. **3.** Amostra de medula óssea do gato 3. **4.** Amostra de medula óssea do gato 4. **5.** Amostra de medula óssea do gato 5. **6.** Amostra de medula óssea do gato 6. **7.** Amostra de medula óssea do gato 7.

APÊNDICE 5 – Fotodocumentação das amostras positivas para cPCR para FIV e FeLV de amostras de sangue de gatos.

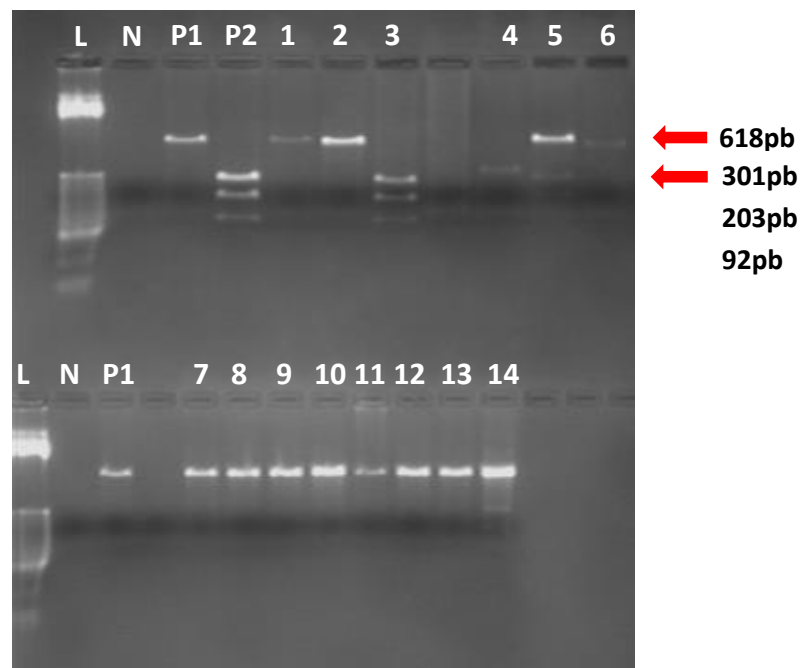


cPCR para detecção do DNA pró-viral de FIV no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 1Kb). **N.** Controle negativo. **P.** Controle positivo. **1.** Amostra de sangue do gato 35. **2.** Amostra de sangue do gato 41.



cPCR para detecção do DNA pró-viral de FeLV no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 1kb). **N.** Controle negativo. **P.** Controle positivo. **1.** Amostra de sangue do gato 3. **2.** Amostra de sangue do gato 41. **3.** Amostra de sangue do gato 56. **4.** Amostra de sangue do gato 63.

APÊNDICE 6 – Fotodocumentação das amostras positivas para cPCR para *Mycoplasma* sp., *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum* de amostras de sangue de gatos.



cPCR para identificação das espécies *Mycoplasma haemofelis* e *Mycoplasma haemominutum* no LIVE-UFBA. **L.** *Ladder* (Marcador de peso molecular 100pb). **N.** Controle negativo. **P1.** Controle positivo *M. haemominutum*. **P2.** Controle positivo *M. haemofelis*. **3, 4, 5.** Amostras de sangue de gato positivas para *M. haemofelis*. **1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14.** Amostras de sangue de gato positivas para *M. haemominutum*. **5, 14.** Amostras de sangue de gato positivas para *M. haemofelis* e *M. haemominutum*.

APÊNDICE 7 – Confirmação da submissão do artigo intitulado “*Feline leishmaniasis caused by Leishmania infantum: parasite sequencing, seropositivity and clinical characterization in an endemic area in Brazil*” para a revista *Veterinary Parasitology*.

De: "VETPAR" <em@editorialmanager.com>

Para: "Stella Maria Barrouin-Melo" <barrouin@ufba.br>

Enviadas: Sexta-feira, 5 de março de 2021 18:08:27

Assunto: Submission Confirmation for Veterinary Parasitology

Title: Feline leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*: parasite sequencing, seropositivity and clinical characterization in an endemic area in Brazil

Article type: Original research paper

Dear Professor Barrouin-Melo,

Your submission has been received by the journal
Veterinary Parasitology.

You will be able to check on the progress of your paper by logging onto the Editorial Managers as an Author using the following information:

<https://www.editorialmanager.com/vetpar/>

Your username is: barrouin@ufba.br

If you need to retrieve password details, please go

to: <https://www.editorialmanager.com/vetpar/l.asp?i=169979&l=BS3W5H7M>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

Editorial Office Staff
Veterinary Parasitology

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923>. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EM via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

In compliance with data protection regulations, you may request that we remove your personal registration details at any time. (Use the following URL: <https://www.editorialmanager.com/vetpar/login.asp?a=r>). Please contact the publication office if you have any questions.