



Centro Universitário de Brasília – CEUB
Faculdade de Ciências da Educação e Saúde

KAMILLA DA ROCHA PIMENTA

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Brasília
2022

KAMILLA DA ROCHA PIMENTA

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Ciências da
Educação e Saúde para obtenção do grau
de Bacharel em Medicina Veterinária.

Orientador: Prof. Msc. Lucas Edel Donato.

Brasília
2022

KAMILLA DA ROCHA PIMENTA

LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

Trabalho de conclusão de curso
apresentado à Faculdade de Ciências da
Educação e Saúde para obtenção do grau
de Bacharel em Medicina Veterinária.

Brasília, Junho de 2022.

Banca Examinadora

Prof. Msc. Lucas Edel Donato
Orientador (a)

Prof. O Dr. Carlos Alberto da Cruz Junior
Examinador

Prof. O Dr. Marcos Antônio Rodrigues da Cunha
Examinador

Brasília – DF
2022

RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença zoonótica, com distribuição em diferentes países e o agente etiológico acomete a subclasse mamífera. Ocasionalmente por protozoários do gênero *Leishmania Infantum*, a sua principal forma de transmissão ocorre pela picada do inseto vetor, que são as fêmeas de flebotomíneos infectadas. O cão é o principal reservatório do meio urbano da doença, e em decorrência da maioria desses animais infectados desenvolverem um quadro subclínico, esses cães domésticos acabam exercendo um papel fundamental na manutenção e propagação da LVC. A terapia medicamentosa possui como função a redução da carga parasitária do cão e apesar de não proporcionar a cura parasitológica do animal, ela o deixa menos infectante para os flebotomíneos dificultando a contaminação desses insetos vetores. Esses fármacos também atuam proporcionando um bem estar aos animais doentes, pois restauram a imunidade e ocasionam a cura dos sinais clínicos. Entretanto, a falta de opções terapêuticas no mercado veterinário e as falhas do sistema fármaco geram uma necessidade na busca por novos estudos de propriedades de novos fármacos. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma revisão de literatura do tipo narrativa das principais drogas utilizadas nos protocolos terapêuticos da patologia da LVC, descrevendo o mecanismo de ação, eficácia e efeitos adversos dessas drogas. As plataformas de pesquisas utilizadas para este trabalho foram a Scielo, PubMed e Google Acadêmico em um intervalo de tempo de 2004 a 2022.

Palavras-chave: leishmania infantum; therapeutic canine visceral leishmaniasis; canine visceral leishmaniasis drugs

ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a zoonotic disease, with distribution in different countries and the etiologic agent affects the mammalian subclass. Caused by protozoa of the genus *Leishmania Infantum*, its main form of transmission occurs through the bite of the insect vector, which are the infected female sand flies. The dog is the main urban reservoir of the disease and because most of these infected animals develop a subclinical picture, these domestic dogs end up playing a key role in the maintenance and spread of CVL. The drug therapy has the function of reducing the parasite load of the dog and although it does not provide the parasitological cure of the animal, it makes it less infectious for phlebotomine sandflies, hindering the contamination of these insect vectors. These drugs also act by providing a welfare to sick animals, because they restore immunity and cause the healing of clinical signs. However, the lack of therapeutic options in the veterinary market and the failures of the drug system generate a need to search for new studies on the properties of new drugs. The present work aimed to perform a narrative literature review of the main drugs used in therapeutic protocols for CVL pathology, describing the mechanism of action, efficacy and adverse effects of these drugs. The research platforms used for this work were Scielo, PubMed and Google Academic in a time interval from 2004 to 2022.

Keywords: leishmania infantum; therapeutic canine visceral leishmaniasis; canine leishmaniasis drugs

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	6
2. OBJETIVOS	8
2.1. <i>Objetivos Gerais</i>	8
2.2 <i>Objetivos Específicos</i>	8
3. METODOLOGIA	8
4. REVISÃO DE LITERATURA	9
4.1. <i>Agente Etiológico</i>	9
4.2. <i>Vetores</i>	10
4.3. <i>Reservatórios</i>	11
4.4. <i>Ciclo biológico da Leishmania Infantum</i>	12
4.5. <i>Transmissão</i>	12
4.6. <i>Patogenia</i>	13
4.7. <i>Sinais clínicos e diagnóstico</i>	14
5. MANEJOS TERAPÊUTICOS PARA CÃES POSITIVOS PARA LVC	15
5.1. <i>Contextualização de tratamento de cães diagnosticados com leishmaniose visceral</i>	15
5.2. <i>Tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil</i>	17
5.3. <i>Drogas Leishmanicidas</i>	19
5.3.1. <i>Anfotericina B</i>	19
5.3.2. <i>Antimoniato de meglumina</i>	20
5.3.3. <i>Aminosidina (paromicina)</i>	20
5.3.4. <i>Estibogluconato de sódio</i>	21
5.3.5. <i>Marbofloxacina</i>	21
5.3.6. <i>Miltefosina</i>	22
5.4. <i>Drogas Leishmaniostáticos</i>	23
5.4.1. <i>Alopurinol</i>	23
5.5. <i>Imunomoduladores</i>	24
5.5.1. <i>Domperidoma</i>	24
5.6. <i>Imunoterápicos</i>	25
5.6.1. <i>Vacina Leishmune®</i>	26
5.6.2. <i>Vacina Leish-Tec ®</i>	26
5.6.3. <i>Vacina CaniLeish ®</i>	27
5.6.4. <i>Vacina LetiFend ®</i>	27
6. CONCLUSÃO	28
REFERÊNCIAS	29

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma patologia com ampla distribuição global, podendo ser encontrada na Ásia Central, África Oriental, Oriente Médio, Mediterrâneo, Subcontinente Indiano, América Central e na América do Sul (Alves et al., 2020).

Apesar de possuir diferentes nomes entre essas localidades, como leishmania visceral americana ou calazar, a sua relevância está relacionada a distribuição, incidência, letalidade e por apresentar características de antropozoonose, tornando-a uma das seis endemias prioritárias no mundo (Ministério da Saúde, 2014).

As leishmanioses são doenças parasitárias causadas por diversos tipos de protozoários do gênero *Leishmania*. Dentre as espécies, a *Leishmania infantum* é a responsável pela forma zoonótica, sendo este o agente etiológico responsável pela leishmania visceral canina (LVC) (Chelbi et al., 2019). Esse agente etiológico possui como característica serem seres digenéticos durante o período do seu ciclo evolutivo, infectando hospedeiros invertebrados e vertebrados (Nóbrega, 2014 e Fraga; Santos, 2021).

No Brasil, os vetores são as fêmeas de flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, e os hospedeiros vertebrados são os mamíferos, sendo estes acometidos pela doença (Nóbrega, 2014) (Fraga; Santos, 2021).

Inicialmente de caráter rural, a LV expandiu geograficamente e foi se tornando presente também nas áreas de regiões urbanizadas (Fraga; Santos, 2021). No país, o cão doméstico é considerado o principal reservatório da doença nessas áreas urbanas, (Araújo; Gondim, 2020) devido alguns fatores tais como, a sua suscetibilidade a infecção, a sua proximidade com seres humanos e a alta concentração de carga parasitária existente na sua própria epiderme (Fonseca, 2013) (Moreno,2019).

Os sinais clínicos da LVC são considerados inespecíficos e aliados com quadros de animais assintomáticos ocasiona uma dificuldade no fechamento do diagnóstico (Contreras et al.,2019). Em virtude disso e para a realização de um

diagnóstico mais preciso, é recomendado que seja realizada uma associação entre os testes em série disponíveis para a obtenção do resultado (Costa et al.,2020).

As formas de tratamento existentes se baseiam entre a associação de medicamentos leishmanicidas, leishmaniosstáticos, imunomoduladores e imunoterápicos como forma de melhorar o quadro clínico do animal, o seu sistema imune e a redução da sua carga parasitária com o intuito de reduzir o risco desse cão continuar servindo como uma fonte reservatória para seres humanos e outros animais (Travi et al., 2018).

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivos Gerais

O objetivo deste trabalho é realizar uma revisão das principais drogas utilizadas nos protocolos terapêuticos da patologia da leishmaniose visceral canina

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever sobre os aspectos que envolvem a doença nos cães;
- Descrever sobre os medicamentos utilizados no tratamento da doença em cães;
- Descrever os mecanismos de ação das moléculas;
- Descrever a eficácia e eventos adversos.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho consiste em uma revisão de literatura do tipo narrativa sendo utilizados como fontes de buscas as plataformas Scientific Electronic Library Online (Scielo), Google Acadêmico e PubMed, em um intervalo entre os anos de 2004 a 2022. Durante o período de pesquisas na plataforma foram utilizados o termo AND com o intuito de agrupar um conjunto maior de informações a respeito do tema, sendo usadas as seguintes palavras chaves: canine visceral leishmaniasis; leishmania infantum; canine visceral leishmaniasis AND treatment; canine visceral leishmaniasis AND miltefosine.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1. Agente Etiológico

A LVC é causada por um protozoário intracelular obrigatório que acomete o sistema fagocítico mononuclear dos hospedeiros (Ministério da Saúde, 2014; Ribeiro et al., 2018). Esses protozoários são pertencentes à *família Trypanosomatidae*, gênero *Leishmania* e a espécie *L.infantum* é considerado o principal agente etiológico responsável por causar a LVC (Monteiro et al.,2018;Ribeiro et al., 2018).

Os parasitos da LVC são seres dimórficos que se apresentam em duas fases morfológicas denominadas de amastigotas e promastigotas. A forma amastigota é identificada no interior das células dos mamíferos e a forma promastigota é encontrada no sistema gastrointestinal dos vetores (Lima et al., 2021).

A distinção está principalmente na sua morfologia e no seu caráter infectante, em que a forma amastigota possui como característica um formato menor, esférico e imóvel. Enquanto a forma promastigota apresenta uma forma alongada constituindo um flagelo (Sunter; Gull; 2017 e Kruger; Ferreira;Silva, 2021).

4.2. Vetores

Os vetores dessa patologia são comumente conhecidos pelo nome de mosquito-palha, (Figueiredo, 2021) porém apesar do nome sugestivo esse inseto é classificado como uma mosca. Pertencentes à ordem *diptera*, família *Psychodidae* e subfamília *Phlebotominae*, os gêneros relacionados a patologia da Leishmania são o *Phlebotomus* que são encontradas nos continentes africanos, europeus e asiáticos e o gênero *Lutzomyia* que é o principal responsável doença nos continentes das Américas onde se inclui o Brasil (Zatelli; Fondati; Maroli., 2022; Gálvez et al., 2018).

No ciclo evolutivo, esses insetos passam pelas quatro fases de crescimento: ovo, larva, pupa e adulto. Os aspectos morfológicos no estágio adulto dos flebotomíneos do gênero *Lutzomyia*, pode-se visualizar um corpo coberto por cerdas, um tórax com formato corcunda, asas que possuem uma inclinação que permanecem para cima enquanto estão em repouso, um tamanho que variam entre 2 a 3 milímetros e se deslocam em pequenos saltos (Gálvez et al., 2018).

A forma larval desses insetos é encontrada nos ambientes, ricos em matéria orgânica, úmidos e com baixa luminosidade, após adultos esses vetores conseguem se adaptar em diferentes tipos de locais. A alimentação se baseia em fontes de carboidratos para ambos os sexos, porém as fêmeas para suprir a necessidade que os ovos requerem para seu desenvolvimento também utilizam o sangue como outra fonte de alimento (Silva et al., 2021).

4.3. Reservatórios

Todos os mamíferos podem ser infectados pelo parasito, porém ainda há poucos estudos que retratam sobre a capacidade de potencial reservatório da maioria dos animais (Lima et al., 2021).

O cão doméstico é apontado como o principal reservatório do parasito nas áreas urbanas, (Cardoso et al,2021), devido a atributos que os tornam favoráveis para a manutenção e disseminação do ciclo biológico da LVC (Dantas-Torres, 2007).

Dentre os atributos estão a alta carga parasitária na sua epiderme o que facilita a infecção de novos vetores durante o processo do repasto sanguíneo, a grande quantidade de animais que evoluem para um quadro subclínico da patologia e conseqüentemente continuam servindo como fontes de infecção (Carneiro et al., 2019), e o contato próximo entre essa espécie e os seres humanos (Dantas - Torres, 2007).

Dentre os animais silvestres, os principais que exercem a função de fonte de infecção ao vetor são os coelhos, raposas, chacais e lobos nos países europeus (Moreno, 2019). Enquanto que na fauna brasileira os gambás e o cachorro do mato são os animais que desempenham essa função nesses ambientes de vida livre do território nacional (Reis, 2018).

4.4. Ciclo biológico da Leishmania Infantum

O ciclo biológico da LVC necessita dos 3 componentes: agente etiológico, vetores e reservatórios. As fêmeas de flebotomíneos são guiadas até o hospedeiro através do odor, CO² e calor. Ao encontrarem o hospedeiro vertebrado essas fêmeas realizam o repasto sanguíneo como parte do seu processo de alimentação (Ward; Sedda; Hamilton, 2017).

Durante esse processo, a fêmea infectada inocula formas promastigotas metacíclicas do agente etiológico na derme do hospedeiro e concomitantemente a saliva desses vetores também apresentam substâncias que ao entrarem em contato com a derme induzem a uma resposta imune inflamatória no local de origem onde ocorreu a picada do vetor (Silva et al., 2021 e Batista et al., 2018).

No hospedeiro vertebrado a forma promastigota metacíclica penetra nas células mononucleares do sistema fagocítico se transformando em amastigotas. Circulantes na sua corrente sanguínea dessa forma servem como fontes de infecção para outros flebotomíneos, (Rodrigues et al., 2022) que ao se infectar, ingerem as formas amastigotas (Nogueira et al., 2019).

No interior dos vetores infectados, essas formas amastigotas irão sofrer outra mutação se tornando uma forma promastigota procíclica e ficando alojadas no aparelho digestivo do inseto vetor, e durante um novo repasto sanguíneo essas formas serão regurgitadas na derme de um novo cão doméstico ou outro mamífero, acontecendo desta maneira o ciclo biológico da LVC (Nogueira et al., 2019 e Martins; 2016).

4.5. Transmissão

A principal forma de transmissão ocorre por meio do vetor infectado com o parasito (Nogueira et al., 2019). Porém outras vias de transmissão já foram descritas na literatura como a venérea, por via transplacentária, por transmissão iatrogênica através de transfusões sanguíneas contendo sangue contaminado e em situações

em que ocorre a transmissão direta imediata por meio de lesões abertas e o contato com o agente etiológico (Ribeiro et al., 2018).

4.6. Patogenia

O desenvolvimento da patogenia da LVC no hospedeiro está correlacionado com a resposta do seu sistema imunológico em controlar o parasita (Laguno et al., 2021).

Ao ser infectado, o seu organismo inicia um processo de resposta imune inata (Silva et al., 2021) e os neutrófilos são as primeiras células desse sistema a serem ativadas até o local da infecção. O contato dos neutrófilos com o patógeno da *Leishmania Infantum* gera um recrutamento de macrófagos até o local (Toepp; Petersen, 2020).

Os macrófagos são células hospedeiras primárias do parasita e ao realizarem o processo de fagocitose da forma promastigota do agente etiológico, esse agente consegue sobreviver em seu interior devido a existência de uma estrutura que é um vacúolo parasitóforo (Toepp; Petersen, 2020).

Dentro dos macrófagos os parasitas se transformam em formas amastigotas e se replicam até causar apoptose celular, ficando circulantes na via hematogena e vão se disseminando para outros tecidos (Buchini et al., 2021) (Rodrigues et al., 2022) (Toepp; Petersen). A infecção incontrolada desencadeia a resposta humoral e citocinas são ativadas como resposta imune. (Laguno et al., 2021 e Silva et al., 2021)

As citocinas estimulam os linfócitos T auxiliares, que no cão podem induzir uma resposta imune TH1 ou TH2, dependendo de qual resposta imune for ativada determina a progressão ou a redução da doença (Silva et al., 2021).

A resposta imune TH1 ativam a produção de citocinas pró inflamatórias que são as interleucinas (IL) IL-1, IL-2, IL 12, interferon gama e fator de necrose tumoral alfa. Esses compostos interrompem a capacidade de infecção dos antígenos promovendo o aumento da atividade leishmanicida dos macrófagos. A interleucina - 12 possui como função a indução de mais células TH1 o que proporciona uma

melhora na resposta imune, pois as células TH1 estimula a produção de mais interferon gama e células T CD4- tipo 1 auxiliar que atuam na ativação dos macrófagos (Silva et al.,2021) (Llaguno et al.,2021) (Toepp; Petersen, 2020).

Quando a resposta imune ativada é a TH2 há estimulação de produção de células T reguladoras e células B reguladoras, em que as citocinas que serão produzidas pelas células T reguladoras são as interleucinas IL-4, IL-13 e as células B induzem a produção de interleucina - 10. Essas citocinas são anti inflamatórias e não exercem uma função protetora na infecção, ocasionando uma quantidade elevada de anticorpo e juntamente com a presença dos antígenos induzem há uma formação de imunocomplexos circulantes. Os macrófagos que são ativados por estes imunocomplexos inibem a síntese da interleucina - 12 e subsequente a produção de interferon gama que estimula a ativação de mais macrófagos para o local. Como consequência há uma diminuição da resposta imune além de reduzir a capacidade dos macrófagos em matar os antígenos e eliminar os imunocomplexos (Silva et al., 2021 e Llaguno et al., 2021).

A ativação das respostas imune TH1 são observadas nos cães considerados resistentes para a LVC e a resposta imune TH2 é associada aos cães suscetíveis à doença (Silva et al., 2021 e Llaguno et al., 2021).

4.7. Sinais clínicos e diagnóstico

A LVC pode se manifestar de forma assintomática, porém ela é uma doença crônica e sistêmica cuja evolução dos casos tende a progredir para quadros debilitantes dos animais acometidos pela doença. (Najafi et al., 2021) A condição do quadro clínico e prognóstico vai depender de fatores como o sistema imunológico do animal, idade e raça (Gálvez et al., 2020).

Dentre as manifestações clínicas características da LVC podemos citar a presença de onicogribose, alopecia, linfadenopatia, poliúria, polidipsia, lesões cutâneas, esplenomegalia, caquexia e lesões oculares. Porém apesar de existirem alguns sinais clínicos característicos, a maioria desses sintomas são generalistas e similares aos de outras patologias, ocasionando uma dificuldade no fechamento do

diagnóstico tendo como base apenas os aspectos dos sinais clínicos dos pacientes (Najafi et al.,2021 e Silva et al., 2017).

O diagnóstico da LVC é considerado um fator limitador e ao mesmo tempo complexo. No que concerne às técnicas imunológicas sugere-se a associação entre os testes em série para a obtenção de um resultado mais acurado (Costa et al., 2020).

Entre os métodos de diagnósticos disponíveis para a detecção indireta do parasito há os testes imunocromatográficos como o Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) e o de imunofluorescência de anticorpos RIFI, em que eles consistem na detecção dos anticorpos séricos. E entre os testes diretos estão os moleculares e os parasitológicos, como exemplificações, nos testes moleculares há o PCR em tempo real e nos parasitológicos há os exames histológicos e citológicos (Monteiro et al., 2021).

No Programa de Controle e Vigilância da Leishmaniose Visceral implementados pelo Ministério da Saúde no Brasil, os testes de diagnóstico recomendados para detectar cães sororreagentes para a LV são realizados em associação utilizando dois métodos de testes em que um é o teste rápido de triagem chamado DPP e o outro é o teste de diagnóstico ELISA em que este é confirmatório (Sevá et al., 2021).

5. MANEJOS TERAPÊUTICOS PARA CÃES POSITIVOS PARA LVC

5.1. Contextualização de tratamento de cães diagnosticados com leishmaniose visceral

O tratamento atual da LVC possui como principal objetivo reduzir a carga parasitária, proporcionar a melhora dos sinais clínicos e restaurar a melhora do sistema imune do animal. Os tratamentos medicamentosos disponíveis para a realização da terapia apresentam imperfeições que geram a necessidade de associar imunomoduladores, medicamentos leishmanioestáticos, medicamentos

leishmanicidas e imunoterápicos como forma de alcançar esses objetivos (Travi et al., 2018 e Gonçalves et al., 2019).

Alguns exemplos nas falhas do sistema fármaco estão diante a sua toxicidade e a resistência de medicações, as recidivas dos animais em tratamento e a falta da cura parasitológica no qual em muitos os casos os animais continuam funcionando como uma fonte reservatória para a LVC. Nas ações de medidas de controle a dificuldade está na contenção da propagação da afecção. (Gonçalves et al., 2019).

No ano de 2005 durante o fórum Worldleish 3, um grupo de médicos veterinários de diferentes países compuseram uma associação científica sem fins lucrativos denominada de LeishVet. Com o objetivo de fornecer diretrizes relacionadas ao tema da leishmaniose visceral na área da veterinária (LeishVet; 2022).

Nesta associação eles trazem propostas sugestivas de manejos terapêuticos para a LVC, com diretrizes padronizadas sobre abordagens nas áreas de controle e prevenção, diagnóstico, tratamentos e no acompanhamento dos animais infectados (Gallego et al., 2011) (LeishVet; 2022). Nas diretrizes terapêuticas, o grupo elaborou um protocolo em que eles observam alguns estágios clínicos principais presentes nos animais, que são: os sinais clínicos, resultados sorológicos e as anormalidades clínico-patológicas. Ao analisar essas categorias em específico, eles retratam que é possível integrar ao sistema em que eles criaram uma maior quantidade de manifestações clínicas generalistas e estabelecer graus de gravidade de forma mais ajustada (Gallego et al., 2011).

No sistema, os dados clínicos obtidos dos animais nesses estágios clínicos principais definem qual quadro evolutivo da patologia o animal se encontra, podendo ser categorizados em estágio 1 (doença leve), estágio 2 (doença moderada), estágio 3 (doença grave) ou estágio 4 (doença muito grave). A cada estágio o prognóstico e o tipo de tratamento se diferem (Gallego et al., 2011).

Nas diretrizes da LeishVet o principal protocolo terapêutico é realizado com as drogas antimoniato de meglumina associado com o alopurinol, porém na Europa outras drogas são autorizadas para o tratamento como as drogas aminosidina,

miltefosina e também há relatos do uso do antimoniato de meglumina (Gallego et al., 2009). A eutanásia como medida de controle não é mais utilizada em nenhum dos países além do Brasil, cujo os protocolos terapêuticos implementados se divergem quando comparados ao restante do mundo, devido às diferentes variáveis que existem entre eles como o: clima e ambiente (Travi et al., 2018) (Gonçalves et al., 2019) (Gallego et al., 2011).

5.2. Tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil

No Brasil existe um Programa de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, em que o Ministério da Saúde é o órgão responsável pelas diretrizes de intervenção da patologia no país. As ações recomendadas nesse projeto são voltadas tanto para vetores, cães domésticos e seres humanos (Assis et al.,2020). As medidas instauradas são separadas em duas vertentes, sendo uma de ações preventivas e a outra de ações de controle (Ministério da Saúde, 2014).

Nas ações de medidas de controle correlacionadas com o protocolo terapêutico da população reservatória canina foram sancionadas em conjunto entre o Ministério da Saúde e o Ministério da Agropecuária , Pecuária e Abastecimentos (MAPA) uma portaria interministerial de número 1.426 realizado no dia 11 de julho de 2008, em que neste documento ficou definido que era proibido o tratamento de cães infectados ou doentes, com produtos de uso humano ou produtos não registrados em todo território nacional (Ministério da Saúde; MAPA, 2008).

Em virtude de questões éticas de proprietários e instituições de proteção animal que se posicionavam contra a eutanásia, (Leite et al., 2018) (Dantas et al.,2018) (Sevá et al.,2020), um novo registro foi instaurado em conjuntura com o MAPA e o Ministério da Saúde que é a nota técnica conjunta de número 001 do ano de 2016. (Ministério da Saúde; MAPA, 2016).

Esta nota informa sobre o registro do medicamento no órgão regulador, garantindo a comercialização do produto a base de miltefosina a, um composto que não era utilizado nos tratamentos de produtos humanos e desta forma não infringia a portaria 1.426, além de não oferecer riscos à saúde humana ao gerar uma possível resistência das cepas dos agentes etiológicos em relação às medicações de uso

humano para o tratamento da leishmaniose visceral (Ministério da Saúde; MAPA, 2016 e Ministério da Saúde; MAPA, 2008).

O único tratamento medicamentoso disponível e regularizado no Brasil ainda é o composto ativo da miltefosina que pode ser receitada como monoterapia ou associada com o alopurinol que é um medicamento leishmaniostático que corrobora na eficácia do tratamento. (Gonçalves et al., 2021) (Gonçalves et al., 2019)

A imunoterapia é outra alternativa que vêm sendo adotada nos protocolos terapêuticos, no país somente duas vacinas já foram comercializadas. A Leishmune foi a primeira licenciada para a leishmaniose visceral canina em 2004, porém devido à falta de estudos que corroboram a sua eficácia na segunda fase dos ensaios, ela teve a sua licença de produção e comercialização revogadas pelo Ministério da Agricultura do Brasil no ano de 2014 (Velez; Gallego, 2020).

Em 2007 outra vacina foi implementada no comércio brasileiro sendo nomeada de Leish-Tec e essa continua sendo a única vacina autorizada no país (Velez; Gallego, 2020).

Além desses segmentos governamentais, o Brasil também possui uma organização não governamental e sem fins lucrativos chamada de Brasileish que foi fundada no ano de 2011. Essa organização é formada por membros que são médicos veterinários que possuem como objetivo instaurar diretrizes a respeito da leishmaniose visceral canina no Brasil e em outros países da América (Brasileish, 2018).

A Brasileish atua realizando trabalhos como de proporcionar educação continuada aos médicos veterinários, abordar sobre questões da leishmaniose canina com autoridades da saúde pública, alertar os avanços da doença para organizações como o Conselho Federal de Medicina Veterinária, participar de ações populares voltadas à respeito da leishmaniose animal e essa organização mantém uma relação com associações não governamentais que visam o mesmo objetivo como é o caso da Leishvet (Brasileish, 2018).

No âmbito do tratamento das diretrizes desenvolvidas pela Brasileish, ela aborda que o seguimento terapêutico deve ter como propósito a melhora clínica do

paciente e a redução da carga parasitária. E a terapia usada vai de acordo com o estágio clínico do animal que são divididos em cinco estágios: estágio 1 (sem doença), estágio 2 (sem doença / doença leve), estágio 3 (doença moderada), estágio 4 (doença grave) e estágio 5 (doença muito grave). Entre os componentes recomendados para a terapia estavam as drogas miltefosina e alopurinol, imunoterapia, imunomoduladores e nos casos graves e muito graves determinavam que além disso deveriam seguir as diretrizes da Sociedade Internacional de Interesse Renal (Brasileish, 2018).

5.3. Drogas Leishmanicidas

5.3.1. Anfotericina B

A anfotericina B é um medicamento indicado para o uso de infecções fúngicas sistêmicas e além disso apresenta em suas propriedades terapêuticas funções anti leishmanicidas. (Fumagalli; Coelho, 2015)

O seu mecanismo de ação consiste na formação de poros na camada da membrana plasmática do parasito o que induz a um aumento da permeabilidade ocasionando a perda de cátions como o potássio e gerando a morte celular. Essa atuação da medicação na membrana só é possível devido à ligação da droga com o ergosterol que faz parte da composição da membrana (Tello et al., 2020 e Fumagalli; Coelho, 2015).

A anfotericina B provoca muitos efeitos colaterais graves como alterações cardíacas, nefrotoxicidade, hemólise, febres, náuseas e lesões hepáticas. (Fumagalli; Coelho, 2015) E apresentam baixa eficácia no tratamento da LVC pois apesar de induzirem uma remissão dos sinais clínicos nos cães, ela não previne as recaídas desses animais além da Organização Mundial de Saúde desincentivar o uso da anfotericina B a fim de evitar o surgimento de cepas resistentes que possam afetar os seres humanos (Oliveira; Mazillo; Pagão, 2004 e Tello et al., 2020).

- Desoxicolato de anfotericina B:

O desoxicolato de anfotericina B foi a formulação inicial desse componente, porém, devido a sua toxicidade houve uma necessidade de reformular essa

composição com o objetivo de reduzir os efeitos de nefrotoxicidade sem perder a eficácia antifúngica do componente, criando a partir desse princípio as formulações lipossomais de anfotericina B. (Stone et al., 2016)

- Formulações Lipossomais de anfotericina B:

As formulações lipossomais de anfotericina B são estruturas em formatos esféricos contendo um núcleo aquoso e uma bicamada lipídica em seu envolto. Os lipossomas conferem uma propriedade na farmacocinética da droga pois auxilia na potencialização da atividade antifúngica e ocasiona uma redução na toxicidade do composto ativo (Stone et al., 2016).

5.3.2. Antimoniato de meglumina

O antimoniato de meglumina é um medicamento à base do antimonial pentavalente, sendo um dos medicamentos licenciados na Europa para o uso terapêutico dos cães que são positivos para a LVC. (Santos et al., 2019 e Gallego et al., 2009) O mecanismo de ação desse composto ainda não é totalmente compreendido, porém, estudos relatam que este fármaco atua no metabolismo do agente da *Leishmania* inibindo de forma seletiva a glicólise e a fosfofrutoquinase e subsequente ocasiona a redução da produção da adenosina trifosfato (ATP) (Selitto et al., 2022).

O uso do fármaco provoca uma acentuada diminuição na carga parasitária dos cães (Torres et al., 2011 e Mana et al., 2015) e os efeitos adversos que podem ocorrer com o uso do antimoniato de meglumina são dor e edema no local em que foi realizada a administração da injeção, nefrotoxicidade e sinais gastrointestinais (Farca et al., 2012 e LeishVet, 2022).

5.3.3. Aminosidina (paromicina)

A aminosidina (paromicina) é um aminoglicosídeo que possui propriedades antibiótica e leishmanicida (Kasabalis et al., 2019 e Reguera et al., 2016) Esse fármaco possui como forma de atuação a inibição da subunidade 30 S ribossomal do

patógeno, ocasionando desta forma a inibição da síntese proteica (Kasabalis et al., 2020 e Reguera et al., 2016).

O uso desta droga nos cães apresentou reduções nas cargas parasitárias, melhora clínica e clínico patológica, demonstrando uma boa eficácia no tratamento da LVC. (Kasabalis et al., 2020 e Kasabalis et al., 2019) Contudo a ocorrência de nefrotoxicidade e ototoxicidade são efeitos adversos relacionados ao uso dose-dependente dessa substância (Kasabalis et al., 2019).

5.3.4. *Estibogluconato de sódio*

O estibogluconato de sódio pertence à classe dos antimoniais pentavalentes, esse composto atua bloqueando o metabolismo do parasito através da inibição da síntese da adenosina trifosfato (ATP) e da replicação do DNA, o que determina a morte desse agente etiológico (Pasa et al., 2005 e Buchini et al., 2021).

O tratamento com esta medicação apresenta uma eficácia na redução dos sinais clínicos (Buchini et al., 2021), entretanto oferece muitos efeitos adversos como calafrios, salivação, vômitos, diarreias mucosas que evoluem para diarreias sanguinolentas e desconforto respiratório. Contudo todos os efeitos regrediram após oito horas da administração do fármaco nos cães em estudo (Nieto et al., 2003).

5.3.5. *Marbofloxacina*

A marbofloxacina é uma fluoroquinolona sintética de terceira geração que foi criada para o uso veterinário. Ela é usualmente utilizada na terapêutica como um antibiótico de amplo espectro, porém também demonstra efeito eficaz nos tratamentos antiparasitários e antitumorais (Vouldoukis et al., 2006) (Farca et al., 2012) (Reguera et al., 2016).

Essa droga atua inibindo as topoisomerasas bacterianas do tipo II que também são denominadas de DNA girase, e devido ao agente etiológico da leishmaniose visceral canina ter uma estrutura genômica semelhante com os das

bactérias essa medicação atua diretamente nesses agentes patogênicos (Rougier et al., 2008).

A eficácia desta droga tem sido demonstrada no seu efeito de remissão dos sinais clínicos principalmente em sintomas como a onicogrifose, linfadenomegalia e esplénomegalia, entretanto apesar de não ocasionar a cura parasitológica do cão a marbofloxacina apresenta uma redução na carga parasitária. (Reguera et al., 2016 e Rougier et al., 2008) Como efeitos adversos essa medicação pode gerar diminuição do apetite e vômitos (Rougier et al., 2012).

5.3.6. Miltefosina

A miltefosina cujo princípio ativo é a hexadecilfosfocolina foi originalmente classificada como uma droga antitumoral (Nogueira et al., 2019).

O uso como medicação leishmanicida nos tratamentos de cães com LV iniciou no Brasil no ano de 2016, quando o Ministério da Saúde em conjunto com o Mapa autorizaram o registro e comercialização desta droga como o primeiro fármaco voltado para propósitos com fins terapêuticos para a espécie canina através do medicamento Milteforan® (Gonçalves et al., 2019 e Nogueira et al., 2019)

O mecanismo de ação leishmanicida do composto da miltefosina ainda não está completamente esclarecido (Santos et al., 2019 e Dias et al., 2020), porém ensaios clínicos relatam que a droga afeta na biossíntese do glicosil fosfatidil inositol que é considerado um receptor chave para a sobrevivência intracelular dos agentes etiológicos da *Leishmania* (Nogueira et al., 2019).

E além dessa ação, outra síntese que fica comprometida são as das glicoproteínas e glicolipídios que ficam localizadas na membrana celular do protozoário e podem ocasionar uma apoptose celular (Nogueira et al., 2019).

Outro estudo mais recente já aborda que as ações leishmanicidas deste medicamento estão na inibição da síntese da membrana plasmática do agente etiológico ocasionando uma interrupção nas vias de sinalização que eram emitidas por esta membrana (Dias et al., 2020).

A droga pode ser utilizada como monoterapia ou associada a outro medicamento cujo a principal associação utilizada é com o uso do alopurinol, pois este manejo proporciona maior eficácia no protocolo terapêutico dos animais diagnosticados com a doença (Dias et al., 2020).

A utilização desta droga possui risco de gerar resistência do parasito e é possível ocorrer resistências cruzadas com outras medicações como a anfotericina B já que ambas substâncias atuam na membrana plasmática do agente etiológico e essas modificações na membrana são sugeridas como mecanismos que possam ocasionar resistência (Gonçalves et al., 2021 e Kumar et al., 2008).

A eficácia na miltefosina promove a redução da infectividade do cão e a melhora dos sinais clínicos (Nogueira et al.,2019). Em contrapartida como efeitos adversos este medicamento pode ocasionar nos cães manifestações clínicas como diarreias, vômitos, perda de apetite e dores abdominais que tendem a regredir com alguns dias após o uso da medicação (Iarussi et al.,2020 e Leishvet; 2022).

5.4. Drogas Leishmanioestáticos

5.4.1. Alopurinol

O alopurinol é uma substância leishmanioestática (Gonçalves et al., 2021) sendo a medicação mais utilizada na terapia em combinação com medicamentos como a miltefosina ou com os antimoniais pentavalentes. Essa medicação também é considerada a de primeira linha para tratamentos a longo prazo nas terapias da leishmaniose visceral canina (Landau et al., 2016).

O alopurinol é uma substância química análoga à purina, e a sua atividade antileishmania é atribuída ao seu mecanismo inibidor da enzima hipoxantina-guanina fosforribosil transferase. Essa enzima é responsável por transformar as purinas desfosforiladas do parasita em monofosfato de nucleosídeos, e a presença do alopurinol interfere nessa transformação pois ele é integrado aos ácidos nucleicos o que ocasiona a interrupção da tradução e síntese da proteína levando a morte do parasito (Landau et al. ,2016 e Reguera et al., 2016).

A eficácia do alopurinol está associada quando utilizado com outras drogas medicamentosas, pois ocasiona a redução da replicação dos parasitas e proporciona uma melhora nos sinais clínicos dos animais infectados (Nascimento et al.,2020). Como efeitos colaterais, o alopurinol pode causar urolitíase por xantina, nefrolitíase e mineralização renal (LeishVet; 2022 e Dias et al., 2020).

5.5. *Imunomoduladores*

5.5.1. *Domperidona*

A domperidona é um imunomodulador derivado do benzimidazol.Usualmente a domperidona é um medicamento utilizado com funções antieméticas, para o aumento da produção de leite e desempenham uma ação de estimulação dos movimentos peristálticos nos seres humanos (Travi; Miró, 2018).

Na área da medicina veterinária esse fármaco também pode ser utilizado como medicação pró-cinética gástrica, mas o uso da domperidona também está correlacionado no tratamento da LVC, ao melhorar a resposta imune celular específica da *Leishmania* e ao reduzir os sinais clínicos apresentados pelos animais doentes (Pereira et al., 2022 e Travi; Miró, 2018).

O mecanismo de ação nos casos de cães sororreagentes para leishmania está no efeito dessa droga ao agir como antagonista dos receptores da dopamina e em decorrência disto a droga gera um aumento na prolactina no organismo do animal, essa prolactina é considerada uma citocina pró inflamatória que ativa a resposta imune Th1 aumentando a produção de interferon (IFN- γ),interleucina (IL 2) e fator de necrose tumoral (TNF- α) em que essas citocinas ativam as células natural killer e os macrófagos desencadeados nessa resposta imune diminuem a resposta Th2 (Travi; Miró, 2018 e Cavaleira et al., 2021).

A susceptibilidade ou resistência do cão a leishmaniose visceral canina pode ser influenciada pelo tipo de resposta imune adaptativa estimulada. Nos cães diagnosticados com a doença pode ser observado a resposta imune do tipo celular e/ou humoral, Th1 ou Th2 respectivamente. Porém os casos que contêm os cães demonstrando uma resistência para a doença, geralmente estão correlacionados a

estes casos a estimulação da resposta imune Th1, sendo esta a resposta induzida pelo fármaco domperidona (Brodskyn; Kamhawi, 2018).

Essa medicação não possui atividade direta contra o parasita, o que não acarreta o risco do desenvolvimento de resistência ao antígeno contra essa droga (Travi; Miró, 2018).

A eficácia terapêutica da domperidona está relacionada na redução dos sinais clínicos nos casos de cães infectados que eram sintomáticos e no decaimento de níveis de anticorpos antileishmania (Pereira et al., 2022). E como principal efeito adverso encontrado com o uso desse medicamento está a manifestação de galactorreia e poliúria (Leishvet, 2022).

5.6. Imunoterápicos

Os imunoterápicos são substâncias ou moléculas biológicas que possuem como função a modulação da resposta imune com a finalidade de alcançar como resultado o sucesso terapêutico do paciente (Gonçalves et al., 2019).

As terapias vacinais são medidas consideradas pertencentes a esse protocolo de imunoterapia e de acordo com a Organização Mundial da Saúde é o melhor método para ser utilizado em doenças com características vetoriais como é o caso da Leishmaniose visceral (Gonçalves et al., 2019). Para os humanos ainda não existe uma terapia vacinal implementada para essa patologia, porém para os cães domésticos possui a existência de quatro vacinas que já foram comercializadas voltadas para os protocolos terapêuticos preventivos da leishmaniose visceral canina (Velez, Gallego; 2020).

As vacinas produzidas no Brasil foram a Leishmune® e Leish-Tec® e na Europa foram a CaniLeish® e LetiFend® (Velez, Gallego, 2020).

As atribuições que as vacinas contra a LVC podem proporcionar aos cães, são uma proteção interna específica contra os patógenos dessa doença e a promoção de uma imunidade mais forte aos animais imunizados (Moreno, 2019).

5.6.1. Vacina Leishmune®

A vacina Leishmune® foi a primeira vacina desenvolvida e comercializada no Brasil, sendo implementada no ano de 2004, porém, em virtude de não possuir provas que comprovem a sua eficácia no terceiro ensaio esse direito da licenciatura e comércio foram revogadas (Velez; Gallego, 2020).

A vacina era composta pelo ligante fucose manose (FML) que era a parte da composição retirada do antígeno em conjunto com o adjuvante da saponina (Velez, Gallego; 2020 e Leishvet; 2022). Esses adjuvantes têm como função potencializar a eficácia da vacina ao possuírem mecanismos capazes de estimular células imunes específicas que desencadeiam as respostas imunes adaptativas e inatas aperfeiçoadas (Moura, Lima, Cruz; 2018).

O protocolo de vacinação era realizado utilizando 3 doses da vacina com um intervalo entre as doses de um período de 21 dias, e a revacinação continuava sendo realizada anualmente (Leishvet, 2022).

A eficácia da vacina como forma de prevenção foi conduzida através de dois ensaios de campo em áreas endêmicas em que como resultado obtiveram a soroconversão e reação DTH positivo, mas em virtude da falta de randomização das amostras e critérios não elucidados para identificar cães doentes impediram a validação dos resultados (Velez; Gallego, 2020).

5.6.2. Vacina Leish-Tec®

A vacina Leish-Tec é a única autorizada no Brasil sendo licenciada no ano de 2007, a sua composição é baseada na proteína recombinante A2 utilizando como adjuvante vacinal a saponina (Velez; Gallego, 2020 e Moreno, 2019).

O protocolo de vacinação consiste em 3 doses com intervalo de 21 dias seguidos por doses de reforço anuais, administrados por via subcutânea. Os cães autorizados para a realização do protocolo vacinal devem possuir quatro meses ou mais de idade (Velez; Gallego, 2020).

Com relação aos efeitos adversos, estudos demonstram que a vacina Leish-Tec pode ocasionar apenas dor e edema no local da aplicação da vacina, sem apresentar nenhum tipo de efeito colateral grave aos animais imunizados (Toepp et al., 2018).

5.6.3. Vacina CaniLeish®

A vacina CaniLeish é comercializada na Europa, Tunísia e Suíça. Sua composição foi produzida com proteínas secretadas e purificadas de *Leishmania Infantum* associadas com o adjuvante que é uma fração purificada da saponina denominada de *Quilaja saponaria* (QA-21) (Moreno, 2019 e Velez; Gallego, 2020).

Os animais que podem ser vacinados devem ter mais de 6 meses de idade, em que o protocolo de vacinação consiste em uma dose entre intervalos de 21 dias até totalizar três doses e depois o protocolo continua com doses de reforço anuais. Essas doses de vacinas são administradas no tecido subcutâneo do animal (Vélez; Gallego, 2020).

Os efeitos adversos associados à vacina CaniLeish foram edema no local da aplicação da vacina que evoluiu para o surgimento de crostas e alopecia na região, contudo todos os sinais clínicos obtiveram uma resolução espontânea (Velez, Gallego, 2020).

5.6.4. Vacina LetiFend®

A LetiFend foi a última vacina licenciada na Europa e diferentemente das outras vacinas fabricadas, essa não utiliza adjuvante em sua composição. Ela é uma vacina recombinante que contém de acordo com Velez e Gallego (2020, pág.5), “uma proteína quimérica (proteína Q) formada por cinco fragmentos antigênicos de quatro diferentes proteínas de *L. infantum* (proteínas ribossomais LiP2a, LiP2b e LiP0 e a histona H2A)” (Velez; Gallego, 2020).

O protocolo terapêutico é realizado apenas com uma dose da vacina, seguido com reforços anuais em cães com idade igual ou superior a 6 meses (Velez; Gallego, 2020).

Durante o estudo de pré licenciamento da LetiFend nenhum efeito adverso foi observado após o uso da vacina (Velez; Gallego, 2020).

6. CONCLUSÃO

A leishmaniose visceral canina apesar de ser uma doença antiga ela ainda gera na atualidade diversos desafios no que concerne ao diagnóstico, tratamento e controles. Devido a essas situações, o principal objetivo dos tratamentos nos dias atuais consiste em proporcionar um bem estar na vida do animal realizando a melhora do quadro clínico, restaurando a melhora do sistema imunológico e reduzindo a carga parasitária presente no organismo desses cães doentes. No Brasil a única opção de tratamento disponível e regulamentada ainda é com o uso da droga miltefosina e devido à falta de outras propostas terapêuticas se faz necessário estudos com novas substâncias que não tiveram suas propriedades testadas e mais ensaios clínicos com os compostos avaliados a fim de implementar e aumentar novas opções de terapias medicamentosas para o tratamento da LVC.

REFERÊNCIAS

Alves EB. et al. Effectiveness of insecticide-impregnated collars for the control of canine visceral leishmaniasis. **Prev Vet Med.** Setembro de 2020.

BATISTA, et al. “Leishmaniose canina: análise de todo o genoma e resposta de anticorpos à saliva de *Lutzomyia longipalpis*.” **PloS one.** v. 13, n 5. Maio de 2018.

BRODSKYN, Claudia I, and Shaden Kamhawi. “Biomarcadores para Leishmaniose Visceral Zoonótica na América Latina”. **Fronteiras em microbiologia celular e de infecção.** Vol. 8, 245. 26 de Julho de 2018. Acesso em: 24 de abril de 2022.

CARDOSO L., et al. Novos aspectos epidemiológicos da leishmaniose animal na Europa: o papel dos hospedeiros vertebrados além dos cães. **PubMed**, Suíça, v. 10, n. 3, p. 1-44, março de 2021. Acesso em: 5 de junho 2022.

CACHEIRO C., et al. Papel dos Imunocomplexos Circulantes na Patogênese da Leishmaniose Canina: Novos Jogadores no Desenvolvimento de Vacinas. **Microorganismos.** 2021. Acesso em 5 de junho 2022.

DANTAS TORRES., et al. Culling Dogs for Zoonotic Visceral Leishmaniasis Control: The Wind of Change. **Trends in Parasitology.** Novembro de 2018.

DOS SANTOS NOGUEIRA, F., et al. “Uso de miltefosina no tratamento da leishmaniose visceral canina causada por *Leishmania infantum* no Brasil”. **Parasitas e vetores.** v. 12, n. 1 p. 79. Fevereiro de 2019.

GÁVEZ, R., et al. “Últimas tendências na infecção por *Leishmania infantum* em cães na Espanha, Parte I: soroprevalência mapeada e distribuição de flebotomíneos.” **Parasitas e vetores.** v. 13, n. 1 p. 204. 2020.

Gálvez, R., Montoya, A., et al. Controlling phlebotomine sand flies to prevent canine *Leishmania infantum* infection: A case of knowing your enemy. **Veterinary Science,** 121, 94–103. Fevereiro de 2018.

Kumar, Dhiraj et al. “Suscetibilidade in vitro de isolados de campo de *Leishmania donovani* à miltefosina e anfotericina B: correlação com a suscetibilidade ao gluconato de antimônio de sódio e implicações para o tratamento em áreas de endemicidade.” **Agentes antimicrobianos e quimioterapia.** v. 53, n 2. 2009.

L, M. *et al.* Acompanhamento a longo prazo de cães com leishmaniose tratados com antimoníato de meglumina mais alopurinol versus miltefosina mais alopurinol. **PubMed**, Itália, v. 10, n. 8, p. 289-294, Maio de 2015. Disponível em:

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4458061/>. Acesso em: 13 de junho de 2022.

Leite, B., et al. “O uso em massa de colares de deltametrina para controlar e prevenir a leishmaniose visceral canina: um estudo de eficácia de campo em uma área altamente endêmica.” **PLoS doenças tropicais negligenciadas**. v. 12 cap. 5. 14 de maio de 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5993122/>. Acesso em: 14 de junho.2022.

NAJAFI, AL. *et al.* Avaliação molecular e sorológica da leishmaniose visceral zoonótica em cães em uma área rural da província de Fars, sul do Irã, como fonte de infecção por *Leishmania infantum*. **PubMed**, Irã, v. 7, n. 4, p. 1082-1089, setembro de 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8294383/>. Acesso em: 10 junho de 2022.

MONTAYA, A et al. “Últimas tendências na infecção por *L. infantum* em cães na Espanha, Parte II: manejo clínico atual e controle de acordo com uma pesquisa nacional de médicos veterinários.” **Parasitas e vetores** v. 13, n 1 p. 205. Abril de 2020.

NAVETTE, TM et al. “Após a infecção com *Leishmania infantum*, os Hamsters Dourados (*Mesocricetus auratus*) tornam-se mais atraentes para as fêmeas de flebotomíneos (*Lutzomyia longipalpis*).” **Relatórios científicos**. v. 7, n. 1. 2017.

NOGUEIRA, F. D. S. *et al.* Uso da miltefosina no tratamento da leishmaniose visceral canina causada por *Leishmania infantum* no Brasil. **PubMed**, Brasil, v. 1, n. 10, p. 104-105, Setembro de 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32759025/>. Acesso em: 13 junho 2022.

SANTOS *et al.* Antimoniato de meglumina e miltefosina combinados com alopurinol sustentam ambientes imunológicos pró-inflamatórios durante o tratamento da leishmaniose canina. **Fronteiras na ciência veterinária**. PubMed, Brasil, v. 1, n. 6, p. 362-367, outubro de 2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6813190/>. Acesso em: 13 de junho de 2022.

SEVÁ; PAIXÃO, Anaiá Da. Investigação da leishmaniose visceral canina em área não endêmica no Brasil e comparação de testes diagnósticos sorológicos e moleculares. Silva, Kleverton Ribeiro da et al. “A pontuação dos sinais clínicos pode ajudar a diagnosticar a leishmaniose visceral canina em uma área altamente endêmica no Brasil.” **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 112, n. 1 p. 53-63. Janeiro de 2017.

SHELBY, et al. “Atração aprimorada de vetores de flebotomíneos de *Leishmania infantum* para cães infectados com leishmaniose visceral zoonótica.” **PLoS doenças tropicais negligenciadas** v. 15,n 7. Julho de 2021.

PEREIRA, M, A., et al. “Uma pesquisa baseada em questionário sobre o manejo a longo prazo da leishmaniose canina por médicos veterinários”. **Animais: uma revista de acesso aberto do MDPI**. v. 12, n 6 p. 731. Março de 2022.

PRESTES, L., E et al. “Análise espaço-temporal e fatores de risco ambientais da leishmaniose visceral em um ambiente urbano no Estado de São Paulo, Brasil”. **Parasitas e vetores**. v. 12, n. 1 p. 251. Maio de 2019.

Revista da Sociedade Brasileira. Brasil, v. 54, n. 1, p. 1-7, Setembro de 2021. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8437447/>. Acesso em: 11 de junho de 2022.

RODRIGUES, L., et al. “Leishmaniose visceral zoonótica: novos insights sobre a resposta imune innata por macrófagos sanguíneos e células de Kupffer do fígado aos parasitas de *Leishmania infantum* ”. **Biologia**. v. 11, n 1 p. 100. Janeiro de 2022.

Rougier, S., Hassani, L., et al. Acompanhamento clínico e parasitológico de um ano de cães tratados com marbofloxacino para leishmaniose canina. **Parasitologia Veterinária**, v. 186, n 3, p. 245-253. 2012.

Sevá, T., et al. “Quanto custa prevenir e controlar a leishmaniose visceral no Brasil? Comparando diferentes medidas em cães.” **PloS one**. v. 15. Junho de 2020.

SILVA, K., et al. “A pontuação dos sinais clínicos pode ajudar a diagnosticar a leishmaniose visceral canina em uma área altamente endêmica no Brasil.” **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 112, n. 1 p. 53-63. Janeiro de 2017.

Solano-Gallego, Laia et al. “Diretrizes LeishVet para o manejo prático da leishmaniose canina.” **Parasitas e vetores**. v. 4 ,p.86. Maio de 2011.

TRAVI, B., et al. “Leishmaniose visceral canina: diagnóstico e manejo do reservatório que vive entre nós”. **PLoS doenças tropicais negligenciadas**. v.12, n 1. Janeiro de 2018.

