



Centro Universitário de Brasília - CEUB
Faculdade de Ciências da Educação e Saúde - FACES

ANA CAROLINA DE SOUZA VERGARA

**ATUALIZAÇÃO DAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS À LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA**

Brasília - DF
2023

ANA CAROLINA DE SOUZA VERGARA

**ATUALIZAÇÃO DAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS À LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA**

Monografia apresentada à Faculdade de
Ciências da Educação e Saúde para obtenção
do grau de bacharel em Medicina Veterinária.
Orientador: Prof. Msc. Lucas Edel Donato

Brasília - DF
2023

ANA CAROLINA DE SOUZA VERGARA

**ATUALIZAÇÃO DAS ABORDAGENS TERAPÊUTICAS À LEISHMANIOSE
VISCERAL CANINA**

Monografia apresentada à Faculdade de
Ciências da Educação e Saúde para obtenção
do grau de bacharel em Medicina Veterinária.
Orientador: Prof. Msc. Lucas Edel Donato

Brasília, 6 de dezembro de 2023

Banca examinadora

Prof. Msc. Lucas Edel Donato

Orientador

Prof. Dr. Emanuel Elzo Leal de Barros

Examinador

Prof. Msc. Fabiana Sperb Volkweis

Examinadora

AGRADECIMENTOS

O desenvolvimento deste trabalho e a conclusão do curso só foram possíveis graças à ajuda e a colaboração de diversas pessoas, dentre as quais agradeço:

À minha família, que me apoiou para que pudesse realizar este sonho, especialmente minha mãe e minha avó, que além de todo o apoio me ajudaram financeiramente a concluir o curso. À minha irmã Clara, por compartilhar esse momento comigo. À minha irmã Alex, por ser tão companheira, mesmo estando tão longe. Sou profundamente grata pelo amor que recebi durante essa jornada.

Ao meu marido, Bruno, por estar ao meu lado em cada etapa do curso, por me apoiar e sempre acreditar no meu potencial. Sem sua ternura, zelo e dedicação, eu jamais conseguiria concluir esta etapa tão importante na minha formação.

Aos meus amigos que me incentivaram durante toda a jornada.

Aos meus professores, que admiro imensamente, agradeço por todos os ensinamentos, que se estenderam muito além do conteúdo do curso. Em especial, agradeço ao meu orientador Lucas, por estar presente em todas as etapas do trabalho e por ser incrivelmente paciente comigo durante todo o processo. Agradeço não só por compartilhar seu conhecimento, mas por sempre me incentivar a dar o melhor de mim.

Por fim, agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste trabalho.

RESUMO

Este trabalho tem por objetivo realizar revisão de literatura acerca da leishmaniose visceral canina, com destaque para os medicamentos utilizados no tratamento da doença, descrevendo os fármacos mais utilizados mundialmente, novas alternativas medicamentosas que vêm sendo estudadas, bem como seus efeitos adversos e limitações. A terapia medicamentosa tem como objetivo a redução da carga parasitária e a remissão dos sinais clínicos, além de dificultar a continuidade do ciclo de transmissão. No Brasil, é proibida a utilização de medicamentos de uso humano e não registrados no Ministério da Agricultura e Pecuária para o tratamento veterinário. Até o momento, apenas um medicamento foi registrado para o tratamento da doença em cães. O manejo terapêutico da LVC é desafiador, pois não atinge a cura parasitológica, ademais, recidivas são relativamente comuns. Há diversos estudos sugerindo a utilização de novos medicamentos no tratamento da doença, entretanto é necessário que esses medicamentos sejam registrados no Brasil para uso específico no tratamento da LVC, acompanhados de ensaios clínicos realizados no país.

Palavras-chave: Leishmania infantum; Miltefosina; Marbofloxacin leishmaniose canina; Terapia leishmaniose canina; Tratamento leishmaniose canina;

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 OBJETIVOS.....	3
2.1 Objetivo Geral.....	3
2.2 Objetivos Específicos.....	3
3 METODOLOGIA.....	3
4 REVISÃO DE LITERATURA.....	5
4.1 Contexto histórico da Leishmania.....	5
4.1.1 Contexto histórico da LV no Brasil.....	6
4.1.2 Urbanização.....	7
4.2 Agente etiológico.....	7
4.2.1 Formas evolutivas.....	7
4.3 Vetor.....	8
4.4 Ciclo de transmissão.....	8
4.5 Patogenia.....	9
4.5.1 Infecção inicial.....	9
4.5.2 Resposta imune inata.....	10
4.5.3 Resposta imune adaptativa.....	11
4.6 Sinais clínicos.....	11
4.6.1 Achados laboratoriais.....	13
4.7 Diagnóstico.....	14
4.7.1 Diagnóstico sorológico.....	14
4.7.2 Diagnóstico parasitológico.....	15
4.7.3 Diagnóstico molecular.....	16
4.8 Estadiamento clínico.....	16
4.9 Manejo terapêutico de cães com leishmaniose visceral.....	18
4.9.1 Legislação brasileira sobre o tratamento da LVC.....	18
4.9.1.1 Portaria Interministerial nº 1.426 de 11 de julho de 2008.....	18
4.9.1.2 Nota Técnica Conjunta nº 11/2016.....	18
4.9.2 Protocolos de tratamento.....	19
4.9.3 Medicamentos leishmanicidas.....	19
4.9.3.1 Miltefosina.....	19
4.9.3.2 Antimoniato de meglumina.....	21
4.9.3.3 Anfotericina B.....	24
4.9.3.4 Aminosidina (Paromomicina).....	25
4.9.3.5 Marbofloxacina.....	27
4.9.3.6 Artesunato.....	30
4.9.4 Medicamentos leishmaniostáticos.....	32
4.9.5 Medicamentos imunomoduladores.....	34

4.9.6 Imunoprofilaxia.....	36
4.9.7 Limitações.....	37
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	37
REFERÊNCIAS.....	39

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são um conjunto de doenças de caráter antroponóico causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e têm transmissão vetorial através de flebotomíneos (OPS, 2023). Essas afecções figuram entre as chamadas doenças tropicais negligenciadas, um termo que abarca enfermidades predominantes em regiões tropicais e afetam, principalmente, populações em situação de vulnerabilidade socioeconômica. No Brasil, observa-se a circulação dos agentes responsáveis pela leishmaniose visceral (LV) e leishmaniose tegumentar (LT) sendo consideradas endêmicas no território, assumindo um papel de significativa importância no âmbito da saúde pública (PAHO, 2022).

A LV é a apresentação mais grave das infecções causadas por esses protozoários e pode apresentar letalidade de aproximadamente 90% quando não tratada. No Brasil, a espécie causadora da LV é a *L. infantum*, que, de acordo com Silva *et al.* (2023), também é a causadora da leishmaniose visceral canina (LVC). A *L. infantum* completa seu ciclo em dois hospedeiros, sendo em um invertebrado denominado flebotomíneo, que transmite a forma infectante promastigota, e um mamífero, onde a forma amastigota se desenvolve (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 201; BAXARIAS *et al.*, 2023). Duas espécies de flebotomíneos são consideradas vetores do *L. infantum* no país, a *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, popularmente chamadas de mosquito-palha, birigui, tatuquiras, cangalinha, entre outras nomenclaturas (BRASIL, 2020).

A evolução da LVC, em sua maioria, é lenta e gradual, no entanto alguns cães podem manifestar uma forma aguda e mais grave da afecção. Os sinais clínicos são variados e muitas vezes inespecíficos, com potencial de ocorrer em qualquer órgão. A progressão da doença e os sinais apresentados estão ligados à resposta imune individual, que, por sua vez, depende de diversos fatores genéticos, nutricionais, de virulência da cepa, histórico de exposição prévia, imunização, idade, entre outros fatores (BRASIL, 2020).

Em julho de 2008, foi publicada a Portaria Interministerial n. 1.426, que proíbe a utilização de medicamentos de uso humano e não registrados no Ministério da Agricultura e Pecuária (MAPA) para o tratamento da LVC. A mesma portaria estabeleceu critérios que permitiriam o registro de medicamentos para tratamento veterinário (BRASIL, 2008). Em 2016, foi registrado o primeiro medicamento veterinário destinado ao tratamento da leishmaniose visceral canina, por meio da Nota Técnica conjunta n. 11/16 permitindo a utilização do MilteforanTM, cujo princípio ativo é a miltefosina. A nota técnica mencionada

esclarece também que esse medicamento não é empregado no manejo da leishmaniose visceral humana, e que o tratamento da LVC não é uma medida utilizada para o controle da saúde pública (BRASIL, 2016). Em países onde ocorre a transmissão zoonótica como no Brasil, há outros medicamentos disponíveis para o tratamento da LVC, dentre eles o antimoniato de meglumina, a aminosidina, a marbofloxacina e a anfotericina B (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022).

A anfotericina B é um antibiótico com ação antifúngica e que também interfere na permeabilidade da membrana celular de microrganismos (SPINOSA, 2017). Embora a eficácia leishmanicida desse medicamento seja bem estabelecida, sua utilização tem diminuído devido aos efeitos nefrotóxicos, à necessidade de administração intravenosa em ambiente hospitalar e ao custo elevado. Por fim, seu uso na medicina veterinária é desaconselhado pela Organização Mundial da Saúde devido à possibilidade de resistência do protozoário ao fármaco (REGUERA *et al.*, 2016).

Antimoniais pentavalentes, como o antimoniato de meglumina, são amplamente utilizados no tratamento da LVC em outros países, constando nos guidelines de tratamento como medicamento de primeira escolha (LEISHVET, 2022). Sua ação inibe a glicólise e a oxidação de ácidos graxos da *L. infantum*, apresentando efeito leishmanicida. Entretanto, seu uso como monoterapia aumenta as chances de recidiva durante o período de seis meses a um ano após o tratamento e é menos efetivo na redução da carga parasitária se comparado à sua associação com alopurinol (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Dentre os medicamentos descritos anteriormente, a marbofloxacina é considerada uma droga alternativa no tratamento da LVC. Essa droga antimicrobiana é classificada como uma fluoroquinolona de terceira geração destinada ao uso veterinário, demonstra eficácia contra um amplo espectro de bactérias gram-positivas e gram-negativas. A similaridade estrutural genômica entre *L. infantum* e bactérias levantou a possibilidade de empregar essa substância no tratamento da LVC, já que a droga apresenta atividade leishmanicida (ROUGIER *et al.*, 2008; PINEDA *et al.*, 2017). A maioria dos tratamentos empregados atualmente pode acarretar efeitos adversos de relevância, muitas vezes associados a complicações renais e gastrointestinais. Considerando a alta incidência de doença renal em animais com LVC, a busca por novas drogas com efeitos adversos mais brandos e que não agridam os rins assume um papel de grande importância. Nesse contexto, devido a sua menor tendência a afetar os rins em comparação a outras substâncias terapêuticas atualmente empregadas, têm-se realizado pesquisas *in vitro* e *in vivo* com o objetivo de avaliar a viabilidade de utilização da marbofloxacina no tratamento da LVC. Em estudo com cães com doença renal crônica e LVC,

a marbofloxacina resultou em diminuição da sintomatologia clínica e não demonstrou nefrotoxicidade quando comparada a outros medicamentos utilizados no protocolo de tratamento da doença (PINEDA *et al.*, 2017). No acompanhamento de pacientes submetidos a tratamento de um ano com marbofloxacina, observou-se uma melhora nos sinais clínicos em aproximadamente 70% dos casos (ROUGIER *et al.*, 2012). Devido aos resultados promissores no tratamento da LVC e aos poucos efeitos adversos apresentados, a marbofloxacina emerge como uma potencial alternativa terapêutica para essa enfermidade. (NASCIMENTO, 2019).

Diante da complexidade que envolve o tratamento da LVC, torna-se necessária a realização de revisão bibliográfica que englobe os diferentes medicamentos utilizados no tratamento da afecção.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Realizar revisão de literatura acerca da LVC, com destaque para os medicamentos utilizados no tratamento da doença.

2.2 Objetivos Específicos

1. Descrever o contexto histórico da LVC;
2. Abordar os principais aspectos da doença;
3. Descrever os fármacos mais utilizados no tratamento da doença;
4. Explorar a eficácia e os efeitos adversos desses medicamentos;

3 METODOLOGIA

Para esta revisão do tipo narrativa, foram utilizados trabalhos provenientes de diversas plataformas de busca, incluindo *PubMed*, *Scielo*, *Google Scholar* e *Cochrane*. Adicionalmente, foram consultadas bases de dados de universidades com o intuito de identificar trabalhos de mestrado e doutorado que abordassem o tema e também foram consultados livros que apresentam contribuições literárias de importância.

A organização e gerenciamento dos artigos foram realizados por meio do aplicativo Zotero. A seleção dos artigos foi pautada em critérios de relevância e atualidade, priorizando publicações no intervalo entre 2016 e 2023. Entretanto, artigos mais antigos foram incluídos devido ao seu valor histórico e à sua contribuição significativa para o entendimento do tema, especialmente quando não foram identificados trabalhos mais recentes sobre o mesmo assunto. No total, foram analisadas 256 publicações, das quais 96 foram utilizadas, entre artigos, livros e trabalhos acadêmicos.

Foram empregados termos de busca específicos, tais como "canine leishmaniasis OR leishmaniosis", "canine leishmaniasis miltefosine", "leishmaniose canina", "leishmaniasis history", "*Lutzomyia longipalpis*", "*Lutzomyia cruzi*", "urbanização leishmaniose", "pharmacokinetics miltefosine", "pharmacokinetics marbofloxacin", "marbofloxacin leishmaniasis", "paromomycin leishmaniasis" e "artesunate canine leishmaniasis" (quadro 1).

Quadro 1: Síntese de alguns termos utilizados na pesquisa, com seus respectivos locais de busca, número de artigos encontrados e número de artigos baixados

Local da pesquisa	Palavra-chave	Número de artigos encontrados	Número de artigos baixados
PubMed	Canine leishmaniosis miltefosine	58	21
E-disciplinas USP	Leishmaniose canina	23	10
Scielo	Leishmaniose história	19	1
PubMed	<i>Lutzomyia longipalpis</i>	1042	3
PubMed	<i>Lutzomyia cruzi</i>	60	2
PubMed	<i>Leishmania</i> morphology 2015 - 2023	1388	4
PubMed	Leishmaniasis history 2017 - 2023	329	4
PubMed	Vl immunology 2018-2023	787	3
Scholar	Urbanização da leishmaniose (a partir de 2019)	1770	1
PubMed	Pharmacokinetics miltefosine 2012-2023	97	4
PubMed	Marbofloxacin pharmacokinetics	25	5
PubMed	Marbofloxacin leishmaniasis	5	3

	OR leishmaniosis		
PubMed	Pharmacokinetics marbofloxacin dogs	25	5
PubMed	Marbofloxacin leishmaniasis	5	4
PubMed	Paromomycin canine leishmaniosis	18	5
PubMed	History quinolones	1280	2
PubMed	Marbofloxacin canine leishmaniasis	5	5
PubMed	Artesunate canine leishmaniasis	1	1
PubMed	Artesunate 2011 - 2023	2549	2
PubMed	Canine leishmaniasis allopurinol	80	17

4 REVISÃO DE LITERATURA

4.1 Contexto histórico da *Leishmania*

A existência de protozoários semelhantes aos da *Leishmania* em tempos pré-históricos foi documentada através do descobrimento de dois fósseis. O primeiro foi encontrado preservado na probóscide de um flebotomíneo que viveu há cerca de 100 milhões de anos (TUON, 2008). Em seu interior, havia promastigotas e amastigotas, indicando que o inseto havia realizado repasto sanguíneo em um animal vertebrado, no caso, um réptil. O segundo fóssil possui cerca de 20 a 30 milhões de anos e, semelhante ao primeiro fóssil encontrado, foram identificadas formas promastigotas e amastigotas do protozoário. Essas evidências apontam que o gênero *Leishmania* provavelmente começou seu desenvolvimento na era Mesozóica, antes da divisão da Pangeia (STEVERDING, 2017).

Foram encontrados registros descrevendo lesões semelhantes às causadas pela leishmaniose do tipo cutânea em documentos de 2500 a 1500 AC, e um estudo realizado em múmias egípcias encontrou DNA mitocondrial de *Leishmania* em quatro das 42 amostras analisadas (AKHOUNDI *et al.*, 2016).

Ainda de acordo com Akhoundi *et al.* (2016) e Steverding (2017), há evidências de leishmaniose tegumentar na América do Sul no primeiro século d.C encontradas amostras no Equador, no Peru e no Chile.

No que tange a LV, Gibson (1983) afirma não haver registros científicos concretos anteriores ao século 19. Um dos primeiros registros recuperados foi um artigo publicado em 1827, pelo cirurgião William Twining, em que são descritos pacientes indianos apresentando febre intermitente, anemia e esplenomegalia.

Em 1900, o patologista escocês William Boog Leishman identificou corpos ovóides em uma amostra de baço de um paciente com esplenomegalia. O pesquisador acreditou se tratar de tripanossomas degenerados e deu o nome de "febre Dum-dum" à doença. Poucas semanas depois, o médico irlandês Charles Donovan publicou um artigo relatando também ter encontrado corpos ovóides em amostras de corpos com esplenomegalia. Em 1903 foi descrito que as amostras encontradas não pertenciam a tripanossomas degenerados sendo então denominado *Leishmania donovani*, em homenagem ao pesquisador irlandês (GIBSON, 1983; AKHOUNDI *et al.*, 2016; STEVERDING, 2017).

A espécie causadora da LV, *L. infantum*, foi descrita pelo bacteriologista francês Charles Jules Henry Nicolle em 1908. No mesmo ano, seu colega Charles Comte encontrou o *L. infantum* em cães, iniciando o processo de identificação do cão doméstico como reservatório urbano do agente etiológico (STEVERDING, 2017).

4.1.1 Contexto histórico da LV no Brasil

No Brasil, o primeiro relato de LV foi descrito em 1913, durante a necrópsia de um paciente de Boa Esperança, Mato Grosso. Entretanto, a doença surgiu como um desafio à saúde pública no Brasil apenas em 1934, quando o patologista Henrique Penna identificou protozoários *Leishmania* em 41 amostras obtidas de pacientes que faleceram com suspeita de febre amarela. O primeiro caso documentado de LV em paciente vivo foi relatado em 1936 por Evandro Chagas, marcando o início das investigações sobre a doença no país (BRASIL, 2022).

De acordo com Benchimol *et al.* (2019), em 1947 foi iniciada uma campanha de combate à leishmaniose no Nordeste. Além da dedetização de domicílios, a campanha englobou a identificação, testagem e a eutanásia de animais positivados.

Em 1960, o evento Jornada sobre Calazar reuniu os principais pesquisadores envolvidos no estudo das leishmanioses no país, e foi evento-chave para a criação da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. Este evento desempenhou um papel crucial na revitalização das pesquisas relacionadas às doenças tropicais no país (BENCHIMOL *et al.*, 2019).

4.1.2 Urbanização

A LV e a LVC passaram por um processo de urbanização no Brasil. A invasão de áreas silvestres, a falta de planejamento no crescimento urbano e a precariedade das condições sanitárias, aliadas à notável capacidade de adaptação do vetor, contribuíram para a expansão da área de incidência do *L. infantum* (SILVA *et al.*, 2023).

4.2 Agente etiológico

As leishmanioses são causadas por protozoários pertencentes à família *Trypanosomatidae* e ao gênero *Leishmania* (AKHOUNDI *et al.*, 2017; BASMACIYAN; CASANOVA, 2019). No Brasil o principal agente causador da LVC é o *L. infantum*, que pode infectar diversos mamíferos. Contudo, os cães domésticos são considerados os principais reservatórios urbanos deste protozoário (BRASIL, 2020).

4.2.1 Formas evolutivas

Segundo Carter *et al.* (2022), a *L. infantum*, apresenta duas formas evolutivas distintas: a promastigota, que é flagelada e reside no sistema gastrointestinal do vetor; e a amastigota, que é intracelular, imóvel, e habita o mamífero hospedeiro. Essa alternância entre formas é crucial para o ciclo de vida do parasita e para a transmissão da doença.

A forma promastigota pode ser dividida em duas formas, uma menos móvel e mais larga é responsável pela aderência ao trato digestório do vetor. A segunda forma encontra-se livre no lúmen intestinal (LANGONI, 2016), é alongada e possui um longo flagelo em sua região posterior, que é mais afilada. Seu núcleo é arredondado ou oval e está localizado na região central da célula. O cinetoplasto, mitocôndria característica dos tripanossomatídeos, está localizado entre a extremidade anterior e o núcleo. Por outro lado, a forma amastigota tem

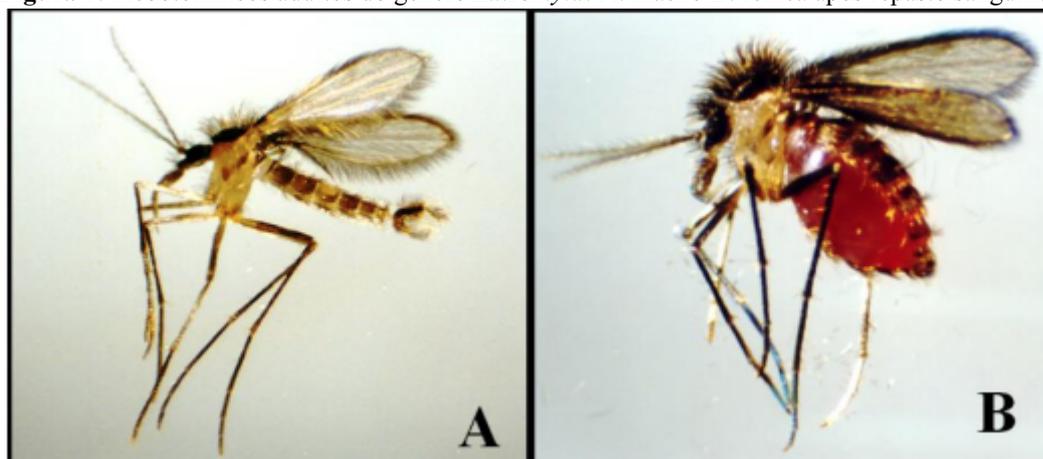
formato ovoide ou esférico e possui um flagelo interno, dentro da bolsa flagelar. Próximo a essa bolsa flagelar encontra-se o cinetoplasto, e o núcleo das amastigotas é grande e ocupa cerca de um terço do corpo do parasito (CONCEIÇÃO-SILVA; ALVES, 2014).

4.3 Vetor

A transmissão do *L. infantum* aos mamíferos ocorre através do repasto sanguíneo de insetos denominados flebotomíneos (figura 1) (KROLOW *et al.*, 2022). As fêmeas dos flebotomíneos *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, pertencentes à ordem *Diptera* e à família *Psychodidae*, são as principais responsáveis pela transmissão desses protozoários no Brasil (CASARIL *et al.*, 2021). Esses insetos, popularmente conhecidos como mosquito-palha, são pequenos, medindo cerca de 3 milímetros, alados e de vôos curtos. O desenvolvimento de suas larvas ocorre no solo úmido e em matéria orgânica, e sua atividade é crepuscular e noturna (BRASIL, 2020).

A adaptação do *Lutzomyia longipalpis* aos ambientes urbanos, juntamente com seus hábitos alimentares ecléticos, alimentando-se de diversas espécies, são características que potencializam a disseminação desses protozoários (CASARIL *et al.*, 2021).

Figura 1: Flebotomíneos adultos do gênero *Lutzomyia*. A: macho B: fêmea após repasto sanguíneo



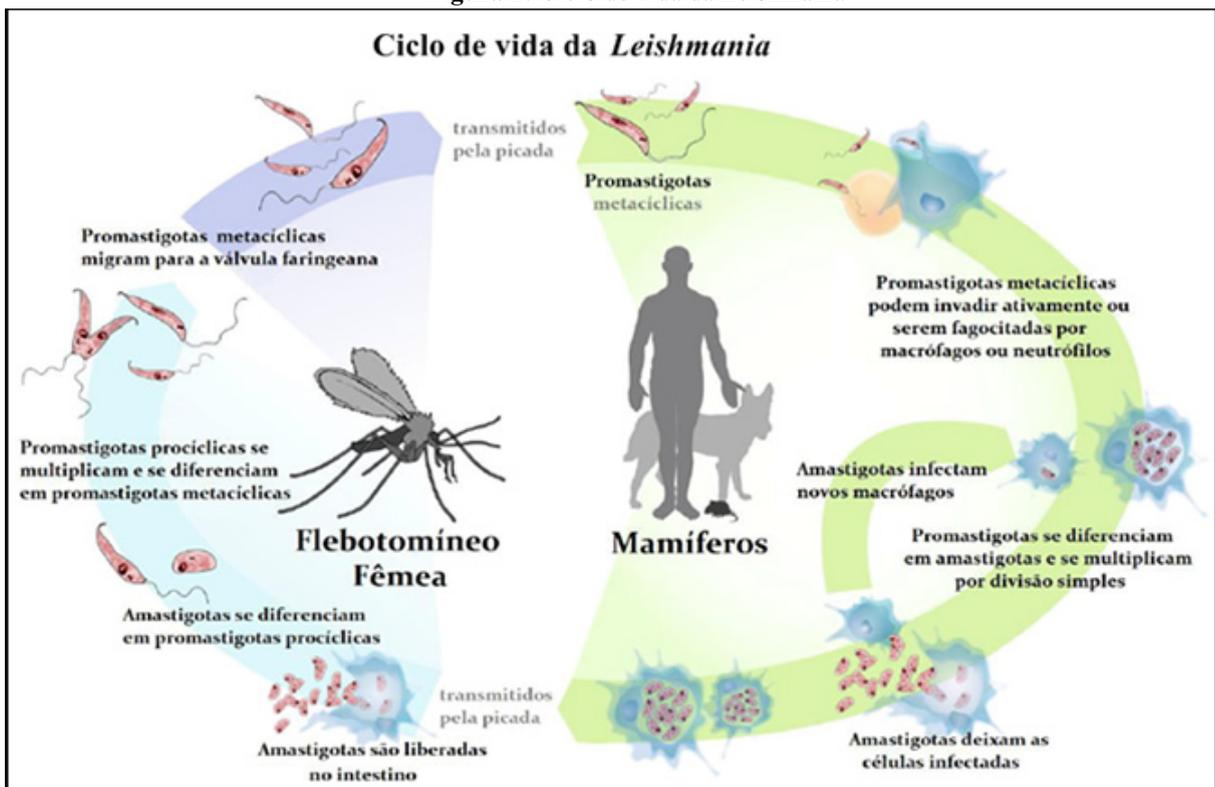
Fonte: FORTES (2013).

4.4 Ciclo de transmissão

O ciclo de transmissão da *L. infantum* se inicia quando a fêmea do flebotomíneo responsável pela transmissão se infecta através do repasto sanguíneo de animais infectados

(BRASIL, 2020; MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). No trato digestório anterior desses flebotomíneos, os macrófagos infectados se rompem, liberando as formas amastigotas (LANGONI, 2016; MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). Essas, por sua vez, passam por um processo de reprodução por divisão binária e diferenciam-se em promastigotas. Através da utilização de flagelos, essas formas se fixam no epitélio do esôfago e da faringe do vetor e se diferenciam na forma infectante, as promastigotas metacíclicas. Ao realizar o repasto sanguíneo, a fêmea do flebotomíneo inocula a saliva que contém essas promastigotas metacíclicas. A partir dessa inoculação ocorre a disseminação hematogênica dos protozoários para os órgãos do sistema mononuclear fagocitário do hospedeiro, dando continuidade ao ciclo de transmissão da leishmaniose visceral (figura 2) (LANGONI, 2016).

Figura 2: Ciclo de vida da *Leishmania*



Fonte: LAB&VET (2019).

4.5 Patogenia

4.5.1 Infecção inicial

Durante o repasto sanguíneo do flebotomíneo, a introdução da probóscide e os agentes irritantes presentes em sua saliva causam infiltração de células inflamatórias no local (CONCEIÇÃO-SILVA; MORGADO, 2017; GONÇALVES *et al.*, 2019). Essa reação inflamatória cria um ambiente extracelular hostil do qual as promastigotas devem escapar. Nesse contexto, a endonuclease contida na saliva do flebotomíneo provavelmente auxilia a *Leishmania* através da dissolução das armadilhas extracelulares dos neutrófilos (NETs) (CONCEIÇÃO-SILVA; MORGADO, 2017). NETs são fibras formadas por proteínas de grânulos e cromatina, que ficam dispostas de forma extracelular nos neutrófilos e têm a capacidade de eliminar microorganismos (MARTÍNEZ-LÓPEZ *et al.*, 2018).

O curso da infecção é influenciado por diversos elementos, incluindo os fatores de virulência do protozoário e a resposta imune do cão infectado (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Os fatores de virulência são determinantes moleculares do agente infeccioso que impactam diretamente na patogenicidade. No caso da *L. infantum*, tais fatores influenciam na proliferação do protozoário dentro das condições hostis de temperatura e pH da infecção inicial e afetam a capacidade de evadir o sistema imune (AL-KHALAIFAH, 2022).

4.5.2 Resposta imune inata

O sistema imune desempenha um papel crucial na infecção por *L. infantum* e na resposta do paciente aos tratamentos utilizados (MATRALIS *et al.*, 2023). Os neutrófilos são as primeiras células recrutadas para o local na derme em que ocorre o repasto sanguíneo. Sua atividade anti-parasitária inclui a fagocitose do agente infeccioso, a criação de NETs e a liberação de compostos tóxicos derivados de grânulos (VOLPEDO *et al.*, 2021). De acordo com Gonçalves *et al.* (2019), os neutrófilos presentes na resposta inflamatória inicial têm a capacidade de controlar a infecção, diminuindo a viabilidade dos protozoários. Algumas espécies de *Leishmania* são capazes de adiar a apoptose de neutrófilos permitindo sua multiplicação dentro dessas células (MARTÍNEZ-LÓPEZ *et al.*, 2018).

Os protozoários em sua forma promastigota são fagocitados por células do sistema mononuclear fagocitário. Nesse ambiente, as variações de temperatura, bem como o pH ácido do fagolisossomo promovem a transformação da forma promastigota da *L. infantum* em sua variante amastigota (CARTER *et al.*, 2022).

Os macrófagos são identificados como os principais alvos da *L. infantum* (VOLPEDO *et al.*, 2021; MARTÍNEZ-LÓPEZ *et al.*, 2018). Os macrófagos contendo amastigotas migram do local da lesão até os linfonodos regionais, de onde seguem até outros órgãos como baço, medula óssea e fígado. Durante esse trajeto, os protozoários se multiplicam e invadem outras células. Após o período de incubação, alguns desses agentes são levados à pele, onde podem ser ingeridos pelo vetor, dando continuidade ao ciclo do agente infeccioso (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Os macrófagos desempenham um papel ambivalente na LVC, pois além de servirem como hospedeiros da *L. infantum*, também são as principais células efetoras no combate à *Leishmania* (VOLPEDO *et al.*, 2021).

4.5.3 Resposta imune adaptativa

O controle eficaz das infecções por *L. infantum* requer que o hospedeiro mobilize uma resposta celular do tipo Th1, com ativação de macrófagos, mediada por citocinas derivadas das células T. O combate à infecção está relacionado à predominância de interleucina-12 (IL-12), interferon-gama (IFN- γ), interleucina-2 (IL-2) e fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) (LEAL *et al.*, 2014).

Ao contrário da resposta Th1, a incapacidade de controlar a infecção está associada a uma resposta humoral Th2, caracterizada pela produção de citocinas como interleucina-4 (IL-4), interleucina-10 (IL-10), interleucina-13 (IL-13) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β) (HOSEIN; BLAKE; SOLANO-GALLEGO, 2017).

Em termos gerais, a progressão da infecção em cães está associada a uma supressão da imunidade celular e uma resposta humoral exacerbada. Cães que demonstram resistência à progressão da doença apresentam baixos níveis de anticorpos e desenvolvem uma infecção subclínica. Não obstante, cães infectados, independentemente de apresentarem ou não sinais clínicos, ainda têm a capacidade de manter o ciclo do agente infeccioso através do repasto sanguíneo do vetor, ainda sendo considerados reservatórios do parasito (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

4.6 Sinais clínicos

A LVC é uma doença de caráter sistêmico, podendo manifestar uma grande variedade de sinais clínicos associados a diversos sistemas (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Macrófagos infectados podem ser encontrados em diferentes regiões, causando uma inflamação responsável pela maior parte da sintomatologia apresentada (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022).

Os sinais clínicos gerais observados podem incluir: linfadenomegalia generalizada, emagrecimento, hiporexia ou anorexia, letargia, febre, êmese, diarréia, epistaxe, mucosas pálidas e esplenomegalia. É possível que o animal demonstre sinais característicos de doença renal, como polidipsia e poliúria. No sistema tegumentar, pode-se observar dermatite esfoliativa sem prurido, acompanhada ou não de alopecia, onicogrifose, lesões nas extremidades das orelhas, alopecia periorbital e nasal, hiperqueratose e vasculite. Também podem ser identificadas lesões oculares como blefarite, uveíte anterior, conjuntivite e ceratoconjuntivite (figuras 3 e 4) (LEISHVET, 2022).

Conforme mencionado anteriormente, a reação imune humoral está associada à progressão da doença. A resposta Th2, além de ser ineficaz no combate ao protozoário, também desencadeia efeitos deletérios responsáveis por parte dos sinais clínicos. A hiperglobulinemia induzida pela resposta humoral influencia direta e indiretamente na progressão da doença, seja pela formação de autoanticorpos, seja pela geração e deposição de imunocomplexos. Essa deposição ocorre em diferentes tecidos e órgãos, resultando em uveíte, miosite, poliartrite, vasculite e glomerulonefrite (KOUTINAS; KOUTINAS, 2014).

Figura 3: Sinais clínicos da LVC. A: Alopecia periorbital. B: Lesão em ponta de orelha



Fonte: FUJISAWA *et al.* (2021)

Figura 4: Sinais Clínicos da LVC. A: Epistaxe. B: Uveíte bilateral e opacidade de córnea. C: Conjuntivite bilateral purulenta e blefarite. D: Dermatite esfoliativa e linfadenomegalia popliteal. E: Caquexia e dermatite esfoliativa.



Fonte: SOLANO-GALLEGO *et al.* (2011)

4.6.1 Achados laboratoriais

Por se tratar de uma doença que afeta diversos sistemas, Baneth e Solano-Gallego (2022) apontam que é possível encontrar alterações em vários parâmetros. No hemograma, um dos achados mais comuns é a anemia não regenerativa normocítica e normocrômica, de leve a moderada. De acordo com os autores, cerca de 67% dos cães internados em decorrência da LVC apresentam anemia, 26% apresentam linfopenia, 24% leucocitose e 6% trombocitopenia. Em se tratando de bioquímicos, é possível observar hiperproteinemia, com gama-globulina elevada. Adicionalmente, também é comum encontrar hipoalbuminemia e aumento nos parâmetros de beta-globulinas, o que resulta em alterações na relação albumina-globulina em 78% dos pacientes afetados.

Em pacientes com doença renal crônica em decorrência da LVC, é possível observar azotemia, proteinúria e UPC elevado (CANALS, 2022). Cães sintomáticos normalmente apresentam hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, anemia e proteinúria devido à perda glomerular de albumina, mesmo que o paciente não apresente azotemia (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

4.7 Diagnóstico

A apresentação de sinais clínicos compatíveis com a LVC é o motivo mais frequente da necessidade de realização de testes em cães (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). No entanto, exames laboratoriais para a detecção de *L. infantum* podem ser realizados em outras situações, como triagem de animais saudáveis em áreas endêmicas, doação de sangue e acompanhamento de cães em tratamento (LEISHVET, 2022).

O diagnóstico da LVC deve ser baseado em uma abordagem abrangente, considerando o histórico do paciente, os sinais clínicos, os achados clínicos e laboratoriais bem como os resultados de testes diagnósticos (WOAH, 2021).

4.7.1 Diagnóstico sorológico

Os testes sorológicos são amplamente empregados no Brasil, dada a combinação de baixo custo e boa confiabilidade. Considerando que a maioria dos casos de LVC apresenta uma resposta imune humoral intensa, esse método de diagnóstico tornou-se de suma importância no país (FARIA; ANDRADE, 2012).

Testes rápidos são amplamente utilizados para triagem na rotina clínica devido à rapidez na obtenção de resultados, dispensando o envio de amostras ao laboratório. Há variação entre as fabricantes, entretanto a maioria dos testes é realizada com sangue total, soro ou plasma e sua metodologia é baseada na detecção de anticorpos (COSTA *et al.*, 2021).

Em um estudo comparativo entre dois testes rápidos utilizados no Brasil, o SNAP[®] e o DPP[®], foi observada uma alta concordância nos resultados. Das 541 amostras analisadas, 97% apresentaram resultados consistentes em ambos os testes. O SNAP[®] demonstrou 96.3% de sensibilidade e 100% de especificidade, enquanto o DPP[®] obteve 95,8% de sensibilidade e 100% de especificidade. Para realizar o comparativo com os resultados dos exames parasitológicos, foram utilizadas 186 amostras para o SNAP[®] e 94 amostras para o DPP[®]. Os

testes rápidos obtiveram os mesmos resultados do exame parasitológico em 96.8% dos casos e não houve resultados falso-positivos (SOUZA; SILVA; LABARTHE, 2019).

Uma meta-análise conduzida em 2015, utilizando dados de 25 estudos sobre testes diagnósticos para a LVC, classificou o teste DPP® como de média acurácia. O estudo conclui que o teste apresentou 83% de sensibilidade e 73% de especificidade (PEIXOTO; OLIVEIRA; ROMERO, 2015).

Além dos testes rápidos, há outras modalidades de testes sorológicos, como a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Ensaio Imunoenzimático (ELISA) (MOTTA; EBERT; BATISTA, 2021). O método RIFI é mais subjetivo em comparação ao ELISA, uma vez que sua interpretação está mais atrelada à experiência e aos achados de quem realiza o exame (MONTEIRO, *et al.*, 2021). Uma vantagem desses métodos é a possibilidade de resultados quantitativos, que fornecem mais informações quando comparados a testes qualitativos (BRASILEISH, 2018).

No RIFI, de acordo com WOA (2021), uma titulação de 1:40 pode significar exposição, mas não necessariamente uma infecção. Resultados 1:160 são indicativos de infecção, enquanto 1:320 ou acima são indicativos de doença em cães sintomáticos.

Em relação a possíveis reações cruzadas, é importante observar que o RIFI pode apresentar resultados falso-positivos em indivíduos afetados pelo *Trypanosoma cruzi*. Por sua vez, o ELISA pode manifestar reações cruzadas com agentes como *Babesia canis* e *Trypanosoma* spp. (WOA, 2021).

4.7.2 Diagnóstico parasitológico

O diagnóstico parasitológico consiste na análise de material com o objetivo de visualização do parasito. O material pode ser coletado de diversos locais, como linfonodos, medula óssea e lesões cutâneas. O protozoário pode ser observado através de citologia, histologia e imunohistoquímica. A análise citológica, por exemplo, permite a visualização de macrófagos contendo formas amastigotas do protozoário (CANALS, 2022).

Esse exame é considerado técnica de referência no diagnóstico da LVC devido à capacidade de visualização direta do parasito (MOTTA *et al.*, 2021). Devido à possibilidade de observação direta do parasito, a especificidade desse teste é de 100%. Entretanto, a sua sensibilidade varia de acordo com o tipo de material coletado, o grau de parasitismo, o processamento da amostra e a experiência do observador. Em amostras coletadas da medula

óssea, a sensibilidade pode ser de 50% a 83%, já o material originado de linfonodos, pode levar a uma sensibilidade entre 30% a 85%. A sensibilidade quando são utilizados materiais das duas origens juntas pode ficar entre 71% a 91% (BARBOSA *et al.*, 2012).

4.7.3 Diagnóstico molecular

A reação em cadeia da polimerase (PCR) se destaca por sua especificidade na identificação do DNA do parasito em amostras de sangue e tecidos. No entanto, devido ao seu custo elevado, este não é um método diagnóstico de primeira escolha (MERGEN; SOUZA, 2023). A técnica apresenta alta sensibilidade e especificidade na detecção do parasito, variando também de acordo com a origem da amostra utilizada (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). As amostras ideais para a realização do PCR são provenientes de linfonodos, baço, medula óssea e pele (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Resultados negativos no PCR, embora sugiram ausência de DNA parasitário naquela amostra, não são necessariamente confirmatórios. Exames podem ser repetidos a critério clínico (BRASIL, 2020; BRASILEISH, 2018). Além disso, é relevante destacar que o método de PCR baseado no DNA do cinetoplasto (kDNA) demonstrou ter índices de detecção positiva significativamente mais elevados (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

4.8 Estadiamento clínico

O estadiamento é recomendado para a avaliação do prognóstico e para a adequação do protocolo de tratamento a ser utilizado. Os cães infectados são avaliados quanto aos resultados sorológicos, à sintomatologia clínica e aos achados laboratoriais (SCHÄFER; MÜLLER; NAUCKE, 2022).

O protocolo de estadiamento sugerido pela LeishVet (Tabela 1) é utilizado no Brasil (BRASILEISH, 2018) e em diversos países da Europa, como Portugal (MONTEIRO *et al.*, 2021), Espanha (CANALS, 2022; LEISHVET, 2022) e Alemanha (SCHÄFER; MÜLLER; NAUCKE, 2022).

O estadiamento categoriza os pacientes não saudáveis com base em sua sintomatologia clínica, resultados laboratoriais e sorologia quantitativa. Conforme o estágio identificado, é

dado um prognóstico e é feita a recomendação de um protocolo de tratamento personalizado (LEISHVET, 2022).

Tabela 1: Estadiamento clínico na LVC

ESTÁGIO	SINAIS CLÍNICOS	ACHADOS LABORATORIAIS	SOROLOGIA QUANTITATIVA
Estágio I Doença leve	Sinais clínicos leves, como dermatite papular ou linfadenomegalia localizada	Sem anormalidades observadas. Perfil renal normal: Creatinina < 1,4 mg/dL sem proteinúria: UPC <0,5	Negativa ou com baixa titulação de anticorpos
Estágio II Doença moderada	Lesões cutâneas simétricas ou difusas, como por exemplo: dermatite esfoliativa, onicogribose, ulcerações (plano nasal, orelhas, coxins), linfadenomegalia generalizada, hiporexia e perda de peso	Anormalidades clinicopatológicas compatíveis com a infecção por L. infantum: anemia leve não regenerativa, hiperglobulinemia e hipoalbuminemia. Subestágio a) Perfil renal normal: creatinina < 1,4 mg/dL; não proteinúrico: UPC < 0,5 b) Proteinúrico: creatinina < 1,4 mg/dL; UPC = 0,5-1	Titulação de anticorpos baixa a alta
Estágio III Doença grave	Cães que além dos sinais clínicos apresentados nos estágios I e II, apresentam sinais decorrentes da deposição de imunocomplexos, como glomerulonefrite e uveíte	Anormalidades listadas no estágio II. Doença renal crônica IRIS estágio 1, com proteinúria UPC > 1 ou IRIS estágio 2 UPC (creatinina 1,4 - 2,8 mg/dL)	Titulação de anticorpos média a alta
Estágio IV Doença muito grave	Cães com sinais clínicos listados no Estágio III. Tromboembolismo pulmonar, ou síndrome nefrótica e doença renal em estágio final.	Anormalidades listadas nos estágios II e III. Doença renal crônica IRIS estágio 3 (creatinina 2.9-5 mg/dL) e IRIS estágio 4 (creatinina > 5 mg/dl) ou síndrome nefrótica ou proteinúria UPC > 5	Titulação de anticorpos média a alta

Fonte: Adaptado de LEISHVET (2022)

A LeishVet (2022) classifica em estágio I os cães que apresentam sinais clínicos brandos, como dermatite papular ou linfadenomegalia localizada. Nesse estágio, não há alterações laboratoriais e foram detectados poucos anticorpos. Nesses casos, o prognóstico é bom. O estágio II corresponde aos cães com lesões cutâneas simétricas ou difusas, linfadenomegalia generalizada, perda de peso e hiporexia. Achados laboratoriais nesse estágio são anemia, hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia. Esse estágio possui uma sub-classificação baseada na função renal, dividindo os pacientes que apresentem creatinina menor que 1,4mg/dL, sem proteinúria e com UPC menor que 0,5mg/dL; e os que apresentam proteinúria, creatinina maior que 1.4mg/dL e UPC entre 0,5 e 1mg/dL. Nesse estágio, o prognóstico varia

entre bom a reservado. No estágio III, além dos sinais clínicos apresentados nos demais estágios, os animais apresentam sinais clínicos compatíveis com a deposição de imunocomplexos, como glomerulonefrite e uveíte. A função renal encontra-se prejudicada e o paciente se enquadra como doente renal crônico em estágio 2. O prognóstico nesse caso varia de reservado a desfavorável. Por fim, no estágio IV, além dos sinais presentes nos demais estágios, o cão apresenta tromboembolismo pulmonar e/ou síndrome nefrótica e estágio final de doença renal crônica. Nesses casos, o prognóstico é desfavorável.

4.9 Manejo terapêutico de cães com leishmaniose visceral

O manejo da leishmaniose é desafiador, pois muitos dos protocolos terapêuticos são baseados no uso de medicamentos com efeitos tóxicos e sua eficácia não é garantida. Não há um protocolo que garanta total eficácia e segurança no tratamento das leishmanioses viscerais, tanto em humanos (EBIOMEDICINE, 2023), quanto em animais (MERGEN; SOUZA, 2023).

É importante ressaltar que o tratamento da LVC objetiva o controle dos sinais clínicos, a melhora da imunidade celular do paciente e a redução da carga parasitária (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022).

4.9.1 Legislação brasileira sobre o tratamento da LVC

4.9.1.1 Portaria Interministerial nº 1.426 de 11 de julho de 2008

Em julho de 2008, foi publicada a Portaria Interministerial n. 1.426, que proíbe a utilização de medicamentos de uso humano ou não registrados no MAPA para o tratamento da LVC. A portaria estabelece que o registro de novos medicamentos deve ser precedido por ensaios clínicos, mediante autorização e aprovação do MAPA (BRASIL, 2008).

4.9.1.2 Nota Técnica Conjunta nº 11/2016

Desde a determinação da necessidade de registro de medicamentos destinados ao tratamento da LVC, apenas o Milteforan™ foi regulamentado e aprovado (BRASIL, 2020). O licenciamento da droga, que tem uso exclusivamente veterinário no Brasil, foi formalizado

através da nota técnica nº 11/2016. Apesar da autorização do uso do medicamento, a nota técnica enfatiza que o uso da droga não é considerado uma medida de saúde pública, sendo sua administração condicionada à escolha do proprietário do animal (BRASIL, 2016).

4.9.2 Protocolos de tratamento

O protocolo de tratamento recomendado pela LeishVet sugere diferentes abordagens terapêuticas de acordo com o estadiamento da doença (LEISHVET, 2022). Entretanto, como o único medicamento leishmanicida registrado no Brasil é o Milteforan™, o grupo de estudos Brasileish publicou uma adaptação do protocolo LeishVet, de acordo com as possibilidades terapêuticas disponíveis no Brasil. Dentre as adaptações realizadas, houve a retirada do antimoniato de meglumina, presente no protocolo LeishVet (2022), e foi incluída imunoterapia através da utilização da vacina LeishTec (BRASIEISH, 2018).

4.9.3 Medicamentos leishmanicidas

4.9.3.1 Miltefosina

A descoberta da capacidade anti-protozoária e antineoplásica da miltefosina ocorreu nos anos 80, quando coincidentemente dois grupos de pesquisa independentes sintetizaram a droga. Na época, as pesquisas se concentraram na capacidade antineoplásica do medicamento, enfatizando seu uso no tratamento tópico de metástases cutâneas de tumores de mama. Posteriormente, sua capacidade leishmanicida foi objetivo de estudo e em 2002, após diversos testes clínicos, a droga foi aprovada para o tratamento da LV (DORLO *et al.*, 2012). Em 2007, o medicamento foi introduzido no mercado veterinário europeu sob o nome Milteforan™, com a finalidade de tratar a LVC (NOGUEIRA *et al.*, 2019).

A miltefosina (hexadecilfosfolina) é um fosfolípido cuja configuração se assemelha aos compostos metabolizados por alguns protozoários do gênero *Leishmania* (VIRBAC, 2016).

Após a administração oral do medicamento, ocorre uma absorção gradual. A biodisponibilidade em cães é de cerca de 94%, e o tempo para atingir sua concentração máxima varia entre 4 a 48h (DORLO *et al.*, 2012).

Estudos acerca da farmacocinética da miltefosina revelaram uma fase de eliminação prolongada, com meia-vida de aproximadamente 31 dias. Devido à longa meia vida, a

miltefosina se acumula ao longo do tratamento, atingindo concentrações estáveis na última semana do protocolo de 28 dias (KIP *et al.*, 2018). Uma vez absorvido no trato gastrointestinal e distribuído aos demais órgãos, o medicamento é metabolizado no fígado e é excretado nas fezes. Diversos estudos que realizaram análise histológica dos rins e de biomarcadores de lesão renal concluíram que a droga causa baixo impacto aos rins, tornando-a uma boa opção no tratamento de animais com doença renal (GIZZARELLI, M. *et al.*, 2023).

A miltefosina age através da inibição do receptor glicosilfosfatidilinositol (GPI), que é uma molécula-chave para a sobrevivência intracelular da *Leishmania*. Adicionalmente, seu mecanismo de ação causa ruptura da transdução de sinal, inibindo a fosfolipase e a proteína C quinase (KROLOW *et al.*, 2022). O medicamento também é capaz de induzir um mecanismo similar ao da apoptose em promastigotas e amastigotas, resultando em condensação nuclear, fragmentação do DNA e perda de massa celular (DORLO *et al.*, 2012). Por fim, a substância realiza imunomodulação, através da mobilização de macrófagos e células T, promovendo assim a resposta imunológica celular (KROLOW *et al.*, 2022).

A dose recomendada do medicamento é de 2 mg/kg, administrada por via oral, uma vez ao dia, por 28 dias. Dentre os efeitos adversos comuns estão disorexia, vômitos e diarreia. A administração do medicamento juntamente com a alimentação ajuda a abrandar os efeitos gastrointestinais (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; LEISHVET, 2022).

Em 2023, na Itália, foi publicado um estudo retrospectivo de longa duração com o objetivo de investigar a eficácia a longo prazo do tratamento com miltefosina e alopurinol. Foram acompanhados 173 cães, por uma média de 5,4 anos. Todos os animais participantes receberam uma dose inicial de 2 mg/kg de miltefosina por 28 dias e 10 mg/kg de alopurinol por um período de 2 a 12 meses. Ao longo do acompanhamento, 30 cães (17,3%) passaram pelo protocolo uma segunda vez, 2 (1,2%) foram tratados três vezes e um (0,6%) passou pelo protocolo cinco vezes. A média entre protocolos adicionais foi de 27,2 meses. Todos os animais apresentaram redução na titulação por ELISA e 98% mostraram sinais de melhora no quadro clínico. O estudo conclui que o uso de miltefosina associada ao alopurinol demonstrou eficácia no tratamento da LVC, proporcionando melhora clínica a longo prazo na maioria dos cães tratados (GIZZARELLI *et al.*, 2023).

Um estudo conduzido no Hospital Veterinário da Universidade de Mato Grosso investigou os efeitos a curto prazo de diferentes abordagens terapêuticas: alopurinol em monoterapia, miltefosina em monoterapia e a combinação de ambos os medicamentos. Quarenta e cinco cães foram divididos em três grupos iguais, com o primeiro recebendo miltefosina a 2 mg/kg

por 28 dias, o segundo alopurinol 20 mg/kg duas vezes ao dia por 28 dias e o terceiro sendo tratado com miltefosina e alopurinol combinados, na mesma dosagem dos grupos anteriores. Após os 28 dias de tratamento, todos os grupos apresentaram sinais de melhora clínica. O grupo tratado apenas com miltefosina teve redução de 36,9% na sintomatologia clínica, o grupo tratado com alopurinol apresentou redução de 58,4% e o grupo que recebeu ambos os fármacos apresentou uma redução de 52,6% (AYRES *et al.*, 2022).

Em Andradina, interior de São Paulo, foi realizado um estudo controlado, utilizando qPCR e xenodiagnóstico para avaliar a eficácia da miltefosina como monoterapia no Brasil. No estudo, 35 cães foram submetidos a um regime de tratamento com miltefosina, administrada a uma dose de 2 mg/kg, uma vez ao dia, durante um período de 28 dias. Ao término do protocolo, 94,28% dos pacientes apresentaram sinais de melhora clínica. Nenhum dos animais tratados recebeu medidas repelentes contra os vetores, para que a análise da capacidade infectante fosse realizada. Os animais foram expostos ao contato com fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*, que foram posteriormente dissecadas em busca do protozoário. Na primeira semana de estudo, 18 cães transmitiram formas amastigotas do protozoário aos vetores durante o repasto sanguíneo. Ao final das 12 semanas de estudo, apenas 9 cães deram continuidade ao ciclo do protozoário. A análise da carga parasitária na pele, conduzida através de qPCR, indicou redução na maioria dos casos. A conclusão do estudo sugere que o tratamento com miltefosina pode potencialmente contribuir para a redução da transmissão do protozoário ao vetor, uma vez que demonstrou eficácia na diminuição da carga parasitária na pele (NOGUEIRA *et al.*, 2019).

4.9.3.2 Antimoniato de meglumina

O antimoniato de meglumina é um composto antimonial que pode ser encontrado de na forma trivalente ou pentavalente (SbV) e é considerado um medicamento de primeira escolha no tratamento da LVC em diversos países (ORTEGA *et al.*, 2022). O medicamento é um pró-fármaco, sendo convertido em antimoniato trivalente, a molécula ativa responsável por seu efeito leishmanicida (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022).

Durante o VII Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia, que ocorreu em 1912 em Belo Horizonte, o pesquisador Gaspar Vianna propôs a utilização de injeções subcutâneas de tártaro emético (antimoniato trivalente) no tratamento de todas as formas de leishmaniose

(BENCHIMOL, 2020). A proposta de tratamento foi testada pela primeira vez no mesmo ano, durante uma expedição médico-científica comandada por Carlos Chagas ao Vale do Amazonas. Constatada a eficácia do tratamento, o uso do tártaro emético se difundiu para outros países. A popularização do tratamento contribuiu para a diminuição das altas taxas de mortalidade no subcontinente indiano, e fez com que Vianna se tornasse um dos grandes nomes da pesquisa científica do Brasil (JOGAS JR, 2019).

Ainda segundo Jogas Jr (2019), embora os resultados da terapia com o antimoniato trivalente tenham sido revolucionários, sua alta toxicidade e a longa duração do tratamento motivaram a busca por novas drogas.

Em 1920 o médico indiano Upendranath Brahmachari descobriu a ureia estibamina, o primeiro composto antimonial pentavalente sintetizado. Dentre as vantagens desse medicamento, estavam sua menor toxicidade e menor tempo de tratamento (SAHA; CHAUDHURY; MAJI, 2021).

No Brasil, os derivados pentavalentes foram introduzidos apenas na década de 40 e desde então são considerados medicamentos de primeira escolha no tratamento da LV (BRASIL, 2014). O uso do antimoniato de meglumina no tratamento da LVC não é permitido no país, uma vez que é um medicamento utilizado no protocolo de tratamento da doença em humanos (KROLOW *et al.*, 2022).

Uma vez administrado, o fármaco atinge sua concentração máxima em cerca de 60 a 90 minutos, e sua biodisponibilidade é superior a 90% (MADDISON; PAGE; CHURCH, 2008). A via de administração mais utilizada é a subcutânea, e o medicamento age inibindo processos metabólicos essenciais para a sobrevivência do protozoário, como a glicólise e a oxidação de ácidos graxos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Estudos sobre a farmacocinética desses compostos indicam que sua meia-vida de eliminação é rápida, sendo excretados principalmente pelos rins (BRASIL, 2014).

O antimoniato de meglumina faz parte do tratamento de primeira escolha no protocolo LeishVet (2022), sendo administrado juntamente com alopurinol. Entretanto, seu uso como monoterapia não assegura bons resultados a longo prazo, aumentando a possibilidade de recidivas no prazo de 6 meses a 1 ano (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Dentre os efeitos adversos mais comuns, destacam-se a dor e inflamação no local de injeção, bem como doenças renais decorrentes da nefrotoxicidade do composto (LEISHVET, 2022). Além disso, é possível que ocorram alterações eletrocardiográficas, elevação das transaminases hepáticas e redução nos níveis de ferro (ORTEGA *et al.*, 2022).

Na Europa, o protocolo de tratamento padrão para cães em condição clínica estável é: antimoniato de meglumina 100 mg/kg, por via subcutânea, a cada 24 horas por 28 dias, combinado com alopurinol, 10 mg/kg a cada 12 horas, por via oral. Nesse protocolo, o antimoniato de meglumina pode ser substituído por miltefosina, a 2 mg/kg a cada 24 horas, por 28 dias. Animais com quadro clínico instável, particularmente os que apresentam doença renal progressiva causada pela leishmaniose, podem ser tratados com monoterapia de alopurinol. Para que o tratamento seja interrompido, é necessário que o paciente tenha atingido três critérios: o desaparecimento de sinais clínicos; a normalização de exames bioquímicos, hematológicos e da urinálise; e sorologia quantitativa abaixo do cut-off (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Um estudo realizado em 2016 na Espanha avaliou, por um ano, 37 cães tratados com antimoniato de meglumina e alopurinol. Os pacientes foram tratados com doses entre 80 a 100 mg/kg de antimoniato de meglumina subcutâneo, uma vez ao dia, por um mês e 10 mg/kg de alopurinol oral, duas vezes ao dia, por 12 meses. Os cães foram acompanhados nos dias 30, 180 e 365 durante o tratamento. Todos os animais apresentaram sinais de melhora clínica em 30 dias, além disso, nos primeiros seis meses, foi observada uma redução significativa, embora parcial, na carga parasitária. Não obstante, apesar da melhora no estado de saúde dos animais, apenas cinco deles atingiram os critérios para interromper o tratamento ao final de um ano (SOLANO-GALLEGO, L. *et al.*, 2016).

Com o objetivo de analisar os impactos a curto prazo no tratamento da LVC com antimoniato de meglumina, um estudo realizado em 2019 na Espanha observou poucos sinais de efeitos prejudiciais aos rins causados pelo medicamento. Dos 12 animais analisados, apenas um apresentou injúria renal aguda alguns dias após o tratamento. Em relação à progressão da insuficiência renal crônica, não parece ter um impacto substancial na função renal. No entanto, ressalta-se a importância de monitorar a função renal de cada paciente para detectar sinais de intolerância ou intoxicação ao antimônio. É também aconselhável avaliar regularmente a pressão arterial em cães com LVC, dada a sua associação com complicações sérias (DAZA GONZÁLEZ *et al.*, 2019).

Uma análise quantitativa da produção científica sobre o tratamento da LVC analisou 122 publicações. Destas, mais da metade tratava sobre os antimoniais pentavalentes, seja como monoterapia ou em combinação com o alopurinol. O comparativo entre os estudos indicou que a utilização de antimoniais pentavalentes associados ao alopurinol representa o protocolo mais eficaz contra a LVC atualmente. No entanto, o estudo destaca que os trabalhos

envolvendo miltefosina também apresentaram resultados satisfatórios (OLÍAS-MOLERO *et al.*, 2021)

4.9.3.3 Anfotericina B

A anfotericina B é um antibiótico com ação antifúngica e que também interfere na permeabilidade da membrana celular de microrganismos (SPINOSA, 2017). Suas principais apresentações são anfotericina B lipossomal (ABL) e anfotericina B desoxicolato (ABD). A ABD foi desenvolvida na década de 50 e é amplamente utilizada na medicina humana como antifúngico no tratamento de infecções fúngicas invasivas, entretanto, sua nefrotoxicidade e demais efeitos adversos são um desafio quanto ao seu uso. Por outro lado, a ABL incorpora a anfotericina em uma bicamada lipossômica, reduzindo significativamente sua nefrotoxicidade (KIP *et al.*, 2018).

O mecanismo de ação ocorre através da interferência na biossíntese de ergosterol da *Leishmania*, acarretando na formação de poros na membrana celular, resultando em distúrbios metabólicos, extravasamento de conteúdo intracelular, e morte celular (REGUERA *et al.*, 2016).

Ainda de acordo com Reguera *et al.* (2016), o medicamento não possui boa absorção gastrointestinal, portanto sua administração deve ser por via endovenosa. Contudo, essa via de administração pode ocasionar anemia hemolítica. A administração da droga em lipossomos ou nanopartículas é uma forma mais segura de administrar a medicação e evitar esse efeito adverso.

Dentre os pontos negativos do fármaco, destaca-se sua nefrotoxicidade, ocasionada pela vasoconstrição e diminuição do fluxo renal (ALBUQUERQUE; LANGONI, 2018). O acompanhamento constante da função renal do paciente se faz necessário. Efeitos adversos como vômitos, anorexia e febre também são frequentes (NOLI; AUXILIA, 2005).

Um estudo realizado em São Paulo com 20 cães com leishmaniose testou a eficácia da anfotericina B no tratamento da LVC. Foi utilizado um protocolo terapêutico de Anfotericina B 0,5 mg/kg a cada 3 dias, por 48 dias e alopurinol 10 mg/kg, duas vezes ao dia, por 18 meses. Três animais morreram após o início do tratamento. Após 9 meses de tratamento, todos os animais restantes encontravam-se assintomáticos, entretanto, foi verificada recidiva em dois deles após 18 meses do protocolo (NOGUEIRA, 2007).

Em um estudo de acompanhamento da função renal de cães saudáveis tratados com anfotericina B, feito em Botucatu, 10 cães receberam dose terapêutica de 0,5 mg/kg, por via intravenosa, em dias alternados, por 9 dias. Foram encontradas alterações urinárias como acidificação defeituosa, perda de potássio e glicosúria, que indicaram que o medicamento causa danos aos túbulos renais distais e proximais, induzindo acidose tubular renal e diabetes insipidus nefrogênico (SATIN *et al.*, 2006).

A anfotericina B é amplamente utilizada na medicina humana e portanto sua utilização na medicina veterinária é desaconselhável, a fim de prevenir a criação de cepas da *L. infantum* resistentes à medicação. Estudos *in vitro* demonstraram a capacidade de desenvolvimento de cepas resistentes à droga. Além disso, já foram publicadas pesquisas documentando casos de resistência em seres humanos (OLÍAS-MOLERO *et al.*, 2021).

4.9.3.4 Aminosidina (Paromomicina)

A aminosidina, também chamada de paromomicina, é um antibiótico da classe dos aminoglicosídeos com propriedades leishmanicidas (REGUERA *et al.*, 2016).

Uma formulação parenteral desse medicamento demonstrou eficácia contra a *Leishmania* nos anos 80, levando a estudos clínicos para avaliar seu impacto no tratamento da LV. Esses estudos revelaram eficácia de 94% no tratamento humano, resultando em seu registro em 2006 (CROFT; OLLIARO, 2011).

A aminosidina não é bem absorvida por via oral, no entanto, sua absorção é rápida quando administrada por via intramuscular. O medicamento não sofre metabolização e sua excreção é rápida e acontece principalmente através da filtração glomerular (KIP *et al.*, 2018). Seu mecanismo de ação reside na inibição da síntese proteica, interferindo em diversas subunidades ribossômicas do parasito (REGUERA *et al.*, 2016).

Embora o uso do medicamento como monoterapia tenha sido estudado e apresentado bons resultados, reincidências após o término do tratamento e efeitos adversos dose-dependentes são comuns. Uma revisão sistemática publicada em 2004 sugere que dosagens acima de 20 mg/kg não são recomendadas. Estudos mais recentes indicam que a administração subcutânea de 15 mg/kg, uma vez ao dia, durante 21 dias, resulta em bons resultados com menos efeitos adversos (KASABALIS *et al.*, 2020; KASABALIS *et al.*, 2019).

Embora Reguera *et al.* (2016) apontem a alta nefrotoxicidade e ototoxicidade como desvantagens do uso da aminosidina, Kasabalis *et al.* (2020) sugerem que esses efeitos são minimizados em animais tratados com a dosagem adequada.

Uma análise de publicações acerca do tratamento da LVC entre os anos de 2000 a 2020 revelou que a presença da aminosidina foi notavelmente limitada, sendo abordada em apenas 15 estudos durante esse período (OLÍAS-MOLERO *et al.*, 2021).

Um ensaio clínico controlado, cego e randomizado, realizado na Grécia, avaliou a eficácia de dois protocolos de tratamento para LVC. O estudo propôs uma comparação entre a terapia combinada de aminosidina e alopurinol, e o tratamento com antimoniato de meglumina associado ao alopurinol. Os 40 cães participantes foram distribuídos em dois grupos distintos, cada um submetido a um protocolo específico. O grupo A recebeu aminosidina em uma dose de 15 mg/kg por via subcutânea, uma vez ao dia, durante 28 dias, acompanhada de alopurinol administrado por via oral a 10 mg/kg, duas vezes ao dia, por um período de 6 meses. Por sua vez, o grupo B foi tratado com a mesma dose de alopurinol, combinada com 100 mg/kg de antimoniato de meglumina, administrado por via subcutânea, uma vez ao dia, também ao longo de 28 dias. Durante o período estudado, nenhum dos grupos sofreu recidivas da doença e o tempo para a diminuição dos sinais clínicos foi semelhante nos dois grupos, com exceção da hiperqueratose, que diminuiu mais rapidamente no grupo B. Entretanto, ao final do estudo, os cães pertencentes ao grupo tratado com antimoniato de meglumina apresentaram significativamente menos sinais clínicos e menor carga parasitária. O estudo conclui que o tratamento com aminosidina não é recomendado como primeira escolha, mas pode ser uma opção para evitar muitas repetições do antimoniato de meglumina, ou em países em que o antimoniato e outras drogas de primeira escolha não são permitidos no tratamento da LVC (KASABALIS *et al.*, 2020).

Em um estudo realizado na Grécia, Athanasiou *et al.* (2014) investigaram a tolerância de animais saudáveis e com LVC a tratamentos repetidos com aminosidina. Não foram utilizados cães azotêmicos devido à nefrotoxicidade do medicamento. No estudo, 6 cães saudáveis e 12 cães com leishmaniose foram tratados com aminosidina, em protocolos diferentes. O grupo com animais saudáveis recebeu uma dose de 15 mg/kg do medicamento, por via endovenosa, e após 15 dias foi tratado com injeções subcutâneas por 21 dias. O grupo com LVC recebeu a mesma dosagem por via subcutânea por 15 dias, durante 21 dias. Não foram observadas alterações na função renal dos animais estudados, o que corrobora a afirmação de que a dose utilizada é segura no tratamento da LVC em cães que não apresentem lesões renais.

4.9.3.5 Marbofloxacina

As quinolonas foram descobertas em 1962, como resultado de modificações em um composto isolado da produção do medicamento antimalárico cloroquina. A primeira quinolona foi o ácido nalidíxico, que foi usado no tratamento de infecções urinárias. Entretanto, o medicamento possuía baixa absorção gastrointestinal e pouca atividade terapêutica, por isso, foram implementadas modificações ao medicamento nos anos 80. Essas modificações incluíram a adição de uma molécula de flúor à estrutura básica da quinolona, resultando no que agora é chamado de fluoroquinolona (PALLO-ZIMMERMAN; BYRON; GRAVES, 2010).

A marbofloxacina pertence à terceira geração de antibióticos da classe das fluoroquinolonas, sendo um composto desenvolvido especificamente para uso na medicina veterinária. É um agente de amplo espectro, capaz de combater tanto bactérias gram-positivas quanto gram-negativas, o que o torna uma escolha viável em diversas situações clínicas (KROLOW *et al.*, 2022).

As características farmacocinéticas da marbofloxacina em cães são excelentes, com biodisponibilidade próxima de 100%. Adicionalmente, a molécula apresenta uma boa capacidade de distribuição e sua meia-vida de 14 horas possibilita a administração em dose única diária. Além disso, devido à habilidade das células imunes fagocitárias de armazenar fluoroquinolonas, tem-se sugerido que elas atuam como transportadoras, facilitando a difusão do medicamento nos tecidos (VOULDOUKIS *et al.*, 2006). Dada a capacidade das amastigotas de sobreviver dentro de macrófagos, é crucial o desenvolvimento de drogas capazes de penetrar nessas células (AMANTE *et al.*, 2020).

Assim como outras quinolonas, a marbofloxacina inibe a enzima bacteriana DNA girase (ou topoisomerase II), mas não atua sobre as topoisomerases dos mamíferos, devido às suas diferenças estruturais em relação à topoisomerase bacteriana. *Trypanosomatidae*, como a *L. infantum*, apresentam uma estrutura genômica que exhibe semelhanças significativas com as bactérias. Além disso, as fluoroquinolonas possuem propriedades imunomoduladoras (ROUGIER *et al.*, 2008), promovendo a atividade da IL-6 e do TNF- α (REGUERA *et al.*, 2016). Atualmente, a marbofloxacina não é considerada um medicamento de primeira e nem de segunda escolha no tratamento da LVC (REGUERA *et al.*, 2016). De acordo com Rougier *et al.* (2012), a dose recomendada para cães no tratamento da LVC é de 2 mg/kg, uma vez ao dia, durante 28 dias.

Grande parte dos tratamentos atuais pode resultar em efeitos adversos significativos, muitas vezes associados a complicações renais e gastrointestinais. Dada a alta prevalência de doença renal em animais com LVC, a busca por novos medicamentos com efeitos adversos mais suaves e que não causem danos aos rins é de grande importância. Nesse contexto, devido à sua menor propensão a afetar os rins em comparação com outros medicamentos utilizados atualmente, têm sido conduzidas pesquisas *in vitro* e *in vivo* com o objetivo de avaliar a viabilidade do uso de marbofloxacina no tratamento da LVC (PINEDA *et al.*, 2017).

Em uma avaliação da segurança da marbofloxacina, um estudo de 13 semanas realizado na China avaliou os efeitos adversos apresentados por 24 cães que receberam 1 mg/kg/dia, 4 mg/kg/dia e 40 mg/kg/dia do medicamento. Nenhum efeito adverso foi observado nos animais que receberam dosagens menores que 40 mg/kg/dia, e, em um animal que recebeu a maior dosagem, foi observada atrofia testicular tubular. A ausência de sinais decorrentes do uso da marbofloxacina foi condizente com outros estudos, atestando a baixa toxicidade do medicamento (LEI *et al.*, 2018).

Em 2006, um estudo *in vitro* foi realizado na França com o objetivo de comparar a atividade leishmanicida da marbofloxacina ao antimoniato de meglumina e ao estibogluconato de sódio. Como fonte de células mononucleares do sangue periférico, foram utilizados cinco cães naturalmente infectados com a *L. infantum* e cinco cães saudáveis. No estudo, foram utilizadas diferentes dosagens do medicamento. Na concentração de 100 µg/mL, foram notadas alterações significativas e irreversíveis nas formas promastigotas observadas. Uma incubação de 24 horas, utilizando a dosagem de 500 µg/mL, levou à inviabilização de 100% das promastigotas observadas, sugerindo que a ação leishmanicida da marbofloxacina pode ser dose-dependente. O antimoniato de meglumina e a marbofloxacina obtiveram resultados melhores no tratamento de macrófagos infectados do que o estibogluconato de sódio. Os grupos tratados com marbofloxacina e antimoniato de meglumina apresentaram diminuição considerável no número de amastigotas. A atividade leishmanicida ocorreu por meio da via do TNF- α e do óxido nítrico, e correlacionou-se com o aumento da produção de óxido nítrico (NO₂) por macrófagos derivados de monócitos de indivíduos infectados. A marbofloxacina se mostrou não tóxica na dosagem de 500 µg/mL, pois não foram observados sinais de apoptose celular. O estudo conclui que a marbofloxacina possui atividade leishmanicida promissora, e que mais estudos *in vitro* e *in vivo* deveriam ser conduzidos a fim de determinar sua usabilidade no tratamento da LVC (VOULDOUKIS *et al.*, 2006).

Foi realizado um estudo *in vitro* em Botucatu com o objetivo de investigar o potencial leishmanicida da marbofloxacina. Para tal, foram utilizados macrófagos coletados de camundongos previamente infectados com *Leishmania chagasi*. Após a exposição ao medicamento em diferentes concentrações, foi observada uma redução significativa na carga de amastigotas. O estudo conclui que a marbofloxacina possui um potencial promissor no tratamento da LVC, embora sejam necessários mais estudos acerca de sua eficácia (AMANTE *et al.*, 2020).

Em 2008, na França, Rougier *et al.*, realizaram um ensaio clínico randomizado de fase II, com o objetivo de avaliar e comparar a segurança e a eficácia de quatro protocolos de tratamento da LVC utilizando marbofloxacina. No estudo, 24 cães naturalmente infectados foram divididos em quatro grupos e receberam tratamento com 2 mg/kg de medicamento, uma vez ao dia, por períodos de 10, 20, 28 ou 40 dias. Os cães foram então acompanhados por um período de 9 meses. O tratamento se mostrou ineficaz apenas: em um animal tratado por 20 dias; um animal tratado por 28 dias; dois animais tratados por 10 dias; e dois animais tratados por 40 dias. No entanto, o tratamento mostrou-se consideravelmente mais eficaz em animais que já haviam sido tratados para a LVC com outros medicamentos. Dos 16 animais que apresentaram melhora, 12 já haviam recebido algum tratamento anterior. No que tange à avaliação parasitológica, ao final dos tratamentos foi notada uma redução de 80% na carga parasitária. Durante o tempo de estudo, houve recidiva dos sinais clínicos em três animais, um do grupo de 28 dias e dois do grupo de 40 dias. Durante o período de tratamento, não foram relatados efeitos adversos com relação ao uso do medicamento. O estudo conclui que, embora mais estudos sejam necessários, a dosagem de 2 mg/kg, uma vez ao dia, por 28 dias pode se mostrar uma boa opção no tratamento da LVC.

Em um acompanhamento clínico e parasitológico, realizado na França, 61 cães com LVC foram tratados com marbofloxacina e acompanhados por um ano. A dose utilizada foi de 2 mg/kg, uma vez ao dia, por 28 dias. Os pacientes foram examinados nos dias 0 (D0), 14 (D14), 28 (D28), 40 (D40), 56 (D56) e 84 (D84). Posteriormente, foram re-examinados no sexto mês (M6) e no décimo segundo mês (M12), com o objetivo de avaliar a ocorrência de recidivas. O tratamento com a marbofloxacina mostrou-se eficaz em quase 70% dos casos, sendo que 23,8% dos animais obtiveram cura clínica. No que diz respeito aos distúrbios hemato-bioquímicos relacionados à LVC, foi observada melhora em cães que anteriormente apresentavam hipoalbuminemia e/ou hiperglobulinemia. Entretanto, embora tenha ocorrido melhora nos sinais clínicos, os cães permaneceram parasitologicamente positivos (ROUGIER *et al.*, 2012).

O tratamento da leishmaniose se torna desafiador quando o paciente possui comprometimento da função renal. Dada a alta prevalência de doença renal associada à LVC, é importante encontrar medicamentos eficazes e que não afetem negativamente a função renal. Pineda *et al.* (2017) realizaram um estudo na Espanha com o objetivo de avaliar a eficácia e a segurança da marbofloxacina no tratamento de animais com LVC e com a função renal prejudicada. No estudo, 28 cães com LVC e doença renal crônica foram tratados com marbofloxacina 2 mg/Kg/dia por 28 dias. Após o período de tratamento, não foram relatados efeitos adversos decorrentes do uso da marbofloxacina. Foram observadas melhoras no quadro clínico de 64% dos animais tratados. No que tange a função renal, não houve aumento da ureia e da creatinina, e a proteinúria diminuiu ao longo do tratamento. Não houve mudança nos quadros de anemia ao longo do tratamento, no entanto, quadros de hipoalbuminemia e hiperglobulinemia foram atenuados. O estudo conclui que a marbofloxacina é uma droga segura, que não influencia negativamente na função renal. No que tange a eficácia do medicamento, houve diminuição da carga parasitária em alguns dos pacientes. A eficácia do tratamento não está correlacionada ao estado da função renal, indicando que a marbofloxacina pode ser uma boa opção em pacientes com doença renal crônica.

Nascimento (2019) realizou uma avaliação clínico-laboratorial de cães com LVC tratados com marbofloxacina associada ao alopurinol. Foram utilizados 12 cães, divididos em dois grupos com protocolos diferentes: O grupo 1 foi tratado com marbofloxacina na dose de 2 mg/kg/dia por 28 dias e alopurinol na dose de 10mg/kg duas vezes ao dia por 90 dias; o grupo 2 recebeu marbofloxacina e alopurinol na mesma posologia, entretanto, o alopurinol foi administrado apenas após o período de administração da marbofloxacina. O primeiro grupo obteve diminuição de 76,4% nos escores clínicos e o segundo grupo obteve redução de 54,8%. Ao término dos 90 dias, apesar da redução clínica, alguns sinais como onicogrifose e linfadenomegalia permaneceram em grande parte dos animais. O estudo conclui que o uso da marbofloxacina associada ao alopurinol pode ser uma opção terapêutica viável, uma vez que houve diminuição dos sinais clínicos em ambos os grupos, embora o primeiro grupo tenha apresentado resultados mais favoráveis.

4.9.3.6 Artesunato

Em 1967, um projeto nacional da China foi criado com o objetivo de encontrar medicamentos que auxiliassem no combate à malária. Foram avaliadas mais de 200 ervas

chinesas, até que o extrato da *Artemisia annua L.* mostrou-se promissor. O primeiro ensaio clínico demonstrou ótimos resultados quando comparado à cloroquina. Em 1972 o componente ativo, artemisinina, foi identificado. Posteriormente, foi determinado que a dihidroartemisinina é uma molécula mais estável e dez vezes mais potente que a artemisinina, além de diminuir o número de recidivas. Desde então, esse grupo de cientistas vêm estudando a molécula e suas aplicações no tratamento de outras doenças (TU, 2011).

A artemisinina e seus derivados demonstraram eficácia no combate a protozoários, como o *Plasmodium falciparum*, um dos causadores da malária. Por esse motivo, a droga faz parte do protocolo de tratamento da malária preconizado pela Organização Mundial da Saúde (CORTES *et al.*, 2015).

O tratamento da LVC apresenta desafios significativos devido à natureza intracelular do parasito. Além disso, a Organização Mundial da Saúde desaconselha o uso de medicamentos empregados no tratamento da LV para o tratamento da LVC, devido ao risco de desenvolvimento de resistência por parte do parasito a essas drogas. Mesmo assim, o tratamento de primeira escolha utilizado em grande parte do mundo é realizado com medicamentos utilizados na medicina humana, como os antimoniais pentavalentes. Adicionalmente, muitos dos tratamentos empregados tem um custo elevado e apresentam alta toxicidade. Por essas razões, torna-se essencial o desenvolvimento de novas opções medicamentosas para o tratamento da LVC (MEDKOUR *et al.*, 2020).

Medkour *et al.* (2020) conduziram na Argélia o primeiro estudo randomizado *in vivo* com o objetivo de analisar a eficácia do artesunato no tratamento da LVC. Para tal, 42 cães adultos foram divididos em dois grupos: o Grupo 1 (N = 26) representou o grupo controle positivo, sendo tratado com antimoniatto de meglumina 100 mg/kg/dia por 28 dias por via subcutânea e alopurinol 30 mg/kg/dia por via oral; o Grupo 2 (N = 16) recebeu 25 mg/kg de artesunato, uma vez ao dia, por via oral, por 6 dias. O acompanhamento dos pacientes foi realizado ao longo de 180 dias. Dos animais participantes, oito pacientes do grupo controle foram perdidos, sendo quatro devido à LVC. No grupo de teste, dois pacientes foram perdidos também devido à doença. Ao término do tratamento, tanto o grupo de controle quanto o grupo de teste demonstraram uma redução significativa na carga parasitária, acompanhada de uma notável melhora nos sinais clínicos. Não houve efeitos adversos decorrentes do tratamento no grupo do artesunato, enquanto o grupo tratado com antimoniatto de meglumina e alopurinol apresentou dor local, pancreatite, xantinúria e urolitíase. Após 6 meses, o tratamento se mostrou eficaz em $\frac{3}{4}$ dos casos em ambos os grupos. O estudo conclui que o medicamento

demonstra atividade leishmanicida e apresenta potencial no tratamento da LVC. Recomenda-se a realização de estudos adicionais para consolidar os achados encontrados.

4.9.4 Medicamentos leishmaniostáticos

4.9.4.1 Alopurinol

O alopurinol é um análogo da purina e é utilizado na medicina humana no tratamento da gota. O medicamento não é muito empregado no tratamento de LV, no entanto, na medicina veterinária, é a principal droga utilizada no tratamento da LVC. O fármaco pode ser usado como monoterapia ou, mais frequentemente, associado a medicamentos leishmanicidas, como a miltefosina e o antimoniato de meglumina (YASUR-LANDAU, 2016). Sua associação com tais fármacos está relacionada com diminuição nos casos de recidivas (BRASIL, 2020).

Sua ação se dá através da interferência na via das purinas e na síntese de RNA do parasito (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Os protozoários não têm a capacidade de sintetizar purinas, que são compostos orgânicos essenciais ao seu crescimento. Dessa maneira, esses parasitos utilizam o organismo hospedeiro como fonte de obtenção desses compostos. Por ser análogo das purinas, o alopurinol é captado pelo *L. infantum*, interferindo na síntese de RNA, bloqueando o crescimento do protozoário (JESUS, 2017).

A dose recomendada é de 10 mg/kg, por via oral, duas vezes ao dia, por um período de 6 a 12 meses, de acordo com o estadiamento do paciente. Dentre os efeitos adversos observados, destacam-se a formação de urólitos de xantina, a mineralização renal e a nefrolitíase (LEISHVET, 2022). A formação de cálculos de xantina é uma consequência possível do alopurinol, e o médico veterinário deve atentar-se a essa possibilidade. É recomendada a realização de exame de sedimento urinário e ultrassonografia em animais que estejam em tratamento com alopurinol (SCHÄFER; MÜLLER; NAUCKE, 2022).

Um estudo retrospectivo dos casos clínicos de quatro hospitais veterinários em uma região endêmica da Espanha, demonstrou que de 320 cães diagnosticados com leishmaniose e tratados com alopurinol, 13% apresentaram efeitos adversos urinários. Desses, 31% desenvolveram xantínúria, mineralização renal e urolitíase; 26,2% desenvolveram xantínúria e mineralização renal; 21,4% apresentaram xantínúria e urolitíase e 21,4% apresentaram apenas xantínúria. O estudo conclui que sinais clínicos associados à formação de cálculos de xantina

é o efeito adverso mais importante em se tratando do alopurinol. O estudo sugere que uma dieta pobre em purinas é recomendada na prevenção da xantínúria (TORRES *et al.*, 2016).

Um estudo de coorte retrospectivo foi conduzido na Holanda, com o propósito de analisar a sobrevida de pacientes que nunca haviam sido tratados para a LVC. Além disso, o estudo buscou avaliar os efeitos de um protocolo de tratamento em duas etapas, sendo a primeira uma monoterapia de alopurinol. Participaram do estudo 46 cães com LVC, e o protocolo padrão foi de alopurinol, com dose mínima de 20 mg/kg/dia. No primeiro retorno, realizado aos três meses de tratamento, os animais que não respondessem suficientemente bem à monoterapia de alopurinol seriam tratados com antimoníato de meglumina a 100 mg/kg, uma vez ao dia, por 3 semanas, ou miltefosina 2 mg/kg, a cada 24 horas, por 28 dias. Entretanto, cabe acrescentar que o tratamento foi realizado de acordo com o que os veterinários responsáveis julgaram necessário, e, por esse motivo, um dos cães participantes do estudo começou o tratamento com monoterapia de miltefosina, seguido da adição de alopurinol onze dias depois. Aos 6 meses de tratamento, no segundo retorno, a terapia com alopurinol era interrompida ou uma nova droga leishmanicida era adicionada, de acordo com o estado clínico do paciente. A média de sobrevida dos pacientes foi de 6,4 anos. Ao final do estudo, 67% dos pacientes atingiram remissão clínica apenas com o alopurinol e não precisaram de tratamentos adicionais (DE JONG *et al.*, 2023).

Noli e Auxilia (2005) realizaram uma revisão sistemática de ensaios clínicos com o objetivo de avaliar protocolos de tratamento para a LVC. Foram analisados estudos publicados entre 1980 e 2004. No que tange a monoterapia de alopurinol, oito ensaios clínicos foram encontrados. Desses, apenas quatro foram controlados, em que a monoterapia de alopurinol foi comparada com placebo, com antimoníato de meglumina sozinho, ou uma combinação de alopurinol com antimoníato de meglumina. De todos os estudos acerca do alopurinol como monoterapia, apenas um foi duplo-cego. O número total de animais estudados foi de 218, sendo que 50% dos animais foram tratados com monoterapia de alopurinol. As dosagens utilizadas variaram entre 15 e 30 mg/kg/dia, distribuídas em duas ou três administrações diárias. Em dois estudos, dosagens de 30 mg/kg não demonstraram maior eficácia, e a dose de 20 mg/kg apresentou resultados contraditórios, com sinais clínicos abrandados de 30% a 100%. No que tange o tempo de tratamento, animais tratados por 6 meses ou mais apresentaram boa melhora clínica, com exceção de dois estudos. Dois estudos que acompanharam os animais por mais tempo, observaram recidiva na maioria dos animais tratados. Contraditoriamente, em dois outros estudos, os pacientes que responderam bem ao tratamento não tiveram recidivas.

4.9.5 Medicamentos imunomoduladores

O uso da domperidona é frequentemente empregado como um complemento ao tratamento da LVC. Esta substância atua como um antagonista do receptor D2 da dopamina e exibe propriedades imunomoduladoras. Seu mecanismo de ação envolve o estímulo à produção de prolactina, que atua como um agente pró-inflamatório. Dessa forma, o medicamento contribui para interromper a progressão da doença ao impulsionar a resposta imune celular (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Seu efeito adverso mais comum é a galactorreia e a dose recomendada nos guidelines é de 0,5 mg/kg, via oral, a cada 24 horas, por um mês (LEISHVET, 2022).

Em um estudo com o objetivo de avaliar a eficácia da domperidona, 98 cães foram tratados com monoterapia do fármaco a 1 mg/kg, duas vezes ao dia, por um mês. Os pacientes foram classificados de acordo com o estágio da doença, divididos em dois grupos e acompanhados por um período de um ano. O grupo que se encontrava em estágios iniciais foi também o que apresentou melhores resultados após o tratamento e nos acompanhamentos subsequentes. Neste estudo, a domperidona se mostrou no controle e na redução dos sinais clínicos associados a LVC (GÓMEZ-OCHOA *et al.*, 2009).

Conforme Baxarias *et al.* (2019), embora vários estudos com resultados promissores tenham sido conduzidos para avaliar a eficácia da domperidona, é importante destacar que limitações, como a ausência de um grupo controle, o curto período de acompanhamento e a amostragem reduzida de animais estudados, apontam para a necessidade de pesquisas adicionais sobre o uso desse medicamento.

Sabaté *et al.* (2014) realizaram um ensaio clínico monocêntrico, não-cego, randomizado e controlado com o objetivo de avaliar a capacidade preventiva da domperidona em uma área endêmica. Foram selecionados 94 cães saudáveis, que foram posteriormente distribuídos em dois grupos. Um dos grupos (n = 44) recebeu tratamento preventivo com domperidona 0,5 mg/kg/dia, durante 30 dias, repetindo o protocolo a cada 4 meses; o segundo grupo (n = 46), serviu como controle negativo, não recebeu o tratamento preventivo. Durante a realização do estudo, nenhum dos pacientes fez uso de repelentes. Os animais foram acompanhados por um período de 21 meses, o que compreende dois ciclos do vetor. Durante a duração do estudo, 37 cães foram retirados do estudo por diversos motivos, como falha no tratamento preventivo e

mudança de endereço. O ensaio clínico sugere que o risco de desenvolver LVC foi sete vezes menor para os animais tratados com domperidona em comparação aos não tratados.

Um estudo multicêntrico, não-cego, com controle positivo e randomizado foi realizado na Espanha com o objetivo de testar a capacidade imunomoduladora de um suplemento alimentar rico em α -glucanos e nucleotídeos dietários em cães infectados com *L. infantum*. No estudo, 69 cães naturalmente infectados foram divididos em dois grupos: o Grupo 1, composto por 29 cães, recebeu tratamento com alopurinol, enquanto o Grupo 2, composto por 24 cães, recebeu tratamento com suplementos alimentares. Ambos os grupos foram tratados inicialmente com antimoniato de meglumina. Ao final do estudo, ambos os grupos apresentaram melhora significativa nos escores clínicos, entretanto, o grupo que recebeu os suplementos alimentares apresentou resultados significativamente melhores do que o grupo tratado com alopurinol. Não houve diferenças significativas na carga parasitária dos grupos, no entanto, 41% dos animais tratados com alopurinol apresentaram xantínúria e 0% dos animais que receberam apenas o suplemento alimentar apresentaram esse sinal clínico. Como os animais dos dois grupos obtiveram resultados semelhantes, o estudo conclui que os suplementos utilizados têm potencial para serem utilizados no tratamento da LVC a fim de evitar efeitos adversos do alopurinol, como a xantínúria (SEGARRA *et al.*, 2017).

Atualmente, há uma crescente discussão sobre o uso de princípios ativos naturais no tratamento da LVC, e a confirmação de sua eficácia requer estudos mais abrangentes (SCHÄFER; MÜLLER; NAUCKE, 2022). Um desses ingredientes ativos naturais, o alfa-bisabolol, presente nas essências de camomila em concentrações de até 50%, foi analisado em um estudo clínico na Espanha com cães naturalmente infectados com *L. infantum*. Quatro cães foram tratados com (-)-alfa-bisabolol, em dois intervalos, na dosagem de 30 mg/kg, por via oral, uma vez ao dia durante 30 dias com intervalo de 30 dias. O grupo foi comparado a um grupo controle de 6 cães tratados com antimoniato de meglumina 100 mg/kg. Após 3 meses, 3 dos 4 cães do grupo do bisabolol tiveram carga de leishmania reduzida em mais de 50%, a expressão do interferon aumentou e os cães tratados não apresentaram efeitos colaterais. Os resultados nos cães tratados com (-)-alfa-bisabolol foram superiores aos do grupo controle. O ingrediente ativo natural demonstrou estimular uma resposta imune Th1, o que levou à melhora dos sintomas clínicos e à redução da carga parasitária (CORPAS-LÓPEZ *et al.*, 2018). No entanto, estes resultados devem ser confirmados em estudos clínicos com maior número de indivíduos (SCHÄFER; MÜLLER; NAUCKE, 2022).

O Defensyn[®], é um suplemento alimentar contendo prebióticos, probióticos, beta-glucanas, ômega 6, nutracêuticos, entre outros compostos. Os beta-glucanos possuem atividade imunomoduladora, e sugere-se que sua ação estimula resposta imune do tipo Th1. Na Universidade Federal do Piauí, o Defensyn[®] foi testado em um estudo com o objetivo de avaliar a melhora clínica de cães com LVC tratados em conjunto com alopurinol. Foram utilizados 25 cães positivos para a LVC, que foram divididos em três grupos: o Grupo 1, composto por 9 cães, foi tratado com Alopurinol (15mg/kg/sid) e Defensyn[®] (3g/5kg/sid); O Grupo 2, também composto por 9 cães, recebeu apenas tratamento com Alopurinol (15mg/kg/sid); por fim, o Grupo 3, composto por 7 cães, foi considerado o grupo controle, e não recebeu tratamento com nenhum dos dois compostos. Os animais receberam tratamento por 60 dias e, após o fim do tratamento, foram avaliados quanto à melhora clínica, bioquímica e hematológica. Não houve melhoras na análise hematológica com os tratamentos empregados, e não foram constatadas alterações bioquímicas em nenhum dos grupos estudados. Com relação à análise parasitológica, apenas o Grupo 1 obteve melhora na carga parasitária. Esse grupo, tratado com alopurinol e Defensyn[®] também foi o que apresentou melhora mais significativa no quadro clínico. O estudo conclui que o suplemento possui atividade imunomoduladora promissora como coadjuvante no tratamento da LVC (MOURA *et al.*, 2022).

4.9.6 Imunoprofilaxia

4.9.6.1 LeishTec[®]

Até o momento foram desenvolvidas quatro vacinas para a prevenção da LVC, duas delas desenvolvidas no Brasil: Leishmune[®] e Leishtec[®]. A Leishmune foi descontinuada após apresentar baixa eficácia nos ensaios clínicos de fase III. A Leishtec[®] é atualmente a única vacina autorizada no país (MORALES-YUSTE; MARTÍN-SÁNCHEZ; CORPAS-LOPEZ, 2022). Esse imunoprofilático é composto de proteína A2 recombinante, proveniente da *L. donovani*, juntamente com um adjuvante de saponina (BANETH; SOLANO-GALLEGOS, 2022).

A Leishtec[®] possui eficácia de 71.4% e a recomendação é que a primeira vacinação seja dada em três doses, por via subcutânea, com intervalos de 21 dias, seguido de reforço anual (LEISHVET, 2022).

Foi realizado um estudo nos Estados Unidos com o propósito de examinar a ação imunomoduladora da vacina LeishTec[®] e seu impacto na evolução dos sinais clínicos da doença em cães assintomáticos. Este estudo, conduzido de maneira duplo-cega, randomizada e controlada por placebo, revelou que o uso da LeishTec[®] reduziu em 25% o risco de desenvolvimento de leishmaniose clinicamente evidente em cães assintomáticos. Além disso, em cães jovens assintomáticos, a vacinação demonstrou uma redução de 70% na mortalidade geral, comparada ao grupo controle que recebeu placebo. Os resultados indicam que a aplicação da LeishTec[®] em animais saudáveis infectados resultou em uma significativa redução na progressão dos sintomas clínicos e na mortalidade. O estudo conclui que a utilização da LeishTec[®] pode representar uma ferramenta eficaz para o controle da Leishmania em cães saudáveis infectados (TOEPP *et al.*, 2018).

Em maio de 2023, o Mapa emitiu uma nota determinando a suspensão da venda e da produção da vacina LeishTec. Essa decisão foi tomada após a constatação de um desvio de conformidade do produto, que apresentava proteína A2 em teor inferior ao limite mínimo necessário (BRASIL, 2023). Até a conclusão deste trabalho, a produção e comercialização da vacina ainda não foram restabelecidas. Ademais, não há registro no MAPA sob a recomendação deste imunobiológico no tratamento da LVC.

4.9.7 Limitações

Uma consideração importante a ser destacada é que alguns dos estudos incorporados neste trabalho apresentaram limitações. Nem todos foram controlados, o que pode influenciar na validade dos resultados obtidos. Além disso, muitos desses estudos foram realizados com um n amostral relativamente pequeno, o que pode afetar a generalização dos achados para uma população mais ampla. Alguns artigos também não forneceram uma descrição detalhada da metodologia empregada, o que pode dificultar a avaliação da robustez do estudo. Portanto, é crucial interpretar os resultados considerando essas potenciais limitações.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento da LVC permanece desafiador, não alcançando a cura parasitológica, um cenário ideal para a interrupção do ciclo de transmissão da doença. Os protocolos medicamentosos, além de muitas vezes demandarem um investimento financeiro substancial,

são prolongados e podem acarretar uma série de efeitos adversos nos pacientes. A heterogeneidade no tratamento é evidente, uma vez que deve se adequar às exigências legais e à disponibilidade de medicamentos em cada país. No Brasil, alguns medicamentos preconizados em guidelines europeus não são registrados para uso veterinário e são utilizados na medicina humana, impossibilitando sua aplicação. Apesar disso, algumas drogas que não são utilizadas no tratamento humano mostram atividade promissora, ainda que talvez não sejam de primeira escolha, oferecendo alternativas para animais impossibilitados de utilizar medicamentos de primeira escolha. Entretanto, para que seu uso seja possível, é necessário que esses fármacos sejam devidamente registrados no país.

Há a necessidade de pesquisas e desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes e acessíveis para o controle desta enfermidade. Em um cenário ideal, os fármacos disponíveis teriam a capacidade de eliminar, ou ao menos reduzir de maneira significativa, a carga parasitária, interrompendo assim o ciclo de transmissão, sem impor os efeitos adversos associados aos tratamentos atualmente disponíveis.

REFERÊNCIAS

- AKHOUNDI, M. *et al.* A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of *Leishmania* Parasites and Sandflies. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 3, p. e0004349, 3 mar. 2016.
- AKHOUNDI, M. *et al.* *Leishmania* infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 57, p. 1–29, out. 2017.
- ALBUQUERQUE, A. L. H. D.; LANGONI, H. A prática do tratamento na leishmaniose visceral canina (Ivc) em clínicas veterinárias, cuidados e protocolos. **Veterinária e Zootecnia**, v. 25, n. 1, p. 132–141, 4 dez. 2018.
- AL-KHALAIFAH, H. S. Major Molecular Factors Related to *Leishmania* Pathogenicity. **Frontiers in Immunology**, v. 13, p. 847797, 13 jun. 2022.
- AMANTE, J.F.A.A. *et al.* Marbofloxacin induces leishmanicidal activity and less inflammatory response in *Leishmania chagasi* infected macrophages. **Veterinária e Zootecnia**, v. 27, p. 1–11, 24 nov. 2020.
- ATHANASIOU, L. V. *et al.* Pharmacokinetics and tolerability of aminosidine after repeated administrations using an optimal dose regimen in healthy dogs and in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 1–2, p. 365–370, set. 2014.
- AYRES, E. D. C. B. S. *et al.* Clinical and parasitological impact of short-term treatment using miltefosine and allopurinol monotherapy or combination therapy in canine visceral leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 31, n. 3, p. e007222, 2022.
- BANETH, G.; SOLANO-GALLEGO, L. Leishmaniasis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 52, n. 6, p. 1359–1375, nov. 2022.
- BARBOSA, V. T. *et al.* Detecção de formas amastigotas em exame parasitológico de esfregaço obtido a partir de suabe conjuntival de cães com leishmaniose visceral. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 64, n. 6, p. 1465–1470, dez. 2012.
- BASMACIYAN, L.; CASANOVA, M. Cell death in *Leishmania*. **Parasite**, v. 26, p. 71, 2019.
- BAXARIAS, M. *et al.* Signalment, Immunological and Parasitological Status and Clinicopathological Findings of *Leishmania*-Seropositive Apparently Healthy Dogs. **Animals**, v. 13, n. 10, p. 1649, mai. 2023.
- BAXARIAS, M. *et al.* Immunotherapy in clinical canine leishmaniasis: a comparative update. **Research in Veterinary Science**, v. 125, p. 218–226, ago. 2019.
- BENCHIMOL, J. L. *et al.* Leishmanioses: sua configuração histórica no Brasil com ênfase na doença visceral nos anos 1930 a 1960. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Humanas**. Belém, v. 14, n. 2, p. 611–626, ago. 2019.

BENCHIMOL, J. L. Leishmaniasis of the New World from a historical and global perspective, from the 1930s to the 1960s. **História, Ciências, Saúde-Manguinhos**, v. 27, n. suppl 1, p. 95–122, set. 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde e Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria Interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008**. Proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Diário Oficial da União. Seção 1, p. 5. Brasília, DF, 12 jul. 2008.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral. 1. ed., 5. reimpr. – **Brasília : Ministério da Saúde**, 2014.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Coordenação de Fiscalização de Produtos Veterinários- DFIP-SDA – CPV. **Nota Técnica nº11/2016/CPV/DFIP/SDA/GM/MAPA**, 2016. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/insumos-agropecuarios/insumos-pecuarios/produtos-veterinarios/legislacao-1/notas-tecnicas/nota-tecnica-no-11-2016-cpv-dfip-sda-gm-mapade-1-09-2016.pdf> Acesso em: 20 ago. 2022.

BRASIL. Conselho Federal de Medicina Veterinária - CFMV. Comissão Nacional de Saúde Pública Veterinária do Conselho Federal de Medicina Veterinária. **Guia de Bolso Leishmaniose Visceral**. Comissão Nacional de Saúde Pública Veterinária. 1. ed., Brasília - DF, CFMV, 2020.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Situação epidemiológica da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2022. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/l/leishmaniose-visceral/situacao-epidemiologica-da-leishmaniose-visceral#:~:text=Em%201913%20%C3%A9%20descrito%20o,d e%20Boa%20Esperan%C3%A7a%2C%20Mato%20Grosso>. Acesso em: 12 set. 2023.

BRASIL. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA. **Mapa suspende fabricação e venda e determina o recolhimento de lotes de vacina contra Leishmaniose**. Mai. 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/noticias/mapa-suspende-fabricacao-e-venda-e-determina-o-recolhimento-de-lotes-de-vacina-contra-leishmaniose-apos-fiscalizacao>. Acesso em: 4 nov. 2023.

BRASILEISH. Grupo de Estudos em Leishmaniose Animal. **Diretrizes para o Diagnóstico, Estadiamento, Tratamento e Prevenção da Leishmaniose Canina**. [S. l.], 2018.

CANALS, M. B. **Leishmania infantum infection in dogs: from diagnosis to immunotherapy and prevention**. 2022. Tese de doutorado, medicina veterinária. Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, 2022.

CARTER, N. S. *et al.* Polyamine Metabolism in *Leishmania* Parasites: A Promising Therapeutic Target. **Medical Sciences**, v. 10, n. 2, p. 24, 22 abr. 2022.

CASARIL, A. E. *et al.* Intraspecific differentiation of sandflies specimens by optical spectroscopy and multivariate analysis. **Journal of Biophotonics**, v. 14, n. 4, p. e202000412, abr. 2021.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; ALVES, C. R.. **Leishmanioses do continente americano**. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2014. disponível em: <https://play.google.com/books/reader?id=YaRqDwAAQBAJ&pg=GBS.PP1.w.0.0.0.3&hl=pt> . Acesso em: 1 out. 2023.

CONCEIÇÃO-SILVA, F.; MORGADO, F. N. *Leishmania* Spp-Host Interaction: There Is Always an Onset, but Is There an End? **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 330, 19 set. 2019.

CORPAS-LÓPEZ, V. *et al.* Effectiveness of the sesquiterpene (-)- α -bisabolol in dogs with naturally acquired canine leishmaniosis: an exploratory clinical trial. **Veterinary Research Communications**, v. 42, n. 2, p. 121–130, jun. 2018.

CORTES, S. *et al.* *In Vitro* Susceptibility of *Leishmania infantum* to Artemisinin Derivatives and Selected Trioxolanes. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 59, n. 8, p. 5032–5035, ago. 2015.

COSTA, G. P. *et al.* Métodos de diagnóstico da leishmaniose canina. **Saber científico**, v. 9, n. 2, p. 95, 29 jan. 2021.

CROFT, S. L.; OLLIARO, P. Leishmaniasis chemotherapy—challenges and opportunities. **Clinical Microbiology and Infection**, v. 17, n. 10, p. 1478–1483, out. 2011.

DAZA GONZÁLEZ, M. A. *et al.* Short term impacts of meglumine antimoniate treatment on kidney function in dogs with clinical leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v. 126, p. 131–138, out. 2019.

DE JONG, M. K. *et al.* Survival time and prognostic factors in canine leishmaniosis in a non-endemic country treated with a two-phase protocol including initial allopurinol monotherapy. **Parasites & Vectors**, v. 16, n. 1, p. 163, 15 mai. 2023.

DORLO, T. P. C. *et al.* Miltefosine: a review of its pharmacology and therapeutic efficacy in the treatment of leishmaniasis. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v. 67, n. 11, p. 2576–2597, 1 nov. 2012.

EBIOMEDICINE. *Leishmania*: an urgent need for new treatments. Editorial. **eBioMedicine**, v. 87, p. 104440, jan. 2023.

FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. D. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 47–57, jun. 2012.

FORTES, K. P. **Purificação e caracterização parcial de uma serino-protease tipo tripsina isolada do intestino de larvas de *Lutzomyia longipalpis* (Diptera, Psychodidae)**. Dissertação apresentada ao programa de Pós-graduação em Parasitologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais para obtenção de título de

mestre em parasitologia. Universidade Federal de Minas Gerais - UFMG, Belo Horizonte - MG, 2013. Disponível em: <http://www.parasitologia.icb.ufmg.br/defesas/461M.PDF>. Acesso em: 11 nov. 2023.

FUJISAWA, K. *et al.* Emergent canine visceral leishmaniasis in Argentina: Comparative diagnostics and relevance to proliferation of human disease. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 15, n. 7, p. e0009552, 19 jul. 2021.

GIBSON, MARY. E. The identification of kala-azar and the discovery of *Leishmania Donovanii*. **Medical History**, v. 27, n. 2, p. 203–213, abr. 1983.

GIZZARELLI, M. *et al.* Retrospective Long-Term Evaluation of Miltefosine-Allopurinol Treatment in Canine Leishmaniosis. **Pathogens**, v. 12, n. 7, p. 864, 22 jun. 2023.

GÓMEZ-OCHOA, P. *et al.* Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: A clinical trial. **The Veterinary Journal**, v. 179, n. 2, p. 259–263, fev. 2009.

GONÇALVES, A. A. M. *et al.* An Overview of Immunotherapeutic Approaches Against Canine Visceral Leishmaniasis: What Has Been Tested on Dogs and a New Perspective on Improving Treatment Efficacy. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 9, p. 427, 18 dez. 2019.

HOSEIN, S.; BLAKE, D. P.; SOLANO-GALLEGO, L. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. **Parasitology**, v. 144, n. 1, p. 95–115, jan. 2017.

JESUS, C. de. **Farmacocinética do alopurinol em cães tratados para leishmaniose visceral naturalmente adquirida**. 2017. Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Ciência Animal nos Trópicos da Universidade Federal da Bahia, para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos. Universidade Federal da Bahia - UFBA, Salvador - BA, 2017.

JOGAS JR., D. G. **Leishmaniose tegumentar americana em perspectiva histórica e global (1876-1944)**. Tese de doutorado em história das ciências e da saúde. Capítulo 4. Casa de Oswaldo Cruz, Fiocruz, Rio de Janeiro. 2019.

KASABALIS, D. *et al.* Evaluation of nephrotoxicity and ototoxicity of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination in dogs with leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: A randomized, blinded, controlled study. **Experimental Parasitology**, v. 206, p. 107768, nov. 2019.

KASABALIS, D. *et al.* A randomized, blinded, controlled clinical trial comparing the efficacy of aminosidine (paromomycin)-allopurinol combination with the efficacy of meglumine antimoniate-allopurinol combination for the treatment of canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum*. **Experimental Parasitology**, v. 214, p. 107903, jul. 2020.

KIP, A. E. *et al.* Clinical Pharmacokinetics of Systemically Administered Antileishmanial Drugs. **Clinical Pharmacokinetics**, v. 57, n. 2, p. 151–176, fev. 2018.

KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary Pathology**, v. 51, n. 2, p. 527–538, mar. 2014.

KROLOW, M. T. *et al.* Possibilidades terapêuticas para o tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil: Revisão de literatura. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 11, p. e503111133760, 31 ago. 2022.

LAB&VET. Leishmaniose canina – desafios diagnósticos, tratamento e prevenção. 2019. Disponível em: <https://labvet.com.br/laboratorio-veterinario/41/2/19/Leishmaniose-canina-%E2%80%93-desafios-diagnosticos,-tratamento-e-prevencao>. Acesso em: 11 nov. 2023.

LANGONI, H. In: MEGID, J; RIBEIRO, M. G.; PAES, A. C. **Doenças infecciosas em animais de produção e de companhia**. 1 ed. [reimp.] Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2020. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2016. p. 1013-1021.

LEAL, G. G. de A. *et al.* Immunological profile of resistance and susceptibility in naturally infected dogs by *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 205, n. 3–4, p. 472–482, out. 2014.

LEI, Z. *et al.* Evaluation of Marbofloxacin in Beagle Dogs After Oral Dosing: Preclinical Safety Evaluation and Comparative Pharmacokinetics of Two Different Tablets. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 306, 10 abr. 2018.

LEISHVET. **Canine and feline leishmaniosis: a brief for the practicing veterinarian**. 5. ed. Málaga, Espanha: Universidad Complutense de Madrid, 2022.

MADDISON, J. E.; PAGE, S. W.; CHURCH, D. (EDS.). **Small animal clinical pharmacology**. 2 ed. Edinburgh; New York: Saunders/Elsevier, 2008.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, M. *et al.* *Leishmania* Hijacks Myeloid Cells for Immune Escape. **Frontiers in Microbiology**, v. 9, p. 883, 7 mai 2018.

MATRALIS, D. T. *et al.* Intracellular IFN- γ and IL-4 levels of CD4 + and CD8 + T cells in the peripheral blood of naturally infected (*Leishmania infantum*) symptomatic dogs before and following a 4-week treatment with miltefosine and allopurinol: a double-blinded, controlled and cross-sectional study. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 65, n. 1, p. 2, 26 jan. 2023.

MEDKOUR, H. *et al.* Potential of Artesunate in the treatment of visceral leishmaniasis in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: Efficacy evidence from a randomized field trial. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 14, n. 12, p. e0008947, 18 dez. 2020.

MERGEN, M. E.; SOUZA, M. M. Leishmaniose Visceral canina, métodos diagnósticos e tratamento na atualidade – Revisão de literatura. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**. v. 6, n. 13, p. 2024 - 1036. 1 jul. 2023.

MONTEIRO, M. *et al.* Diagnosis and clinical management of canine leishmaniosis by general veterinary practitioners: a questionnaire-based survey in Portugal. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 306, dez. 2021.

MORALES-YUSTE, M.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; CORPAS-LOPEZ, V. Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 8, p. 387, jul. 2022.

MOTTA, L. M.; EBERT, K. G.; BATISTA, K. Z. S. Diagnóstico imunológico e molecular da Leishmaniose Visceral Canina: Revisão. **Pubvet**, v. 15, n. 8, p. 1–7, ago. 2021.

MOURA, L. D. de. *et al.* Suplementação com Imunoestimulante (Defensyn®) na melhora clínica de cães com Leishmaniose Visceral. KONIG, 2022. Disponível em: <https://leishmaniosedefensyn.konigbrasil.com.br/>. Acesso em: 16 nov. 2023.

NASCIMENTO, J. D. O. **Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania Infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associada a alopurinol.** 2019. Dissertação apresentada ao Programa de Pós graduação em Biociência Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco para obtenção do grau de Mestre em Biociência Animal. Universidade Federal Rural de Pernambuco - UFRPE, Recife - PE, 2019.

NOGUEIRA, F. S. *et al.* Use of miltefosine to treat canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in Brazil. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 1, p. 79, dez. 2019.

NOGUEIRA, F. S. **Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por leishmaniose visceral submetidos à terapia com anfotericina B.** Tese de doutorado. Botucatu: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, 2007.

NOLI, C.; AUXILIA, S. T. Treatment of canine Old World visceral leishmaniasis: a systematic review. **Veterinary Dermatology**, v. 16, n. 4, p. 213–232, ago. 2005.

OLÍAS-MOLERO, A. I. *et al.* Scientometric analysis of chemotherapy of canine leishmaniasis (2000–2020). **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 1, p. 36, dez. 2021.

OPS, Organización Panamericana de la Salud. **Manual de procedimientos para la vigilancia y el control de las leishmaniasis en la Región de las Américas.** Washington, DC: Organización Panamericana de la Salud, 2023.

ORTEGA, V. *et al.* Improved efficacy of meglumine antimoniate incorporated in anionic liposomes against *Leishmania infantum* infecting canine macrophages. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v. 74, n. 6, p. 896–904, 9 jun. 2022.

PAHO, Pan American Health Organization. **Guideline for the Treatment of Leishmaniasis in the Americas.** 2ª edição. Washington, DC: Pan American Health Organization, 2022.

PALLO-ZIMMERMAN, L. M.; BYRON, J. K.; GRAVES, T. K. Fluoroquinolones: Then and Now. Compendium, Continuing Education For Veterinarians. CE article. **Vetlearn.com**. Jul. 2010.

PEIXOTO, H. M.; DE OLIVEIRA, M. R. F.; ROMERO, G. A. S. Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 20, n. 3, p. 334–352, mar. 2015.

PINEDA, C. *et al.* Treatment of canine leishmaniasis with marbofloxacin in dogs with renal disease. **PLoS ONE**, v.12, p.1-17, 2017.

REGUERA, R. M. *et al.* Current status on prevention and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 227, p. 98–114, ago. 2016.

ROUGIER, S. *et al.* Efficacy of different treatment regimens of marbofloxacin in canine visceral leishmaniosis: A pilot study. **Veterinary Parasitology**, v. 153, n. 3–4, p. 244–254, 2008.

ROUGIER, S. *et al.* One-year clinical and parasitological follow-up of dogs treated with marbofloxacin for canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 186, n. 3–4, p. 245–253, mai. 2012.

SABATÉ, D. *et al.* A single-centre, open-label, controlled, randomized clinical trial to assess the preventive efficacy of a domperidone-based treatment programme against clinical canine leishmaniasis in a high prevalence area. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 115, n. 1–2, p. 56–63, jul. 2014.

SAHA, P.; CHAUDHURY, A.; MAJI, A. K.. Sir U.N. Brahmachari and his battle against Kala-Azar. **Tropical Parasitology**. v. 11, n. 2, p. 89–91, jul. 2021.

SANTIN, F. *et al.* Acompanhamento laboratorial da função renal de cães sadios tratados experimentalmente com doses terapêuticas de anfotericina B. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1816–1823, dez. 2006.

SCHÄFER, I.; MÜLLER, E.; NAUCKE, T. J. Ein Update zur Leishmaniose des Hundes: Diagnostik, Therapie und Monitoring. **Tierärztliche Praxis Ausgabe K: Kleintiere / Heimtiere**, v. 50, n. 06, p. 431–445, dez. 2022.

SEGARRA, S. *et al.* Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 239, p. 50–56, mai. 2017.

SILVA, S. S. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: risk factors and spatial analysis in an endemic area of Northeastern Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 32, n. 2, 2023.

SOLANO-GALLEGOS, L. *et al.* LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasite & Vectors**, v.4, p.1-16, 2011.

SOLANO-GALLEGOS, L. *et al.* Early reduction of *Leishmania infantum*-specific antibodies and blood parasitemia during treatment in dogs with moderate or severe disease. **Parasites & Vectors**, v. 9, n. 1, p. 235, dez. 2016.

SOUZA, C. D. S. F. D.; SILVA, V. L.; LABARTHE, N. Evaluation of DPP® and SNAP® Rapid Tests for diagnosis of *Leishmania infantum* canine infections. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 52, p. e20190154, 2019.

SPINOSA, H. S. Antibióticos que interferem na síntese da parede celular (bacitracina, glicopeptídios e fosfomicina) e na permeabilidade da membrana celular (polimixinas). *In*: SPINOSA, H. S.; GÓRNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada à medicina veterinária**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 751.

STEVERDING, D. The history of leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 1, p. 82, dez. 2017.

TOEPP, A. *et al.* Randomized, controlled, double-blinded field trial to assess *Leishmania* vaccine effectiveness as immunotherapy for canine leishmaniosis. **Vaccine**, v. 36, n. 43, p. 6433–6441, out. 2018.

TORRES, M. *et al.* Adverse urinary effects of allopurinol in dogs with leishmaniasis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 57, n. 6, p. 299–304, jun. 2016.

TU, Y. The discovery of artemisinin (qinghaosu) and gifts from Chinese medicine. **Nature Medicine**, v. 17, n. 10, p. 1217–1220, out. 2011.

TUON, F. F.; AMATO NETO, V.; SABBAGA AMATO, V. *Leishmania*: origin, evolution and future since the Precambrian. **FEMS Immunology & Medical Microbiology**, v. 54, n. 2, p. 158–166, nov. 2008.

VIRBAC. **Milteforan™ o Único Produto Aprovado Para Tratamento da Leishmaniose Visceral Canina no Brasil**. Vetsmart. 2016. Disponível em: https://parse.vetsmart.com.br/parse/files/XhI4EJ09WGTwlYIT8kpQDrsvEsCjwatFNHHDHQOEi/vetsmart-contents_Documents_DC_Virbac_Milteforan_O_Unico_Produto_Aprovado_Tratamento_Leishmaniose_Visceral_Canina_Brasil.pdf. Acesso em: 15 out. 2023.

VOULDOUKIS, I. *et al.* Canine visceral leishmaniasis: Comparison of in vitro leishmanicidal activity of marbofloxacin, meglumine antimoniate and sodium stibogluconate. **Veterinary Parasitology**, v. 135, n. 2, p. 137–146, jan. 2006.

VOLPEDO, G. *et al.* Determinants of Innate Immunity in Visceral Leishmaniasis and Their Implication in Vaccine Development. **Frontiers in Immunology**, v. 12, p. 748325, 12 out. 2021.

WORLD ORGANIZATION FOR ANIMAL HEALTH (WOAH). **OIE Terrestrial Manual 2021**. Capítulo 3.1.11 Leishmaniosis. 2021. Disponível em: https://www.woah.org/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/3.01.11_LEISHMANIOSIS.pdf. Acesso em: 11 Out. 2023.

YASUR-LANDAU, D. *et al.* Allopurinol Resistance in *Leishmania infantum* from Dogs with Disease Relapse. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v. 10, n. 1, p. e0004341, 6 jan. 2016.

