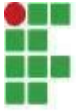


INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

BIANCA SOARES LIMA KNUPP

**SOROPREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM POPULAÇÃO FELINA ATENDIDA POR  
MUTIRÕES DE CASTRAÇÃO NO MUNICÍPIO DE LONDRINA NOS ANOS DE 2015 E  
2016**



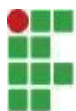
LONDRINA  
2018  
INSTITUTO FEDERAL DO PARANÁ

BIANCA SOARES LIMA KNUPP

**SOROPREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM POPULAÇÃO FELINA ATENDIDA POR  
MUTIRÕES DE CASTRAÇÃO NO MUNICÍPIO DE LONDRINA NOS ANOS DE 2015 E  
2016**

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Relatório de Pesquisa, apresentado ao curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná.

LONDRINA  
2018



## FOLHA DE APROVAÇÃO

BIANCA SOARES LIMA KNUPP

SOROPREVALÊNCIA DE LEISHMANIOSE EM POPULAÇÃO FELINA ATENDIDA POR  
MUTIRÕES DE CASTRAÇÃO NO MUNICÍPIO DE LONDRINA NOS ANOS DE 2015 E  
2016

Trabalho de Conclusão de Curso, modalidade Relatório de Pesquisa, apresentado ao Curso Técnico em Biotecnologia Integrado ao Ensino Médio do Instituto Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Técnico em Biotecnologia.

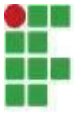
Orientador: \_\_\_\_\_

Prof(a). Orientador(a)

\_\_\_\_\_  
Prof(a). Componente de Banca 1

\_\_\_\_\_  
Prof(a). Componente de Banca 2

Londrina, \_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2018.



## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar sempre ao meu lado me ajudando, me dando paciência e forças para continuar.

Agradeço a minha família por sempre estar ao meu lado, por me dar apoio e por acreditarem em mim e nos meus sonhos.

Agradeço imensamente a todos os meus amigos que caminharam comigo durante esses quatro anos. Mas principalmente a Maria Eduarda, Leticia Carolina, Gustavo Yuji, Beatriz Sella, Felipe Paes, Heloisa Casarin, Jonatas Ortega, Bianca Souza, Gustavo Palote, Heloisa Lima e ao Bonde das Maravilhas, pois me ajudaram em momentos de dificuldades, me animaram todos os dias, e não me deixaram perder as esperanças.

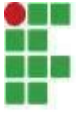
Agradeço imensamente de coração aos meus amigos confidentes como Bruna Eduarda, Caroliny Endo, Tiago Keneipp e Maria Fernanda que sempre compartilharam de todos os momentos comigo e que nunca me abandonaram nas dificuldades e que sempre me animaram das mais variadas formas, me mostrando através de pequenas coisas que a vida vai além.

Agradeço de coração o meu namorado Gabriel Kunhlein, que me conquistou durante todo o ano de 2018 e que mesmo com as minhas falhas e loucuras escolheu ficar ao meu lado. Agradeço por cada gesto de amor e carinho que muitas vezes foi combustível para os meus dias. Agradeço também por estar sempre ao meu lado me proporcionando momentos maravilhosos, por me tornar uma pessoa melhor a cada dia, por me ajudar a vencer minhas lutas diárias e por me fazer cada vez mais feliz.

Agradeço também aos amigos de fora que me ajudaram em momentos de dificuldades e que sempre estiveram ao meu lado, mas especialmente a Thais Gambi, Isabella Soares, Vitória Pieri, Pedro Dias, Maria Américo, Paula Beatriz, Vivian Marcucci, Gabriel Paduan, Vinicius Barbosa, Guilherme Evangelista, Douglas Castanho e Geovana Schiavoni.

Agradeço imensamente à minha orientadora Eloiza Teles Caldart e orientadora Luciana Fernandes por estarem sempre ao meu lado, por me auxiliarem e manterem a calma quando eu já não a tinha.

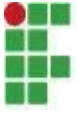
Agradeço ao meu ministério por ter pessoas incríveis e de com os corações mais



lindo. #VaiCresci

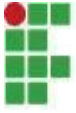
E por fim agradeço a todos que me ajudaram a trilhar esse caminho de dias de lutas, dias de glória não só durante os 4 anos mas também em toda a minha vida.

***Bianca Soares Lima Knupp***



Ministério da Educação

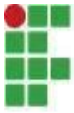
*Leve amor, não pesa.*



## RESUMO

As leishmanioses são um complexo de doenças causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. Nas Américas são doenças zoonóticas transmitidas através da picada de flebotomos pertencentes ao gênero *Lutzomyia*, mais comumente conhecidos como mosquito palha ou birigui. As leishmanioses levam a dois quadros clínicos principais: a leishmaniose tegumentar e a leishmaniose visceral; no entanto a tegumentar se apresenta de forma mais ampla no Brasil, enquanto que a visceral ainda não se instalou em alguns estados. Também se diferem em sintomas, uma vez que a tegumentar é uma doença que causa principalmente lesões cutâneas e a visceral ocorre de forma sistêmica crônica. São consideradas doenças tropicais de extrema importância para a Organização Mundial da Saúde. O número de infecções causadas pela leishmaniose no Brasil, tem se tornado cada vez mais significativo em animais domésticos como cães e gatos, no entanto não se sabe ao certo o papel dos felinos nesse ciclo, a literatura muito escassa a esse respeito. Apesar disso o Brasil é o país que contém o maior número de casos de leishmaniose felina no mundo, evidenciando cada vez mais a expansão da doença. O presente estudo analisou amostras sorológicas de felinos domésticos provenientes de mutirões de castração realizados no município de Londrina/PR, através do teste sorológico ELISA, utilizando antígenos totais de *Leishmania Viannia brasiliensis*, *Leishmania Leishmania amazonensis* e *Leishmania Leishmania infantum*. Os objetivos do trabalho foram observar qual a prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. para os diferentes antígenos e comparar com um estudo previamente publicado com felinos do Norte do Paraná. Observou-se uma diminuição na prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em felinos provenientes de mutirões de castração do município de Londrina e uma maior prevalência quando utilizado o antígeno *Leishmania Viannia brasiliensis*, espécie de mais relatada no estado. Sugerimos que nos anos de 2015 e 2016 os felinos de Londrina estavam menos expostos às leishmanias do que em 2014, no entanto, não podemos afirmar categoricamente, pois nossa amostragem foi de conveniência, o que significa que nossos resultados não podem ser extrapolados para a população felina de Londrina como um todo. Os resultados reforçam que é necessário utilizar como antígeno nos testes sorológicos a espécie de *Leishmania* spp. mais prevalente na região para uma maior sensibilidade diagnóstica. Para futuros estudos consideramos importante a avaliação clínica dos animais para podermos associar a positividade no teste sorológico com possíveis sinais clínicos e também acreditamos ser necessário realizar um estudo com uma amostragem representativa e aleatória dos felinos do município.

**Palavras-chave:** Gatos. *Leishmania*. Antígeno. ELISA.

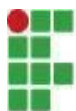


## ABSTRACT

*Leishmaniasis is a complex of diseases caused by protozoa of the genus Leishmania. In the Americas are zoonotic diseases transmitted through the bite of sandflies belonging to the genus Lutzomyia. Leishmaniasis leads to two main clinical features: tegumentary leishmaniasis and visceral leishmaniasis; however the tegumentar presents more broadly in Brazil, while the visceral has not yet been installed in some states. They also differ in symptoms, since the tegumentar is a disease that mainly causes cutaneous lesions and the visceral one occurs in systemic chronic form way. They are considered tropical diseases of extreme importance for the World Health Organization. The number of infections caused by leishmaniasis in Brazil has become increasingly significant in domestic animals such as dogs and cats, however the role of felines in this cycle is not clear, the literature is very scarce in this regard. Despite this, Brazil is the country that presents the largest number of cases of feline leishmaniasis in the world, showing more and more the spread of the disease. The present study analyzed serological samples of domestic cats from castration groups conducted in the city of Londrina / PR using the ELISA serological test with total antigens of Leishmania Viannia brasiliensis, Leishmania Leishmania amazonensis and Leishmania Leishmania infantum. The aim of this study was to observe the differences in prevalence between antigens of anti-Leishmania spp. and compare it with a study previously published with felines from the Northern Parana. There was a decrease in the prevalence of anti-Leishmania spp. antibodies in felines from castration groups of the municipality of Londrina and a higher prevalence when using the antigen Leishmania Viannia brasiliensis, the most reported species in the state. We suggest that in the years 2015 and 2016 the felines of Londrina were less exposed to leishmanias than in 2014, however, we can not state categorically, because our sampling was of convenience, which means that our results can not be extrapolated to all the cat population of Londrina as a whole. The results confirm that it is necessary to use as antigen in the serological tests the species of Leishmania spp. more prevalent in the region for greater diagnostic sensitivity. For future studies we consider important the clinical evaluation of the animals to be able to associate the positivity in the serological test with possible clinical signs and also believe that it is necessary to carry out a study with a representative and random sampling of the felines of the municipality*

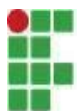
**Key-words:** Cats. Leishmania. Antigen. ELISA.





## LISTA DE FIGURAS

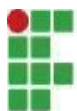
FIGURA 1 – Forma promastigota de <i>Leishmania</i> spp.	16
FIGURA 2 – Forma amastigota de <i>Leishmania</i> spp.	16
FIGURA 3 – <i>Lutzomyia longipalpis</i> - vetor da leishmaniose visceral no Brasil.	17
FIGURA 4 – Ciclo biológico de <i>Leishmania</i> spp.	18
FIGURA 5 – Distribuição das leishmanioses no Brasil e no estado do Paraná de acordo com os casos notificados no SINAN em 2015.	21
FIGURA 6 – Lesões de pele em gato naturalmente infectado por <i>L. (L.) infantum</i> .	22
FIGURA 7 – RIFI positiva	23
FIGURA 8 – Placas de ELISA	24



## LISTA DE GRÁFICOS

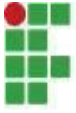
GRÁFICO 1 – Número de animais positivos ao ELISA por antígeno e por ano ao longo do tempo.

29



## LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – Amostras reagentes ao ELISA por mutirão e por antígeno.	28
TABELA 2 – Sensibilidade, especificidade dos testes realizados.	30
TABELA 3 – Soroprevalência de <i>Leishmania</i> spp. em felinos no Brasil.	30



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

BHI – *Brain Heart Infusion*

CDC – *Center for Disease Control and Prevention*

CEUA-UEL – Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Londrina

°C – Grau Celsius

DNA – *Ácido Desoxirribonucleico/ Deoxyribonucleic Acid*

DO – Densidade Ótica

ELISA – *Ensaio imunoenzimático/ Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

HV – Hospital Veterinário

LT – *Leishmaniose Tegumentar*

LV – *Leishmaniose Visceral*

MS – Ministério da Saúde

mL – Mililitro

nm – Nanômetro

OMS – Organização Mundial da Saúde

OPD – *O-phenylenediamine Dihydrochloride*

PCR – *Reação em Cadeia da Polimerase/ Polimerase Chain Reaction*

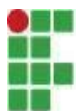
RIFI – *Reação de Imunofluorescência Indireta*

ROC – *Receiver Operating Curve*

SINAN – Sistema de Informação de Agravos de Notificação

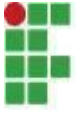
UEL – Universidade Estadual de Londrina

µg/mL – Microgramas/mililitro



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	14
1.1 TEMA	14
1.2 PROBLEMA	15
1.3 HIPÓTESE	15
1.4 OBJETIVO GERAL	15
1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
1.6 JUSTIFICATIVA	
<b>2 DESENVOLVIMENTO</b>	16
2.1 LEISHMANIOSES	16
2.1.2 Leishmaniose Tegumentar	18
2.1.3 Leishmaniose Visceral	19
2.2 LEISHMANIOSE FELINA	21
2.3 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	23
<b>3 METODOLOGIA</b>	25
3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS	25
3.2 OBTENÇÃO DO ANTÍGENO	25
3.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO	25
3.4 ANÁLISE DOS DADOS	26
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO</b>	28
<b>5 CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	32
<b>REFERÊNCIAS</b>	33



# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 TEMA

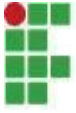
O gênero *Leishmania* pertence à Ordem Kinetoplastida e Família Trypanosomatidae, é composto por espécies de protozoários que infectam numerosas espécies de mamíferos (GRAMICCIA, 2011). Infecções pelo supracitado parasito podem levar a doenças com amplo espectro de sinais clínicos; essas, são coletivamente conhecidas como leishmanioses, as quais são doenças infecciosas zoonóticas e negligenciadas (DUJARDIN et al., 2008). As zoonoses são doenças que podem ser transmitidas naturalmente dos animais aos humanos e vice-versa, podendo originar graves problemas sanitários, econômicos e sociais (SÁ; FERREIRA, 2007).

Apesar de ser uma doença que atinge milhões de pessoas, estima-se que muitos casos não são notificados, e isso se dá principalmente pelo fato de que somente 33 dos países apresentam notificação obrigatória, permanecendo uma das doenças mais negligenciadas do mundo (ALVAR et al., 2012). São numerosos os registros de casos de infecção causados pelas leishmanioses em animais domésticos como cães e gatos e também em seres humanos no Brasil (BRASIL, 2017).

A leishmaniose tegumentar apresenta ampla distribuição geográfica pelo Brasil, contendo registros de casos em todas as regiões, sendo que a partir de 1980 ocorreu um aumento expressivo no número de casos até que em 2003 todos os estados brasileiros possuíam casos registrados (BRASIL, 2017). A leishmaniose visceral se encontra distribuída em quatro continentes, 97% dos casos notificados no continente americano ocorrem no Brasil (PIRAJÁ, 2013).

## 1.2 PROBLEMA

Estudos prévios realizados com felinos domésticos provenientes de projetos de controle de natalidade realizados em municípios do Norte do Paraná nos anos de 2004 a 2014 demonstraram uma prevalência geral de 8,5% (58/679), com aumento nos anos mais recentes registrando 40,8% no ano de 2014 no município de Londrina (MATOS et



al., 2018). Alguns autores sugerem que o aumento no número de casos de felinos domésticos infectados com *Leishmania* spp. pode estar relacionado a um papel importante dessa espécie animal na epidemiologia da doença (MANCIANTI, 2004).

### 1.3 HIPÓTESE

O parasito *Leishmania* spp. está presente no Norte do Paraná e pode infectar felinos domésticos levando-os a produzir anticorpos.

### 1.4 OBJETIVO GERAL

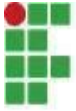
Determinar a prevalência de anticorpos *anti-Leishmania* spp. no soro de felinos domésticos provenientes de mutirões de castração realizados nos anos de 2015 e 2016 no município de Londrina, Paraná, Brasil.

### 1.5 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se há diferença entre os resultados de prevalência de anticorpos utilizando-se diferentes antígenos totais (*Leishmania Viannia brasiliensis*, *Leishmania Leishmania amazonensis* e *Leishmania Leishmania infantum*);
- Analisar se a prevalência obtida corrobora com os resultados de estudos prévios no município de Londrina, Paraná.

### 1.6 JUSTIFICATIVA

A escolha do trabalho se deu devido a expansão da doença e ao aumento drástico no número de casos, esta passou a ser considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) uma das prioridades dentre as doenças tropicais (GONTIJO; MELO, 2004).



## 2 DESENVOLVIMENTO

### 2.1 LEISHMANIOSES

Zoonoses são doenças que podem ser transmitidas naturalmente dos animais aos humanos e vice-versa, podendo originar graves problemas sanitários, econômicos e sociais (SÁ; FERREIRA, 2007).

A leishmaniose é uma zoonose causada pelo protozoário do gênero *Leishmania*, pertencente à família Trypanosomatidae. O parasito pode apresentar-se em duas formas biológicas: amastigotas e promastigotas (FIGURAS 1 e 2). Como parasito heteroxeno a leishmania necessita de dois hospedeiros, um hospedeiro vertebrado e um invertebrado, para que seu ciclo biológico seja completo. Em hospedeiros vertebrados como homem e animais o parasito é encontrado na forma amastigota, a forma promastigota, por sua vez, é encontrada no aparelho digestivo do inseto vetor (MORAIS, 2014).

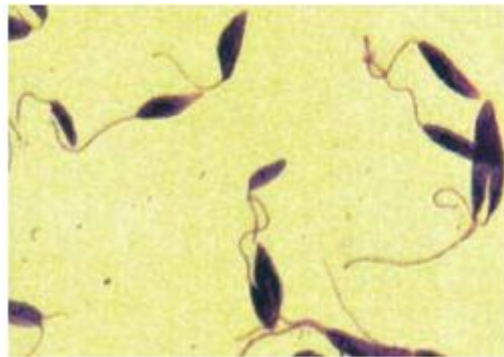


FIGURA 1 – Forma promastigota de *Leishmania* spp.

Fonte: BRASIL, 2017

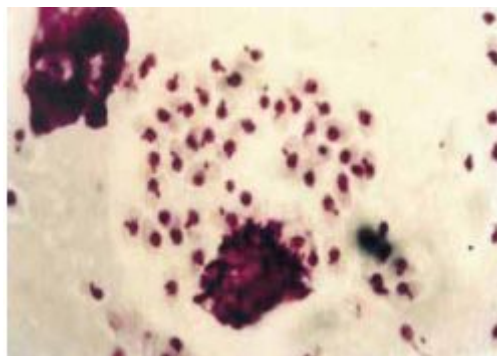
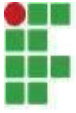


FIGURA 2 – Forma amastigota de *Leishmania* spp.





Fonte: BRASIL, 2017

Todas as espécies do gênero *Leishmania* no Brasil são transmitidas por meio da picada de flebotomíneos infectados pertencentes à ordem Díptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae, gênero *Lutzomyia* (FIGURA 3). No entanto, somente as fêmeas possuem aparelho bucal para picar a pele de vertebrados e sugar o sangue, inoculando o parasito (FORATTINI, 1973). Esses flebótomos são conhecidos como mosquito-palha, tatuquira, birigui, entre outros (BRASIL, 2017)



FIGURA 3 – *Lutzomyia longipalpis* - vetor da leishmaniose visceral no Brasil

Fonte: BRASIL, 2014

Os flebótomos possuem quatro fases em seu ciclo biológico: ovo, larva, pupa e adulto. Ambientes úmidos e ricos em matéria orgânica são favoráveis ao seu desenvolvimento (MORAIS, 2014). Como as fêmeas necessitam de sangue para ovoposição, elas possuem a característica de realizar a hematofagia, dessa forma ingerem macrófagos infectados com amastigotas que ao chegar no trato digestório transformam-se em promastigotas. Quando o flebótomo infectado pica outro animal na intenção de se alimentar, inocula promastigotas que ao adentrar o tecido são fagocitadas e por conta da acidez acabam perdendo seu flagelo no processo, transformando-se em amastigotas, fechando o ciclo (FIGURA 4) (CRMV-PR, 2016).

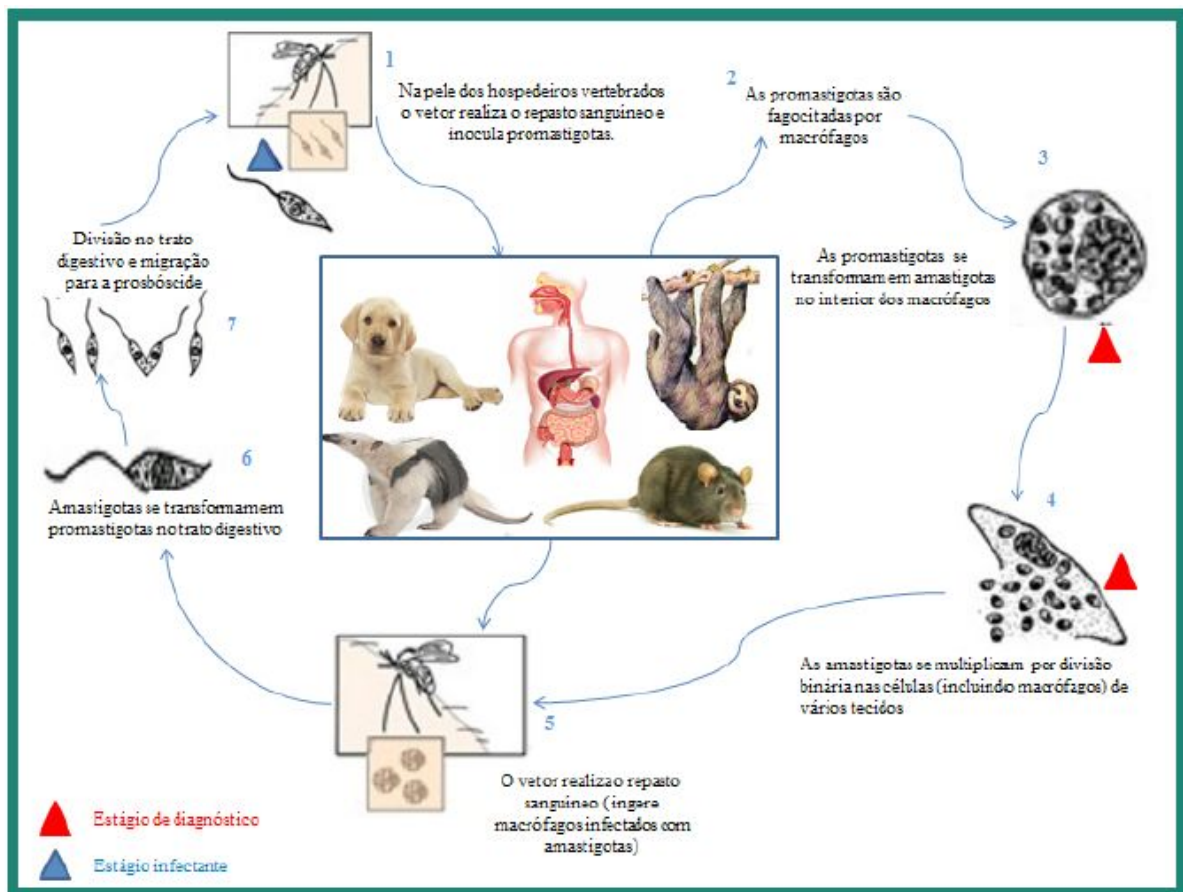
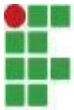


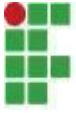
FIGURA 4 – Ciclo biológico de *Leishmania* spp.

Fonte: CRMV-PR, 2016

As leishmanioses são comumente classificadas como leishmaniose tegumentar (LT), que pode se subdividir em cutânea e mucocutânea, e como leishmaniose visceral (LV) (GRADONI & GRAMICCIA, 2005). De acordo com Brasil (2017), os sintomas apresentam distinção em consequência do agente causador, da imunidade do hospedeiro e do local da picada do vetor.

### 2.1.2 Leishmaniose Tegumentar

A LT pode ser causada por sete agentes etiológicos no Brasil: *L. (V.) braziliensis*, *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) guyanensis*, *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi*, sendo que as duas primeiras já foram relatados em animais e humanos no Norte do Paraná (SILVEIRA et al., 1990; CASTRO et al., 2007; HOFFMANN et al., 2012).



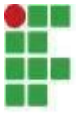
Segundo a OMS, a LT é uma das seis doenças infecciosas mais importantes por ter capacidade de produzir deformidades (BRASIL, 2017). A LT apresenta ampla distribuição geográfica pelo Brasil, contendo registros de casos em todas as regiões, sendo que a partir de 1980 ocorreu um aumento expressivo no número de casos até que em 2003 todos os estados brasileiros possuíam casos registrados (BRASIL, 2017). Em seres humanos a LT é uma doença que afeta ambos os sexos e todas as faixas etárias; no entanto, em 2014 a faixa etária mais acometida foi a dos maiores de 10 anos, obtendo 92,5% do total de casos, e com relação ao sexo, 74% eram do sexo masculino. (BRASIL, 2017). O Norte do Paraná é considerado endêmico para LT em humanos (FIGURA 5) e cães, o que significa dizer que um número de casos constante da doença ocorre nessa região anualmente.

A forma cutânea é conhecida pela presença de lesões ulceradas expostas na pele no ponto de inoculação. A lesão primária é frequentemente única, no entanto conforme o número de picadas do mosquito, maior é o número de lesões, levando a ocorrer a disseminação da doença (GONTIJO; CARVALHO, 2002).

Já a forma mucosa é conhecida como secundária a lesão da cutânea, pois se manifesta em forma de úlceras nas áreas mucosas do corpo, atingindo a orofaringe, palato, lábios, língua, laringe, traqueia e árvore respiratória superior, sendo um sintoma de fácil visualização. Apesar de causar obstrução nasal, epistaxe, disfagia, dispneia, rouquidão e tosse, não apresenta relatos de dor. Dentre os casos de LT notificados no Brasil, 3% a 6% são sucedidos da mucosa, porém em lugares endêmicos pode apresentar-se maior que 25% (BRASIL 2017). Segundo Gontijo e Carvalho (2002) o risco de deformidade permanente é considerável.

### 2.1.3 Leishmaniose Visceral

Diferentemente da LT, o principal agente etiológico da LV no Brasil é a *L. (L.) infantum* e seu vetor o *Lutzomyia longipalpis* (BRASIL, 2014). Também conhecida como calazar, se apresenta de forma crônica, podendo ser letal ao homem quando não há tratamento adequado (GONTIJO; MELO, 2004). A LV se encontra distribuída em quatro continentes, sendo que 97% dos casos descritos no continente americano se encontram



no Brasil (PIRAJÁ, 2013). No país ela afeta pessoas de todas as idades, 80% dos casos registrados ocorreram em crianças, no entanto a doença também ocorre em jovens adultos (GONTIJO; MELO, 2004). A LV tornou-se uma das prioridades para a OMS pois houve uma grande dispersão da doença e aumento de casos (GONTIJO; MELO, 2004).

Com o processo de periurbanização, a LV inicialmente considerada uma doença rural passou a ocorrer em áreas urbanas de pequeno e médio porte, atualmente também se encontra em grandes centros urbanos, evidenciando esse processo (PIRAJÁ, 2013). É prova da franca expansão geográfica dessa doença o que tem ocorrido na região Sul do Brasil nos últimos anos. O vetor foi identificado pela primeira vez em 2009 no Rio Grande do Sul (BRASIL, 2010), estado que apresenta 19 casos humanos confirmados; Santa Catarina teve os primeiros casos caninos notificados em 2011 e o primeiro caso humano notificado em agosto de 2017 (WENZEI, 2017). No estado do Paraná, o vetor foi descrito pela primeira vez em 2012, em Foz do Iguaçu (SANTOS; FERREIRA; BISELTO JUNIOR, 2012), região Sudoeste do estado (500 km de Londrina), em 2013, casos caninos autóctones já demonstravam a rápida expansão do agente (BISELTO-JUNIOR; THOMAZ-SOCCOL; NAVARRO, 2014) e os primeiros casos humanos notificados ocorreram a partir de 2015. O Norte do Paraná é considerado livre da LV em humanos (FIGURA 5) e cães.

Por apresentar sintomas em comum com outras doenças, a LV dispõe um diagnóstico clínico complicado. Em pacientes humanos os sintomas se manifestam como, febre irregular, anemia, fraqueza, emagrecimento, inchaço abdominal, aumento do fígado e do baço (SANTA CATARINA, 2018). Já em animais é observado um amplo espectro de sinais clínicos, desde animais aparentemente saudáveis, passando por oligossintomáticos, até estágios severos da doença. Nos cães a doença se encontra de forma sistêmica crônica, a qual dependendo da fase em que se encontra e de suas condições imunológicas pode levar a morte. Grande parte de cães infectados exibem-se assintomáticos, mas apesar disso indica que são fontes de infecção e que possuem papel ativo na transmissão (GONTIJO; MELO, 2004). No Brasil, casos graves e até letais da LV estão associados a quadros de má nutrição e infecções concomitantes (GONTIJO e MELO, 2004).

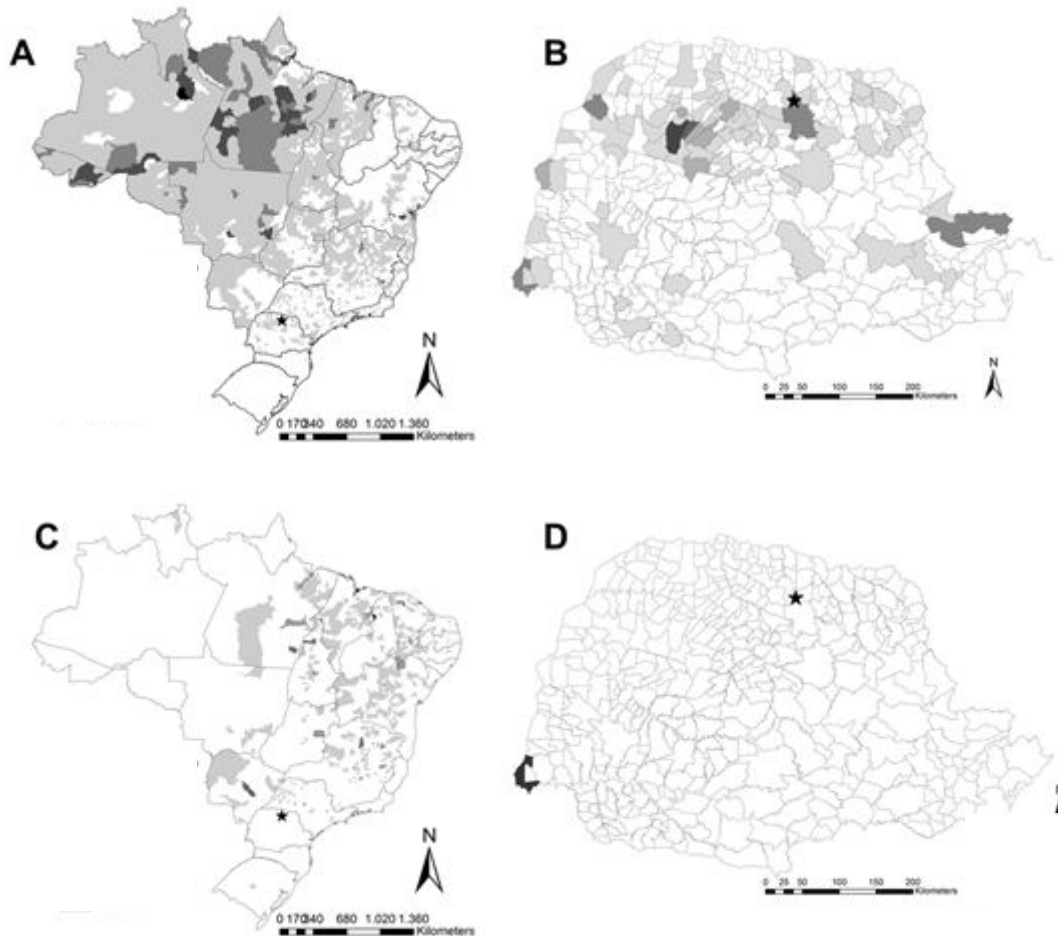
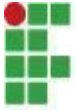


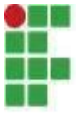
FIGURA 5 – Distribuição das leishmanioses em humanos no Brasil e no Paraná de acordo com os casos notificados no SINAN (sistema de informação de agravos de notificação) no ano de 2015. A. Distribuição da LT no Brasil. B. Distribuição da LT no Paraná. C. Distribuição da LV no Brasil. D. Distribuição da LV no Paraná. I

Fonte: DO NASCIMENTO BENITEZ et al., 2018

## 2.2 LEISHMANIOSE FELINA

Na atualidade o Brasil é o lugar que possui o maior número de ocorrências referentes a leishmaniose felina no mundo, sendo descrita em vários estados (ALVES-MARTIN, 2013).

Entretanto, ainda não há evidências científicas suficientes para comprovar o papel desta espécie animal como reservatório das espécies de leishmania, sendo considerados



hospedeiros acidentais da doença (BRASIL, 2017). Segundo Godoi et al., (2016), há controvérsias entre os autores em relação ao papel dos felinos pois não existem estudos suficientes que comprovem a função do mesmo no ciclo. Acredita-se que felinos possuem uma resistência natural ao parasita atribuído a fatores genéticos não dependendo somente da imunidade celular, mas há uma suscetibilidade de se tornarem potenciais hospedeiros reservatórios. Estudos sobre a soroprevalência em felinos de áreas endêmicas demonstram uma baixa prevalência da doença e infecção, no entanto, não está claro se são devidos a falhas na detecção de anticorpos ou ao fato dos gatos apresentarem resistência natural às leishmanioses (KIRKPATRICK, 1984).

Apesar de não contrair a doença o gato possui atributos necessários para ser infectado por leishmania, ele é considerado fonte de alimentação sanguínea para flebótomos vetores e é um dos animais domésticos que está sempre em contato direto com o humano e que se encontra bastante presente em áreas endêmicas (GODOI et al., 2016). Por apresentarem o hábito comportamental de caça predatória noturna e deslocamento de longa distância de suas residências, frequentando áreas silvestres e domésticas, favorecem a infecção e a dispersão do parasito (SILVA, 2008).

Segundo Savani (2004), os felinos podem se apresentar assintomáticos ou ter a doença associada às enfermidades que causam imunossupressão, a LT é a forma mais comum sendo reconhecida em vários países. Em felinos infectados a forma cutânea se manifesta principalmente no nariz e nas orelhas (FIGURA 6), podendo ocorrer em ambos (DANTAS-TORRES, 2006). Há também o envolvimento dos linfonodos e do sangue (ALVES-MARTIN, 2013). Já a manifestação visceral é pouco comum em gatos, contando com poucos relatos de caso (ROSSI, 2007).



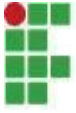


FIGURA 6 – Lesões de pele em gato naturalmente infectado por *L. (L.) infantum*.

Fonte: VIDES et al., 2011

## 2.3 MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

Há três categorias de métodos diagnóstico capazes de identificar a leishmaniose, são eles: métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares.

O método parasitológico é fundamentado na observação do parasita em meios citológicos, no entanto é considerado um teste de baixa sensibilidade, pois depende do tipo de material biológico coletado, do grau de parasitemia e do tempo de leitura da lâmina. O diagnóstico sorológico dispõe de dois testes, no qual são os mais recomendados pelo Ministério da Saúde (MS) pela alta sensibilidade e especificidade, sendo eles: reação de imunofluorescência indireta (RIFI) (FIGURA 7) e o imunoenzimático (ELISA) (FIGURA 8). Os métodos moleculares são baseados na reação em cadeia da polimerase (PCR) que identifica e amplia seletivamente o DNA do parasito, considerado um teste que apresenta alta sensibilidade e especificidade. No entanto é um teste que possui alto custo e a necessidade de laboratórios bem equipados (ROSSI, 2007).

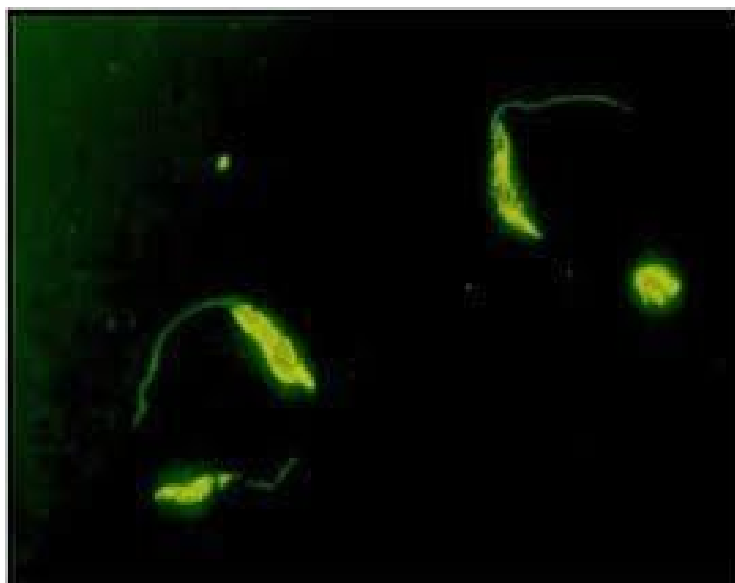


FIGURA 7 – RIFI positiva.

Fonte: LACEN/SC, SEM ANO

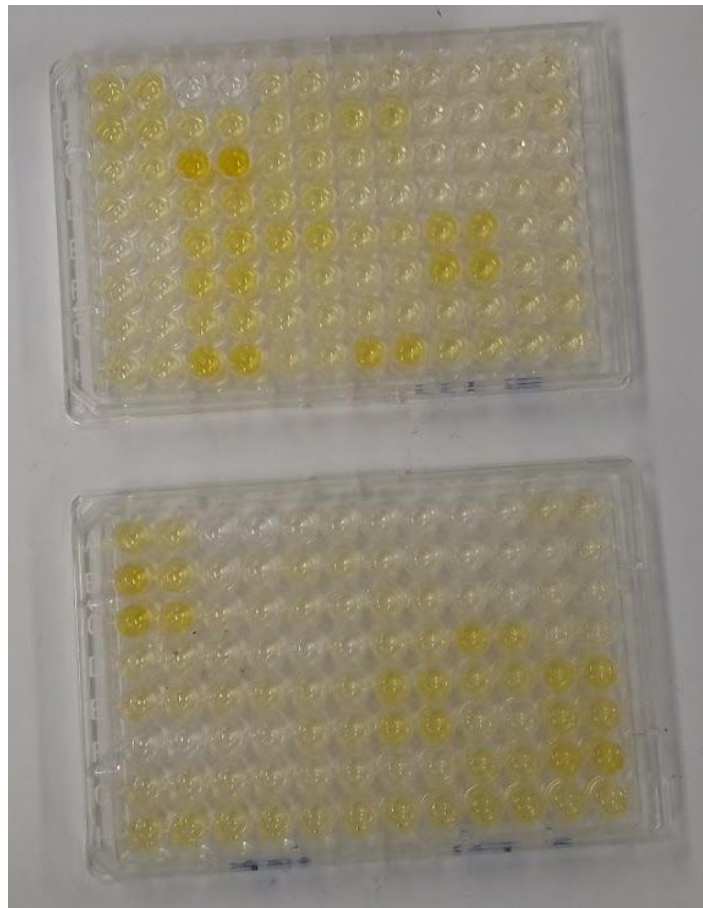
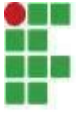
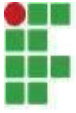


FIGURA 8 – Placas de ELISA

Fonte: Autoria própria





### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 OBTENÇÃO DAS AMOSTRAS

Amostras de soro de 199 felinos domésticos (*Felis catus domesticus*) foram obtidas por conveniência nos anos de 2015 e 2016 durante projetos de controle de natalidade realizados pelo Hospital Veterinário (HV) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), Paraná, Brasil. As amostras foram armazenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$  até o momento do uso.

Os animais do presente estudo eram provenientes de quatro mutirões de castração, cujo público alvo eram gatos de organizações não governamentais de proteção animal e/ou de acumuladores de animais residentes no município de Londrina.

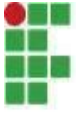
A coleta de amostras sorológicas de felinos foi realizada mediante aprovação pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (nº60/08) da UEL (CEUA-UEL).

#### 3.2 OBTENÇÃO DO ANTÍGENO

Formas promastigotas de *L. V. braziliensis* foram inoculadas em meio nutritivo líquido 199 e cultivadas a  $24^{\circ}\text{C}$  em garrafas de cultivo celular por cinco dias. As formas promastigotas de *L. L. amazonensis* e *L. L. infantum* foram inoculadas em meio nutritivo líquido BHI e sólido BHI-ágar-sangue de coelho e cultivadas a  $24^{\circ}\text{C}$  em tubos cônicos de 15 mL por cinco dias. A fase líquida de cada cultivo foi recolhida e processada conforme descrito por Szarzick, 2005.

#### 3.3 ENSAIO IMUNOENZIMÁTICO

O ensaio imunoenzimático (ELISA) é um diagnóstico indireto de reação antígeno-anticorpo, no qual não se detecta agente etiológico de forma direta, e sim, o anticorpo produzido contra o agente etiológico em questão. A positividade nesse tipo de teste não é sinônimo de doença, mas sim, de contato prévio do animal com o agente etiológico causador da doença. Segundo Engval & Perlmann (1972), o método é baseado na leitura do espectro de cor resultante da reação antígeno-anticorpo e

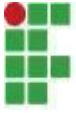


conjugado com peroxidase. A gradação de cores gerada pela reação da peroxidase varia de amarelo pálido a amarelo intenso ou laranja. Assim sendo, quanto mais alto o nível de anticorpos presentes na amostra sorológica, mais intensa será a cor.

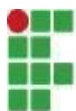
O teste sorológico de ELISA foi fundamentado no trabalho de Szarzick (2005) contendo algumas alterações. Para a realização do ensaio imunoenzimático, foram utilizados quatro controles positivos, quatro controles negativos, um branco e 39 amostras em cada microplaca com 96 poços, todos diluídos a 1:100 e testados em duplicata. Para isto, sensibilizou-se as placas com antígenos totais solúveis na concentração de 2,5 µg/mL de *L. (L.) amazonensis*, *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) infantum*, com incubação de 16 horas a 4°C. Para a etapa de bloqueio, utilizou-se caseína a 2% com a finalidade de ocupar os espaços livres do suporte sólido para que não sejam ocupadas por moléculas indesejadas, e posteriormente incubada por 1 hora a 37°C. Depois adicionou-se os soros, e os mesmos foram incubados novamente durante 1 hora à 37°C. Adicionou-se às placas o anti-anticorpo conjugado com peroxidase, as diluições variaram de acordo com o antígeno com o qual a placa havia sido sensibilizada, ou seja, para a *L. (L.) amazonensis* a diluição foi 1:5.000 para a *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) infantum* foi de 1:10.000, em seguida foi incubado por 1 hora a 37°C. Após as etapas de sensibilização, bloqueio, adição do soro e do conjugado todos os poços da microplaca foram lavados por três vezes com solução de lavagem. Por fim adicionou-se 100 µL do substrato juntamente com o cromógeno específico para a enzima conjugada ao anti-anticorpo (OPD). Uma reação de oxidação ocorreu na presença da peroxidase, acarretando em uma mudança de cor. Para a parada da reação foi adicionado 50 µL de solução de ácido sulfúrico 2%. A absorbância foi determinada, imediatamente, por leitor de ELISA (iMark, Bio-Rad, Califórnia, USA) utilizando-se comprimento de onda 490 nm.

O ponto de corte de cada placa foi obtido pela média da densidade ótica (DO) dos controles negativos somada a três desvios-padrão. Após o cálculo por placa, o ponto de corte geral foi calculado usando-se a curva ROC (*receiver operating curve*) pelo programa estatístico MedCalc 13.2.0 (SCHOONJANS et al., 1995), o ponto de corte obtido por meio da curva ROC otimiza a sensibilidade e especificidade do teste.

### 3.4 ANÁLISE DOS DADOS



Os resultados foram digitados em Excel, a análise estatística descritiva dos dados foi realizada com o programa EpiInfo 7.1.5.2 (CDC-Atlanta, USA).



## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados de soroprevalência obtidos no presente estudo são apresentados na Tabela 1 de acordo com o mutirão de castração em questão e com o antígeno utilizado para sensibilização da placa. Analisando a Tabela 1 é possível observar que no mutirão 4 o antígeno *L. (L.) amazonensis* apresentou maior ocorrência de positivos se comparado aos demais mutirões. Ao comparar os antígenos de todos os mutirões o que teve maior positividade foi *L. (V.) braziliensis*, que é a espécie mais prevalente no Norte do Paraná (CASTRO et al., 2007) justificando esse resultado.

Embora o Norte do Paraná seja livre da LV causada pela *L. (L.) infantum*, observamos 12,1% de positividade quando utilizado esse antígeno, o que ocorre devido a ocorrência de reação cruzada, ou seja, um animal que teve contato com *L. (L.) braziliensis* ou *L. (L.) amazonensis* pode ser positivo para *L. (L.) infantum*, vice-versa, pois essas espécies apresentam proteínas similares. Por isso, conforme Szarzick, (2005), usar no teste o mesmo antígeno com o qual o animal teve contato aumenta a sensibilidade do diagnóstico. Vale ressaltar que essa espécie apresentou menor positividade no ELISA, o que ocorreu exatamente por que ela não está presente na região de moradia dos animais estudados.

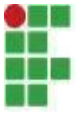
TABELA 1 - Amostras reagentes ao ELISA por mutirão e por antígeno.

Mutirão	<i>L. (L.) amazonensis</i>	<i>L. (V.) braziliensis</i>	<i>L. (L.) infantum</i>	Total
Mutirão 1 (2015)	4/47 (8,51)*	11/47 (23,40)	7/47 (14,89)	14/47 (29,79)
Mutirão 2 (2015)	9/53 (16,98)	9/53 (16,98)	12/53 (22,54)	21/53 (39,62)
Mutirão 3 (2016)	10/49 (20,41)	9/49 (18,37)	4/49 (8,16)	17/49 (34,69)
Mutirão 4 (2016)	14/50 (28,00)	11/50 (22,00)	1/50 (2,00)	17/50 (34,00)
Todos	37/199 (18,59)	40/199 (20,10)	24/199 (12,06)	69/199 (34,67)

\* número de felinos positivos / número total de animais estudados (% de animais positivos)

Fonte: Autoria própria

No Gráfico 1 observa-se a soroprevalência dos felinos castrados nos anos de 2015



e 2016 para as três espécies de leishmania utilizadas no presente estudo. Podemos também observar a soroprevalência obtida no ELISA de *L. (L.) amazonensis* por MATOS et al., (2018) dos felinos provenientes de Londrina coletados no ano de 2014 (82/201; 40,8%).

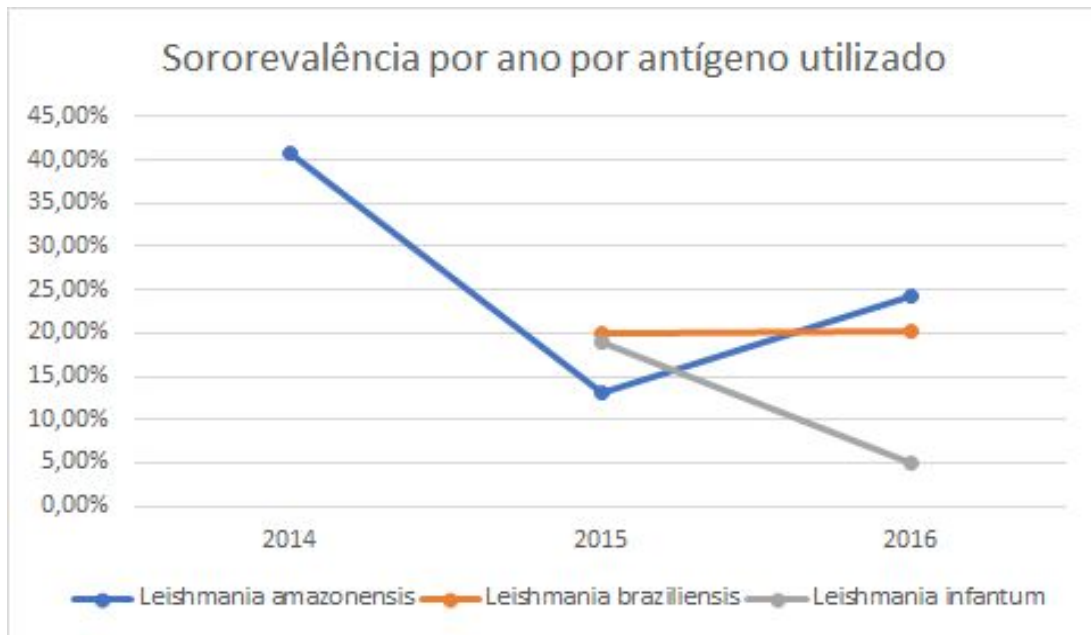


GRÁFICO 1 – Amostras positivas ao ELISA por antígeno e por ano ao longo do tempo.

Fonte: Autoria própria

Nota-se que a soroprevalência do presente estudo é menor do que de Matos et al., (2018). Pode-se sugerir que em 2014 os felinos de Londrina estavam mais expostos às leishmanias, no entanto, não podemos afirmar categoricamente, pois nossas amostras são de conveniência, por isso nossos resultados não podem ser extrapolados para a população felina de Londrina como um todo.

Os dados de sensibilidade e especificidade dos testes de ELISA realizados no presente estudo são apresentados na Tabela 2. Através dos dados de sensibilidade e especificidade foi possível perceber que os testes aplicados se mostraram eficientes e confiáveis para a obtenção dos resultados.

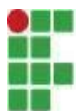


TABELA 2 – Sensibilidade, especificidade dos testes realizados.

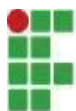
ELISA	Sensibilidade	Especificidade
<i>L. (L.) amazonensis</i>	88,24%	91,52%
<i>L. (V.) braziliensis</i>	100,00%	91,38%
<i>L. (L.) infantum</i>	100,00%	96,69%

Fonte: autoria própria

Grande parte dos estudos de soroprevalência para *Leishmania* spp. em felinos foi realizada em áreas endêmicas, principalmente para LV (ROSSI, 2007; BRAGA, 2009; SOBRINHO, 2010; COELHO et al., 2011; VIDES et al., 2011; ALVES-MARTIN, 2013; CARDIA et al., 2013; PIRAJÁ, 2013). Conforme Tabela 3, ressalta-se que no Brasil são poucos os registros de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em felinos, os que existem estão concentrados na região Sudeste, e a prevalência em geral é baixa, sendo que não há registro de estudos que demonstrem o comportamento dessa soroprevalência ao longo de anos.

TABELA 3 – Soroprevalência de *Leishmania* spp. em felinos no Brasil.

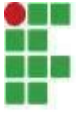
Autor	Método	Antígeno	Prevalência*	Local
Rossi, 2007	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	6/200 (3,0)	Araçatuba/SP
Braga, 2009	RIFI	<i>L. (V.) major like</i>	15/50 (30,0)	Campo Grande/MS
Braga, 2009	RIFI	<i>L. (V.) major like</i>	0/50 (0,0)	Botucatu/SP
Figueiredo et al., 2009	ELISA	<i>L. (V.) braziliensis</i>	1/43 (2,4)	Barra Mansa/RJ
Costa et al., 2010	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	23/200 (11,5)	Santos/SP
Vicente Sobrinho, 2010	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	39/302 (12,9)	Araçatuba/SP
Coelho et al., 2011	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	3/70 (4,2)	Andradina/SP
Vides et al., 2011	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	14/55 (25,4)	Araçatuba/SP
Alves-Martin et al., 2013	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	37/51 (72,5)	Ilha Solteira/SP



Cardia et al., 2013	RIFI	<i>L. (V.) major like</i>	2/386 (0,52)	Araçatuba/SP
Pirajá, 2013	ELISA	<i>L. (L.) Infantum</i>	29/50 (58,0)	Marília/SP
Pirajá, 2013	ELISA	<i>L. (V.) braziliensis</i>	41/50 (82,0)	Marília/SP
Godoi et al., 2016	RIFI	<i>L. (L.) Infantum</i>	6/171 (3,5)	Cascavel/PR
Padua, 2017	RIFI	<i>L. (L.) Infantum</i>	44/255 (17,2)	Seropédica e Itaguaí/RJ
Matos et al., 2018	ELISA	<i>L. (L.) amazonensis</i>	82/201 (40,8)	Londrina/PR

\* número de felinos positivos / número total de animais estudados (% de animais positivos)

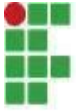
Fonte: autoria própria



## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Anticorpos contra *Leishmania* spp. foram encontrados circulantes na população felina estudada, permitindo afirmar que os agentes etiológicos estão presentes no Norte do Paraná. Sugerimos que nos anos de 2015 e 2016 os felinos de Londrina estavam menos expostos às leishmanias do que em 2014, no entanto, não podemos afirmar categoricamente, pois nossa amostragem é de conveniência, o que significa que nossos resultados não podem ser extrapolados para a população felina de Londrina como um todo. Os resultados reforçam que é necessário utilizar como antígeno nos testes sorológicos a espécie de *Leishmania* spp. mais prevalente na região para uma maior sensibilidade diagnóstica. Para futuros estudos consideramos importante a avaliação clínica dos animais para podermos associar a positividade no teste sorológico com possíveis sinais clínicos e também acreditamos ser necessário realizar um estudo com uma amostragem representativa e aleatória dos felinos do município.





## REFERÊNCIAS

ALVAR, J.; VÉLEZ, I. D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANOS, J.; JANNIN, J.; den BOER, M, **the WHO Leishmaniasis Control Team. Leishmaniasis Worldwide and Global Estimates of Its Incidence.** *PLoS one*, San Francisco, v. 7, n. 5, e35671, 2012.

BISETTO J., A.; THOMAZ-SOCCOL, V.; NAVARRO, I. T. **Leishmaniose visceral no Estado do Paraná.** Revista do Conselho Regional de Medicina Veterinária do Paraná, Curitiba, v. 41, n. 1, p. 6-7, 2014.

BRAGA, A. R. C. **Hemocultura, Reação De Imunofluorescência Indireta (Rifi) E Reação Em Cadeia Pela Polimerase (Pcr) Para Leishmania Spp. Em Cães E Gatos Provenientes De Área Endêmica E Não Endêmica Para Leishmaniose.** 2009. 147 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu - Sp, 2009.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar** [recurso eletrônico] / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, 2017. 189 p. : il. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

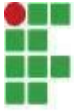
BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Nota técnica conjunta da Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde e da Secretaria de Estado da Saúde do Rio Grande do Sul sobre a situação da Leishmaniose Visceral na fronteira do estado do Rio Grande do Sul com a Argentina.** Brasília, 2010. 3 p. Disponível em: <<http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/>>. Acesso em: 6 maio 2016.

CARDIA, Daniel Fontana Ferreira et al. **Prevalence of Toxoplasma gondii and Leishmania spp. infection in cats from Brazil.** *Veterinary Parasitology*, [s.l.], v. 197, n. 3-4, p.634-637, nov. 2013. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.07.017>.

CASTRO E.A., THOMAZ S. V., AUGUR C., LUZ E. **Leishmania (Viannia) braziliensis: Epidemiology of canine cutaneous leishmaniosis in the State of Paraná (Brazil).** *Experimental Parasitology*. 2007;117(1): 13- 21.

COELHO, W. M. D., et al. **"Occurrence of Leishmania (Leishmania) chagasi in a domestic cat (Felis catus) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report."** *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 19.4 (2010): 256-258.

COSTA, T. A. C. et al. **Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para**



Ministério da Educação

**leishmaniose visceral.** Brazilian Journal Of Veterinary Research And Animal Science, [s.l.], v. 47, n. 3, p.212-217, 1 jun. 2010. Universidade de Sao Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP. <http://dx.doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2010.26858>.

CRMV-PR. CONSELHO REGIONAL DE MEDICINA VETERINÁRIA DO PARANÁ. **Manual Técnico: Leishmanioses caninas.** Curitiba- Paraná, 2016.

DANTAS-TORRES, F.; SIMÕES-MATTOS, L.; BRITO, F. L. C.; FIGUEREDO, L. A.; FAUSTINO, M. A. G. **Leishmaniose felina: revisão de literatura.** *Clínica Veterinária*, São Paulo, n. 61, p. 32-40, 2006.

DUJARDIN, J. C.; CAMPINO, L.; CAÑAVATE, C.; DEDET, J. P.; GRADONI, L.; SOTERIA DOU, K.; MAZERIS, A.; OZBEL, Y.; BOELAERT, M. **Spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe.** *Emerging Infectious Diseases*, Atlanta, v. 14, n. 7, p. 1013-1018, 2008.

ENGVALL, E. and PERLAMANN, P., 1972. **Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA. III. Quantification of specific antibodies by enzyme-labelled anti-immunoglobulin in antigen-coated tubes.** *J. Immunol.*, 109:129-135.

FIGUEIREDO, F. B. et al. **Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-Leishmania em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, [s.l.], v. 42, n. 2, p.141-145, abr. 2009. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0037-86822009000200009>.

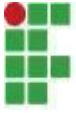
FORATTINI, O. P. 1973. **Entomologia Médica.** Psychodidae. Phlebotominae. Leishmanioses. Bartonelose, v. 4. São Paulo, Edgar Blücher Editora Ltda/Ed. da Universidade de São Paulo, 658 p.

GODOI, N. F. C.; BITTENCOURT, L. H. F. de B.; ANDRADE, A. C. de S.; PICOLOTTO, G. de C. G. P.; MARCHAN, P.R. A. C. **Prevalência de anticorpos anti-Leishmania Infantum em felinos domésticos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil.** *Arq. Ciênc. Vet. Zool. UNIPAR*, Umuarama, v. 19, n. 1, p. 11-16, jan./mar. 2016.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. L. R. **Leishmaniose tegumentar americana.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Belo Horizonte, Mg, p.71-80, 19 mar. 2002.

GONTIJO, C. M. F; MELO, M. N. **Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas.** *Revista Brasileira de Epidemiologia*, [s.l.], v. 7, n. 3, p.338-349, set. 2004. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s1415-790x2004000300011>.

GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. **Leishmaniosis.** In: **OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees).** Paris: Office International des Epizooties, 2008. v. 1, p. 240-250.



GRAMICCIA, M. **Recent advances in leishmaniosis in pet animals: epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis.** *Veterinary Parasitology*, Amsterdam, v. 181, n. 1, p. 23-30, 2011.

HOFFMANN A.R., NAVARRO I.T., CAMARGO-JR V.E., CALDART E.T., MITSUKA B. R., PEREIRA P.M. **Leishmania amazonensis em cão com quadro clínico de leishmaniose visceral no Estado do Paraná, Brasil – relato de caso.** *Semina: Ciências Agrárias*. 2012;33(2): 3265-3270.

Kirkpatrick C.E., FARRELL J.P., GOLDSCHMIDT M.H. **Leishmania chagasi and L. donovani: experimental infection in domestic cats.** *Exp Parasitol* 1984; 58(2): 125-131. [http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894\(84\)90027-4](http://dx.doi.org/10.1016/0014-4894(84)90027-4). PMID:6479284.

LACEN/SC, Laboratório Central de Saúde Pública -. **Diagnóstico Laboratorial da Leishmaniose Visceral em SC. Santa Catarina, sem ano.** 16 slides, color. Disponível em:

<[http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/apresentacoes/diagnostico\\_laboratorial\\_da\\_leishmaniose\\_visceral\\_em\\_sc.pdf](http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/apresentacoes/diagnostico_laboratorial_da_leishmaniose_visceral_em_sc.pdf)>. Acesso em: 12 nov. 2018.

MANCIANTI F. **Feline leishmaniasis: what's the epidemiological role of the cat?** *Parassitologia* 2004; 46(1-2): 203-206. PMID:15305717.

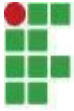
MATOS, A. M. R. N. et al. **Anticorpos anti-tripanosomatídeos em gatos domésticos no Paraná: quem está em maior risco de infecção?.** *Rev. Bras. Parasitol. Vet.* [online]. 2018, vol.27, n.2, pp.232-236. Epub May 24, 2018. ISSN 0103-846X. <http://dx.doi.org/10.1590/s1984-296120180033>.

MORAIS, C. S. M. **Leishmaniose Felina: Revisão de Literatura.** 2014. 26 f. Monografia (Especialização) - Curso de Especialização em Clínica Médica de Felinos, Centro de Estudos Superiores de Maceió da Fundação Educacional Jayme de Altavila, São Paulo, 2014.

PADUA, E. D. **Pesquisa de imunoglobulinas anti-Leishmania spp. e avaliação clínica de gatos residentes em áreas endêmicas do Rio de Janeiro. 2017.** 51 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Instituto de Veterinária, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.

PIRAJÁ, G. V. **Necessidade De Vigilância Epidemiológica Para Leishmania infantum (syn. Leishmania chagasi) e Leishmania (Viannia) braziliensis em flebotomíneos e gatos errantes no Bosque Municipal de Marília-SP.2013.** 155 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista - Unesp, Botucatu - Sp, 2013.

ROSSI, C. N. **Ocorrência De Leishmania Sp. Em Gatos Do Município De Araçatuba – São Paulo – Brasil. 2007.** 48 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal – São Paulo, 2007.



SÁ, M. I.; FERREIRA, C. Importância Das Zoonoses Na Segurança Alimentar: **As ações de profilaxia e de polícia sanitária são a base da metodologia de saneamento.** Segurança e Qualidade Alimentar, Lisboa, v. 2, n. 1, p.14-17, maio 2007. Disponível em: <<http://www.infoqualidade.net/SEQUALI/PDF-SEQUALI-02/SEQUALI-02.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

SANTA CATARINA, Secretaria de Saúde de Estado. **Leishmaniose Visceral Humana: Diretoria de Vigilância Epidemiológica. 2018.** Disponível em: <<http://encurtador.com.br/hHLW4>>. Acesso em: 12 nov. 2018.

SANTOS, D. R. dos; FERREIRA, A. C. A. C.; BISETTO JUNIOR, A. **The first record of *Lutzomyia longipalpis* (Lutz e Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) in the State of Paraná, Brazil.** *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, Uberaba, v. 45, n. 5, p. 643-645, 2012.

SAVANI E.S.M.M., CAMARGO M.C.G.O., CARVALHO M.R., ZAMPIERI R.A., SANTOS M.G., D'ÁURIA S.R.N., et al. **The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) from Cotia County, São Paulo state, Brazil.** *Vet Parasitol* 2004; 120(3): 229-233. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.01.008>. PMID:15041097.

SCHOONJANS F., ZALATA A., DEPUYDT C.E., COMHAIRE F.H. **MedCalc: a new computer program for medical statistics.** *Comput Methods Programs Biomed* 1995; 48(3): 257-262. [http://dx.doi.org/10.1016/0169-2607\(95\)01703-8](http://dx.doi.org/10.1016/0169-2607(95)01703-8). PMID:8925653.

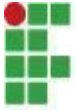
SILVA A.V., Sousa C.C.D., Pita P.D., Brazil R.P., Carreira J.C. **The first record of american visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil.** *Acta Trop* 2008; 105(1): 92-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.actatropica.2007.09.001>. PMID:17953938.

SILVEIRA TGV, TEODORO U., ARRAES S.M.A.A., LONARDONI M.V.C., DIAS M.L.G.G., SHAW J.J., ISHIKAWA E.A.Y., LAINSON R. **An Autochthonous case of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* Laison & Shaw, 1972 from the North of Paraná State, Brazil.** *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 1990; 85(4): 475–476.

SOBRINHO, L. S. V. **Leishmaniose Felina E Sua Associação Com Imunodeficiência Viral E Toxoplasmose Em Gatos Provenientes De Área Endêmica Para Leishmaniose Visceral.** 2010. 103 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba - Sp, 2010.

SZARGIKI R, CASTRO E.A.D., LUZ E, KOWALTHUK W., MACHADO A.M., THOMAZ-SOCCOL V. **Comparison of serological and parasitological methods for cutaneous leishmaniasis diagnosis in the state of Paraná, Brazil.** *Braz J Infect Dis* 2009; 13(1): 47-52. <http://dx.doi.org/10.1590/S1413-86702009000100011>. PMID:19578630.

VIDES, J. P. et al. ***Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions**



Ministério da Educação

**from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil.** *Veterinary Parasitology*, [s.l.], v. 178, n. 1-2, p.22-28, maio 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.12.042>.

WENZEI, K. **Santa Catarina tem primeiro caso de Leishmaniose visceral humana.** *Jornal de Santa Catarina*, Florianópolis, 17, ago. 2017. Notícias. Disponível em: <<http://jornaldesantacatarina.clicrbs.com.br/sc/noticia/2017/08/santa-catarina-tem-primeiro-caso-deleishmaniose-visceral-humana-9872502.html>>. Acesso em: 4 set. 2017.