



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Artigo de Revisão

DA INFEÇÃO À DOENÇA: OS DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE FELINA

Beatriz Castro Costa

Coimbra, julho de 2025





ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Artigo de Revisão

DA INFEÇÃO À DOENÇA: OS DESAFIOS NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE FELINA

Coimbra, julho de 2025

Beatriz Castro Costa

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Ana

Catarina Pais dos Santos Figueira

Arguente: Professora Doutora Carla Sofia Alves
Soares

Orientador: Professora Doutora Sofia Ferreira
Anastácio

Trabalho realizado sob a orientação de

Professora Doutora Sofia Ferreira Anastácio e de
Professor Doutor Sérgio Eduardo Ramalho de Sousa





Dissertação de Estágio Curricular do Ciclo de Estudos Conducente
ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG



Agradecimentos

No culminar de um percurso que se aproxima dos seis anos, seria impossível agradecer a todos aqueles que, de uma forma ou outra, contribuíram para este momento. No entanto, é impossível não destacar o apoio dado por algumas pessoas.

À Escola Universitária Vasco da Gama, a todos os docentes, colegas e funcionários, que me deram o apoio, acompanhamento e estrutura necessários, e, me permitiram concluir o curso dos meus sonhos na tão linda e inigualável cidade dos estudantes, Coimbra.

Ao Hospital Veterinário Arco do Cego de Lisboa e a toda a equipa, que me acolheu tão bem, de uma forma tão espontânea e respeitadora e que partilhou comigo todos os seus conhecimentos com tanta paciência e generosidade. Levo não só o aprendizado, mas também a inspiração que encontrei em cada conversa, em cada desafio superado e no espírito de equipa que presenciei todos os dias.

Sem esquecer, um obrigada especial a todos os meus colegas estagiários com as quais tive o gosto de me cruzar e de aprender tanto!

À Professora Sofia Anastácio, minha orientadora interna e uma verdadeira referência e ao Professor Sérgio Sousa, meu coorientador e um exemplo, expresso a mais sincera gratidão.

Pela constante disponibilidade, compreensão e incentivo; pela dedicação e por me mostrarem sempre que era possível; pelos momentos de incerteza tantas vezes camuflados em dúvidas que sempre acolheram com clareza e empatia.

Um simples obrigada ficará sempre aquém do reconhecimento merecido.

A todos os locais e colaboradores, de estágios que frequentei: Hospital Veterinário Vasco da Gama, Hospital Veterinário Animalvet, Casa dos Animais de Lisboa, Hospital Veterinário do Porto, o meu especial obrigado por tanta aprendizagem ao longo destes seis anos.

A todos os meus colegas e amigos que se cruzaram comigo ao longo destes seis anos.

À minha família académica e de praxe, que partilhou comigo os momentos mais memoráveis. Com destaque, ao meu padrinho de faculdade, pelo acolhimento desde o primeiro dia em que nos cruzámos, ainda eu calouira, e por nunca ter deixado de acompanhar o meu percurso desde então; e aos meus ricos afilhados.

Às Lokas, aquele grupo especial de oito amigas que a faculdade me deu; companheiras de estudo, de risos, de choros e de tantas partilhas que não caberiam aqui. Foram colo nos dias difíceis e festa nas vitórias. Cada uma de vocês tornou este percurso mais leve, mais bonito e, acima de tudo, inesquecível. Obrigada por serem casa, mesmo longe de casa.

Às minhas amigadas egitanienses mais longas, que fazem parte da minha vida desde os tempos de infância até ao momento em que escrevo estas linhas, com alguns reforços que se foram juntando pelo caminho e que já fazem parte da mobília. Vocês são família. Crescemos juntos e partilhámos tudo ao longo dos anos.

Obrigada por estarem sempre lá, com o carinho de sempre e a certeza de que a verdadeira amizade resiste a tudo!

À minha tão grande e única Família, a todos os tios e tias, primos e primas que enriquecem a minha vida, e que estiveram sempre ao meu lado, apoiando-me e celebrando cada passo meu, inspirando-me a seguir em frente com firmeza e valentia. À memória dos meus avós, cuja presença permanece viva no meu coração. Sinto-me profundamente grata, cada um de vocês fez deste percurso uma experiência cheia de amor e motivação.

Aos meus Pais, o meu porto seguro e a fonte inesgotável de amor e força.

Palavras jamais poderão traduzir qualquer sentimento que sinto. Não só me deram a vida, como me mostraram o mundo e me transmitiram os valores necessários para viver nele.

Foram vocês que, com paciência e dedicação, me guiaram pelos caminhos mais difíceis, sempre acreditando em mim mesmo quando eu duvidava. O vosso apoio incondicional, inspiração e sacrifício foram a base que sustentou todos os meus sonhos e conquistas.

A vocês devo não só a minha existência, mas também a coragem para enfrentar qualquer desafio.

Tudo o que sou hoje é graças a vocês e este trabalho é tanto vosso quanto meu.

Ao meu companheiro de vida, cúmplice de tantas memórias e, para sempre, o meu abrigo, obrigada Mano.

A todos, mesmo sabendo que palavras nunca serão suficientes, um obrigada!

Índice Geral

AGRADECIMENTOS	ii
ÍNDICE DE FIGURAS	v
LISTA DE ABREVIATURAS	vi
1. INTRODUÇÃO	4
2. ASPETOS BIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE FELINA	5
2.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO GÊNERO <i>LEISHMANIA</i>	6
2.2. CICLO DE INFEÇÃO.....	7
2.3. BIOECOLOGIA DO VETOR.....	8
2.4. ASPETOS CLÍNICOS.....	8
2.5. HOSPEDEIROS VERTEBRADOS.....	8
3. EPIDEMIOLOGIA	9
4. FISIOPATOGENIA	12
5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS	16
6. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO	19
6.1. MÉTODOS DIRETOS.....	21
6.2. MÉTODOS INDIRETOS.....	24
7. TRATAMENTO E PREVENÇÃO	26
8. CONSIDERAÇÕES FINAIS	28
9. REFERÊNCIAS	29

Índice de figuras

Figura 1. Área alopécica e eritematosa com ulcerações crostosas localizadas na região facial e corporal do gato.....	17
Figura 2. Alopecia auricular num gato, seropositivo com um título elevado de anticorpos para <i>L. infantum</i>	17
Figura 3. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas, focinho, lábios e pálpebra inferior direita.....	18
Figura 4. Lesão cutânea caracterizada pela presença de um nódulo localizado na região carpiana do gato.....	18
Figura 5. Esfregaço citológico de medula óssea com presença de amastigotas de <i>Leishmania</i> spp. no interior de macrófagos. Observação ao microscópio ótico, ampliação de 1000x, com uso de óleo de imersão.....	21
Figura 6. Produtos amplificados por PCR.....	23

Lista de abreviaturas

% - percentagem

≈ - aproximadamente igual a

DNA - do inglês *Deoxyribonucleic acid*

ELISA - do inglês *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

FelV - do inglês *Feline Leukemia Virus*

FIV - do inglês *Feline Immunodeficiency Virus*

HE - Hematoxilina e Eosina

IFI - Imunofluorescência Indireta

IFN- γ - Interferão-gama

IgA - Imunoglobulina A

IgE - Imunoglobulina E

IgG1 - Imunoglobulina G1

IgG2 - Imunoglobulina G2

IgM - Imunoglobulina M

IL-10 - Interleucina-10

IL-13 - Interleucina-13

IL-2 - Interleucina-2

IL-4 - Interleucina-4

IL-5 - Interleucina-5

Kg - Quilograma

LAMP - do inglês *Loop-Mediated Isothermal Amplification*

Mg - Miligrama

NK - do inglês *natural killer*

NNN - Novy-MacNeal-Nicolle

OMS - Organização Mundial da Saúde

PCR - do inglês *Polymerase Chain Reaction*

POC - do inglês *Point of Care*

TGF- β - Fator de Crescimento Transformador Beta

Th1 - Células T Auxiliares Tipo 1

Th2 - Células T Auxiliares Tipo 2

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral Alfa

WB - do inglês *Western Blot*

Da infeção à doença: os desafios no diagnóstico da Leishmaniose Felina

Beatriz Costa^a, Marta Lopes^b, Sérgio Sousa^{a,c}, Sofia Anastácio^{a,c}

^a Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal (biaccosta@outlook.pt; sofia.anastacio@euvvg.pt; sergio.sousa@euvvg.pt)

^b HVAC - AniCura Arco do Cego Hospital Veterinário, Rua de Dona Filipa de Vilhena 4 E-F, 1000-135, Lisboa, Portugal (marta.lopes@anicura.pt)

^c Center for Investigation Vasco da Gama (CIVG), Department of Veterinary Sciences, Vasco da Gama University School, Coimbra, Portugal (EUVG), Coimbra, Portugal

Resumo

A leishmaniose é uma das doenças transmitida por vetores mais relevante para a saúde humana em todo o mundo, sendo causada por várias espécies do género *Leishmania*, algumas das quais têm um impacto zoonótico significativo a nível global. Em medicina veterinária, a leishmaniose canina causada por *Leishmania infantum* assume especial importância, dado que os cães são o principal reservatório do parasita para os seres humanos. Sabe-se, no entanto, que os gatos também podem ser infetados pelas mesmas espécies de *Leishmania*, levantando questões sobre o seu papel epidemiológico, ainda pouco compreendido, e que, apesar de algumas semelhanças imunológicas com os cães, apresentam particularidades na resposta imunitária que influenciam a evolução clínica da infeção, especialmente em áreas endémicas. A Leishmaniose Felina, por muito tempo desvalorizada, tem vindo a despertar maior interesse científico e clínico. Esta revisão bibliográfica baseou-se numa análise de literatura científica atual, selecionada a partir de publicações relevantes nas ciências veterinárias, tendo como objetivo reunir e sistematizar as informações mais recentes sobre a infeção por *L. infantum* em gatos. Abordam-se aspetos como o agente etiológico e o seu ciclo de vida, transmissão por vetores, o seu papel epidemiológico, assim como, a sua fisiopatogenia e mecanismos imunológicos, manifestações clínicas, métodos diagnósticos e o devido tratamento e estratégias de prevenção. Destaca-se neste trabalho a possível subestimativa da prevalência da infeção em gatos, devido à pouca sensibilização para a doença na prática clínica. As conclusões deste trabalho reforçam a necessidade de aprofundar o conhecimento sobre esta protozoonose felina, apostando na padronização de técnicas diagnósticas, no desenvolvimento de abordagens terapêuticas específicas e na implementação de medidas preventivas adaptadas à espécie. É importante realçar o papel dos gatos no ciclo de transmissão da leishmaniose e a sua importância na medicina veterinária e saúde pública.

Palavras-chave: Epidemiologia; Felinos; Leishmaniose; *L. infantum*; Transmissão; Zoonose.

Abstract

Leishmaniasis is one of the most relevant vector-borne diseases for human health worldwide. It is caused by several species of the genus *Leishmania*, some of which have a significant zoonotic impact at a global scale. In veterinary medicine, canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* is particularly important, since dogs are the main reservoir of the parasite for humans. However, it is known that cats can also be infected by the same *Leishmania* species, raising questions about their epidemiological role, which remains poorly understood. Despite certain immunological similarities with dogs, cats display particularities in their immune response that influence the clinical progression of the infection, especially in endemic areas. Feline leishmaniasis, for a long time undervalued, has been receiving more scientific and clinical attention. This literature review was based on an analysis of current scientific publications selected from relevant publications in the veterinary sciences, aiming to gather and systematize the most recent information on *L. infantum* infection in cats. The topics addressed include its etiological agent and its life cycle, the vector-borne transmission, the role of cats in the epidemiology of this pathogen, as well as pathophysiology and immunological mechanisms, clinical patterns, diagnostic methods, appropriate treatment, and prevention strategies. It is highlighted that the prevalence of infection in cats may be underestimated due to the limited recognition of the disease in clinical practice. The conclusions of this work reinforce the need to strengthen our understanding of this feline protozoonosis, with a focus on standardizing diagnostic techniques, developing specific therapeutic approaches, and implementing preventive measures fitted to the species. Emphasis should be placed on the role of cats in the leishmaniasis transmission cycle and their significance in both veterinary medicine and public health.

Keywords: Epidemiology; Feline; Leishmaniasis; *L. infantum*; Transmission; Zoonosis.

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença que constitui um problema de saúde pública à escala global. Apresenta uma ocorrência endémica em mais de 98 países, sobretudo em regiões tropicais, subtropicais e temperadas, incluindo as regiões do sul da Europa (Deplazes et al., 2016). Estima-se que cerca de 350 milhões de pessoas se encontram em risco de infeção, com aproximadamente 12 milhões de casos registados. Anualmente, estima-se que ocorram até 1,2 milhões de casos de leishmaniose cutânea e 0,4 milhões de leishmaniose visceral, a nível mundial (Akhoundi et al., 2017). A sua ocorrência tem sido correlacionada com diversos fatores climáticos, ambientais e socioeconómicos, os quais desempenham um papel determinante na dinâmica epidemiológica da doença. (Kmetiuk et al., 2022). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) estima que anualmente ocorram entre 700.000 e 1.000.000 de novos casos em humanos (Ahuir-Baraja et al., 2020). A leishmaniose assume-se como um desafio crescente na proteção da saúde da população, sendo a segunda causa de mortalidade e a quarta de morbilidade entre as infeções tropicais (Akhoundi et al., 2017).

A leishmaniose pode ser classificada em duas categorias: zoonose ou antroponose, com base nos principais hospedeiros reservatórios da infeção humana. As zoonoses referem-se a doenças infecciosas com origem em animais, que podem ser transmitidas ao ser humano. As antroponoses correspondem a doenças infecciosas que ocorrem naturalmente na população humana e cuja transmissão se dá exclusivamente entre seres humanos (Hong et al., 2020). Trata-se de uma doença transmitida por vetores, provocada por parasitas protistas obrigatórios do género *Leishmania* (Akhoundi et al., 2017).

Os principais reservatórios incluem roedores, animais domésticos e selvagens e o Homem, destacando-se o cão como um dos mais relevantes (Deplazes et al., 2016).

Em vários países, tem sido reportada uma elevada frequência de Leishmaniose Felina (de Mendonça et al., 2017; Batista et al., 2023). No entanto, os dados sobre a progressão da doença em gatos são ainda escassos (Batista et al., 2023). Apesar de ser uma doença sistémica, as lesões cutâneas parecem ser predominantes (Matralis et al., 2023). A coinfeção com agentes oportunistas como FIV (Vírus da imunodeficiência felina) e FeLV (Vírus da Leucemia Felina), uma vez que interferem com a resposta imunitária dos gatos, torna-os mais suscetíveis a outras infeções, inclusive a infeção por *Leishmania* e, originar sinais clínicos. A elevada frequência de casos assintomáticos em felinos pode dificultar o seu diagnóstico (Elmahallawy et al., 2021; Aguiar et al., 2023). Porém, o desenvolvimento de técnicas de diagnóstico mais sensíveis e específicas, designadamente sorológicas e moleculares, em conjunto com a crescente sensibilização dos médicos veterinários para esta parasitose em felinos, tem contribuído

para um aumento substancial no número de relatos documentados de Leishmaniose Felina, incluindo infecções subclínicas (Maia et al., 2015).

Os gatos podem ser infetados por, pelo menos, seis espécies de *Leishmania* (Matralis et al., 2023). Entre as várias espécies de *Leishmania*, *L. infantum* e *L. donovani* são as espécies mais comuns em gatos domésticos na região do Mediterrâneo e Médio Oriente, enquanto *L. major*/*L. donovani* foram identificados em Portugal e Espanha. Na América Central e do Sul, predominam *L. chagasi*, *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. mexicana* (Elmahallawy et al., 2021). Na Europa a principal espécie em gatos é *Leishmania infantum*, sendo que os gatos são considerados hospedeiros secundários ou acidentais, com potencial para atuarem como reservatórios em áreas endémicas no mundo (Fernandez-Gallego et al., 2020).

Com esta revisão pretende-se apresentar uma visão geral da literatura sobre o conhecimento atual da Leishmaniose Felina, o seu agente etiológico, a epidemiologia, os seus aspetos clínicos e laboratoriais, assim como os desafios no diagnóstico em medicina veterinária.

2. ASPETOS BIOLÓGICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE FELINA

A leishmaniose é uma doença parasitária de origem vetorial causada por protozoários do género *Leishmania*, pertencentes ao filo Sarcomastigophora, ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae (Baneth et al., 2016; Steverding, 2017; Priolo et al., 2022). O género *Leishmania* é tradicionalmente dividido em três subgéneros principais, com base em características biológicas, geográficas, do vetor e da localização do desenvolvimento parasitário nos flebótomos: *L. (Leishmania)* e *L. (Viannia)*, ambos associados à leishmaniose humana, e *L. (Sauroleishmania)*, que inclui espécies que infetam lagartos e não são patogénicas para humanos (Espinosa et al., 2016).

O subgénero *Leishmania* desenvolve-se no intestino médio anterior do flebótomo e inclui as espécies responsáveis pela leishmaniose visceral e cutânea. Predomina no Velho Mundo (Europa, África, Ásia), integrando *L. aethiopica*, *L. donovani*, *L. major*, *L. tropica*, e também ocorre no Novo Mundo (América Central e do Sul), incluindo *L. amazonensis*, *L. mexicana*, *L. venezuelensis* e *L. waltoni*. *L. infantum* está presente em ambos os mundos (Steverding, 2017; Majoor et al., 2023). O subgénero *Viannia* desenvolve-se no intestino posterior e médio do vetor e está mais associado à leishmaniose mucocutânea, que pode ser mais agressiva. Este subgénero ocorre exclusivamente no Novo Mundo, incluindo *L. braziliensis*, *L. guyanensis*, *L. lainsoni*, *L. lindenbergi*, *L. naiffi*, *L. panamensis*, *L. peruviana*

e *L. shawi* (Steverding, 2017; Majoor et al., 2023). O subgênero *Sauroleishmania* é menos comum e infeta répteis (lagartos). As principais espécies são *L. colombiensis*, *L. equatorensis*, *L. herreri*, *L. hertigi*, *L. deanei*, *L. enriettii* e *L. martiniquensis*. Não é patogênico para humanos ou outros mamíferos, sendo pouco relevante em medicina humana ou veterinária (Espinosa et al., 2016; Steverding, 2017; Pereira et al., 2021; Majoor et al., 2023). Um novo subgênero, *L. Mundinia*, presente no Velho e no Novo Mundo, que inclui *L. martiniquensis* (Pothirat et al., 2014; Akhoundi et al., 2016; Steverding, 2017).

As várias espécies de *Leishmania* são morfologicamente indistinguíveis, sendo por isso agrupadas em complexos de espécies. A diferenciação baseia-se em critérios como hospedeiros recetivos, vetores, quadro clínico, além de características moleculares (Deplazes et al., 2016).

Das 15 espécies de *Leishmania* reconhecidas como patogênicas para o ser humano, 13 apresentam caráter zoonótico, evidenciando a relevância dos reservatórios animais na epidemiologia da doença (Deplazes et al., 2016). A transmissão de *Leishmania* spp. ocorre principalmente de forma vetorial, através da picada de insetos hematófagos, os flebótomos (filo Arthropoda, ordem Diptera, família Psychodidae, subfamília Phlebotominae), pertencentes aos gêneros *Phlebotomus* no Velho Mundo e *Lutzomyia* no Novo Mundo. (Baneth et al., 2016; Steverding, 2017; Priolo et al., 2022).

A transmissão do vetor para o hospedeiro vertebrado ocorre durante o processo de hematofagia realizado apenas pelas fêmeas de flebótomos infetadas, uma vez que só estas se alimentam de sangue (Deplazes et al., 2016; Otranto et al., 2024).

Relativamente aos vetores, os flebótomos são de pequenas dimensões com um comprimento máximo de aproximadamente 5 mm, com densa pilosidade em todo o corpo, incluindo as asas, coloração acastanhada e membros alongados (Deplazes et al., 2016).

2.1. CARACTERÍSTICAS MORFOLÓGICAS DO GÉNERO *LEISHMANIA*

Os parasitas do género *Leishmania* apresentam duas formas principais ao longo do ciclo de vida: a forma promastigota (flagelada), que ocorre no trato digestivo do vetor flebótomo, e a forma amastigota (não flagelada), de proliferação lenta ou latente, localizada predominantemente no interior de macrófagos e outras células fagocíticas mononucleares em hospedeiros vertebrados (Sadlova et al., 2017; Clos et al., 2022; Otranto et al., 2024).

No interior dos macrófagos, as formas amastigotas de *Leishmania* são ovoides e pequenas (1,5-3 µm de largura e 2,5-6,5 µm de comprimento), com núcleo volumoso e cinetoplasto alongado, em forma de bastonete, associado a um flagelo rudimentar (Otranto et al., 2024).

Assim, no hospedeiro vertebrado, *Leishmania* é encontrada em macrófagos distribuídos por diversos tecidos e órgãos, incluindo pele, baço, fígado, medula óssea, gânglios linfáticos e mucosas (Otranto et al., 2024).

No vetor, a forma promastigota mede 10 a 20 µm de comprimento, é fusiforme, longa e flagelada, apresentando núcleo central, cinetoplasto anterior e flagelo que se exterioriza pela extremidade anterior, sem membrana ondulante (Deplazes et al., 2016; Sunter and Gull et al., 2017; Clos et al., 2022; Otranto et al., 2024).

Leishmania spp. apresenta um ciclo de vida heteroxeno, que requer um hospedeiro invertebrado (flebotomos) e um hospedeiro vertebrado mamífero, sobretudo roedores, cães, humanos e, raramente, gatos (Clos et al., 2022).

2.2. CICLO DE INFEÇÃO

A transmissão de *Leishmania* do vetor para o hospedeiro vertebrado ocorre durante o processo de hematofagia de fêmeas de flebotomos infetadas, quando a forma promastigota (infetante) é regurgitada e inoculada por via percutânea através da probóscide do vetor (Deplazes et al., 2016; Otranto et al., 2024).

No hospedeiro vertebrado, após inoculação, as formas promastigotas são fagocitadas por macrófagos e outras células fagocitárias, diferenciando-se em amastigotas. Estas replicam-se por fissão binária e disseminam-se para outras células do sistema fagocítico mononuclear (Deplazes et al., 2016; Otranto et al., 2024).

A evolução fisiopatológica e clínica depende da resposta imunitária do hospedeiro. *Leishmania* pode atingir diversos órgãos, mas a sua presença na derme é essencial para a continuidade do ciclo de transmissão, permitindo a ingestão pelo vetor durante nova hematofagia. No vetor, as amastigotas ingeridas diferenciam-se em promastigotas no intestino médio ou posterior, consoante o subgénero, antes de migrarem para a probóscide, onde se tornam infetantes (Gharbi et al., 2015; Deplazes et al., 2016; Otranto et al., 2024). Não há evidências de que carraças e pulgas desempenhem papel relevante na transmissão natural de *Leishmania* (Pennisi et al., 2015).

2.3. BIOECOLOGIA DO VETOR

As fêmeas de flebotomos apresentam flexibilidade na escolha do hospedeiro para alimentação sanguínea, sendo os gatos uma possível fonte (Pennisi et al., 2015; D'Esquivel et al., 2024). Até ao momento, não há evidência científica de transmissão vertical (transplacentária) ou horizontal (venérea) em felinos, ao contrário do descrito em cães, ratos e humanos (Pennisi et al., 2015; D'Esquivel et al., 2024). Na ausência de flebotomos, o risco de transmissão é considerado baixo (Pennisi et al., 2015; Pennisi et al., 2018; D'Esquivel et al., 2024). Em zonas endémicas, deve ser considerado o risco de transmissão por transfusão sanguínea em humanos e animais (i.e., cães e gatos) (Pennisi et al., 2015; Pennisi et al., 2018).

2.4. ASPETOS CLÍNICOS

Clinicamente, a infeção humana pode apresentar-se sob três formas principais: visceral, cutânea e mucocutânea. A leishmaniose visceral é causada, no Velho Mundo, pelos complexos *L. donovani* e *L. infantum* (vetores: *Phlebotomus* spp.), e no Novo Mundo, pelo complexo *L. infantum* (vetores: *Lutzomyia* spp.). A forma cutânea é provocada por *L. tropica*, *L. major* e *L. aethiopica* no Velho Mundo, enquanto a forma mucocutânea, típica do Novo Mundo, é causada pelos complexos *L. mexicana* e *L. braziliensis* (vetores: *Lutzomyia* spp.). Todas estas espécies pertencem ao subgénero *Leishmania*, exceto *L. braziliensis* que pertence ao subgénero *Viannia*. (Deplazes et al., 2016).

2.5. HOSPEDEIROS VERTEBRADOS

O Homem e os cães domésticos (*Canis lupus familiaris*) são os principais hospedeiros. A infeção em outras espécies animais, como gatos (*Felis catus*), canídeos selvagens, tatus, chacais, roedores, morcegos, mangustos e cavalos, também foi reportada e pode ter relevância no ciclo do parasita (Ahuir-Baraja et al., 2020; Vilas-Boas et al., 2024).

A presença de *Leishmania infantum* foi documentada em 98 espécies da fauna selvagem, enquanto *Leishmania (Viannia)* spp. foi identificada em 52 espécies. *L. mexicana*, *L. amazonensis*, *L. major* e *L. tropica* foram menos frequentes (Azami-Conesa et al., 2021). Novos hospedeiros das ordens Chiroptera e Lagomorpha foram identificados. Entre as espécies analisadas, carnívoros e roedores destacaram-se como principais reservatórios de *L. infantum* e *L. (Viannia)* spp. (Azami-Conesa et al., 2021; Trüeb et al., 2018).

Os cães são reconhecidos como o principal reservatório. Os gatos são considerados reservatórios secundários e também classificados como hospedeiros acidentais (Fernandez-Gallego et al., 2020; Pereira et al., 2021). Podem ser infetados pelas mesmas espécies que infetam cães e humanos (Pennisi et al., 2015).

Considerando o comportamento independente dos gatos e o seu estilo de vida livre, admite-se que estejam expostos a vetores tal como os cães (Aguiar et al., 2023). Os hábitos de higiene, nomeadamente o *grooming*, poderão constituir um mecanismo de proteção, contribuindo para a remoção mecânica de flebotomos presentes na pele, dificultando a fixação e a hematofagia eficaz, reduzindo a probabilidade de inoculação do parasita (Pereira et al., 2021; Aguiar et al., 2023). Acrescenta-se a possibilidade de eliminação local de formas parasitárias superficiais logo após a picada, contribuindo para menor carga parasitária inicial (Pennisi et al., 2015; Pereira et al., 2021; Aguiar et al., 2023). Apesar do efeito protetor do *grooming*, este pode ser insuficiente para prevenir a infeção, sendo a resposta imunitária, o estado geral do animal e a exposição ao vetor fatores determinantes na evolução (Pereira et al., 2021; Aguiar et al., 2023).

3. EPIDEMIOLOGIA

As alterações climáticas, geográficas e ambientais e, mobilização da população/fluxos migratórios, têm intensificado a pressão sobre os ecossistemas, promovendo a expansão geográfica de vetores e aumentando o risco de transmissão de doenças zoonóticas (Jones et al., 2021). O aquecimento global, associado à desflorestação, destruição de habitats naturais para fins agrícolas, urbanísticos ou de gestão hídrica, e condições sanitárias inadequadas, tem sido associado à emergência, aumento da frequência e disseminação de doenças transmitidas por vetores (Jones et al., 2021; Nascimento et al., 2022). Ambientes propícios à reprodução e sobrevivência de vetores (e.g., matéria orgânica em decomposição, resíduos, ausência de saneamento básico) aumentam a exposição e propiciam a manutenção do ciclo de infeção (Nascimento et al., 2022). Estes fatores têm contribuído para alteração da dinâmica de infeção, com implicações relevantes para a saúde pública e ambiental (Jones et al., 2021; Nascimento et al., 2022).

Em áreas com elevada densidade de vetores, o risco de infeção aumenta consideravelmente. Consequentemente, a Leishmaniose Felina tem sido reportada em vários países, evidenciando a

importância crescente enquanto zoonose emergente e a sua relevância nos ecossistemas que asseguram a manutenção de *Leishmania* (Pereira et al., 2021; Aguiar et al., 2023).

A leishmaniose é uma doença com ampla distribuição geográfica, estando presente em mais de 90 países e afetando predominantemente populações mais desfavorecidas em regiões tropicais, incluindo Ásia, África, Médio Oriente e América Central e do Sul (Mann et al., 2021; Vilas-Boas et al., 2024). O vetor possui distribuição global; em regiões tropicais, mantém o ciclo de vida ativo todo o ano, enquanto nas subtropicais restringe-se aos períodos de temperaturas mais elevadas (Mann et al., 2021).

Estima-se que cerca de 12 milhões de pessoas estejam infetadas por *Leishmania* a nível global, com 700 mil a 1 milhão de novos casos anuais. A infeção apresenta espectro clínico variável, dependendo do agente infetante e da resposta imunitária do hospedeiro (Vilas-Boas et al., 2024).

No sul da Europa, o zimodema MON1 é o genótipo de *Leishmania infantum* mais frequentemente identificado em cães, gatos e humanos, embora os zimodemas MON-72 e MON-201 tenham sido detetados em casos isolados na Sicília (Pennisi et al., 2015; Pennisi et al., 2018). *L. infantum* MON-1 é responsável por mais de 96% dos casos de leishmaniose cutânea e visceral em humanos, bem como por 99% dos casos de leishmaniose canina registados em Portugal (Maia et al., 2015). A disseminação visceral da infeção pela mesma espécie, zimodema e genótipo encontrados em humanos e cães reforça a hipótese do papel dos gatos na epidemiologia desta zoonose (Maia et al., 2015). No entanto, tanto a seroprevalência como a deteção molecular de *L. infantum* tendem a ser mais baixas em felinos do que em canídeos, refletindo-se numa menor frequência de casos clínicos de Leishmaniose Felina (Pennisi et al., 2018; Fernandez-Gallego et al., 2020). Contudo, as infeções por *Leishmania* em gatos parecem ser mais frequentes do que se pensa, sugerindo que a prevalência pode estar subestimada em regiões endémicas, devido à ocorrência de infeções subclínicas (Pennisi et al., 2015). As diferenças observadas na seroprevalência entre cães e gatos corroboram a hipótese de que os felídeos exibem uma resposta imunológica mais forte face ao parasita (Ahuir-Baraja et al., 2021).

O primeiro caso de Leishmaniose Felina foi identificado na Argélia em 1912 (Ahuir-Baraja et al., 2020, Lappin et al., 2020), tendo o primeiro caso em Portugal sido reportado na década de 1990 (Maia et al., 2015).

A infeção felina por *Leishmania* tem sido mais frequentemente registada em regiões endémicas da América do Sul, Sul da Europa e Ásia Ocidental; verificando-se um aumento da prevalência e da

incidência ao longo dos últimos anos (Ahuir-Baraja et al., 2020; Lappin et al., 2020; Pereira et al., 2021). *L. infantum* é a principal espécie envolvida na Europa (Fernandez-Gallego et al., 2020; Aguiar et al., 2023) tendo sido já documentada em diversos países da bacia do Mediterrâneo, incluindo Itália, Espanha, Portugal, França, Grécia, Turquia e Chipre, bem como no Irão e no Brasil (Pennisi et al., 2018). Ainda assim, a infeção nos felinos é observada nas mesmas regiões onde a doença é reportada em cães ou no Homem. Com o aumento da movimentação de animais de estimação no espaço europeu existe o risco de disseminação da infeção, inclusive para regiões atualmente consideradas como não endémicas (Pennisi et al., 2015; Pennisi et al., 2018).

Os casos descritos envolvem gatos de todos os grupos etários, sendo que a maioria dos animais infetados pertence à raça europeu comum com pelo curto, sem evidência de predisposição associada ao sexo (Pennisi et al., 2013).

Os gatos podem ser hospedeiros de, pelo menos, seis espécies distintas do subgénero *Leishmania* e uma do subgénero *Viannia* em gatos domésticos (*Felis catus*) (Matralis et al., 2023; Pereira et al., 2021); designadamente *L. (L.) amazonensis* - Brasil; *L. (L.) infantum* - Brasil, sul e oeste da Europa e Ásia Ocidental; *L. (L.) major* - Portugal e na Turquia; *L. (L.) mexicana* - Estados Unidos da América e Venezuela; *L. (L.) tropica* - Ásia Ocidental; *L. (L.) venezuelensis* - Venezuela; e *L. (V.) braziliensis* - Brasil e Guiana Francesa (Marcondes et al., 2018; Persichetti et al., 2018; Rivas et al., 2018; Rocha et al., 2019; Akhtardanesh et al., 2020; Costa-Val et al., 2020; Pereira et al., 2021). Foi ainda detetada a presença de DNA de *L. infantum* em gatos selvagens (*Felis silvestris*) em Espanha e de *L. major/L. donovani* num gato doméstico (*Felis catus*) em Portugal continental, o que reforça a diversidade parasitária observada em populações felinas e a sua possível relevância epidemiológica (Pennisi et al., 2018; Pereira et al., 2021; Ahuir-Baraja et al., 2020; Nascimento et al., 2022).

Foi ainda identificada em gatos uma associação significativa entre a infeção por *L. infantum* e fatores como a sazonalidade, altitude, meio rural, estilo de vida exterior, sexo masculino e idade adulta (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2022).

A coinfeção com outros parasitas tem sido frequentemente observada em gatos infetados por *L. infantum* em áreas endémicas, incluindo *Toxoplasma gondii*, Coronavírus felino, Vírus da imunodeficiência felina (FIV) e Vírus da Leucemia Felina (FeLV), o que pode contribuir para o sucesso da infeção por *Leishmania* (Spada et al. 2016; Iatta et al. 2019; Nascimento et al., 2022). Porém, apenas a coinfeção com o FIV apresentou uma associação significativa (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2022).

A infecção por FIV e FeLV tem um impacto significativo na saúde dos gatos, aumentando a predisposição para infecções oportunistas (Nascimento et al., 2022). Um estudo no Irão relatou a maior probabilidade de gatos FIV e FeLV positivos apresentarem um teste positivo para *L. infantum* (Akhtardanesh et al., 2020). Embora a coinfeção com FIV seja comum, não há uma associação clara entre FIV/FeLV e *Leishmania* (Marcondes et al. 2018; Bezerra et al. 2019; Baneth et al. 2020). Contudo, são necessárias mais evidências científicas para esclarecer a relação entre estas coinfeções e a leishmaniose (Bezerra et al. 2019). Foram igualmente descritas coinfeções com *Hepatozoon felis* e *Candidatus Mycoplasma haemominutum* (Ahuir-Baraja et al., 2021). Coinfeções menos comuns com *L. infantum*, como *Mycoplasma* spp. e *Neospora caninum*, também foram relatadas no Brasil (Sousa et al. 2014; Marcondes et al. 2018). Outras patologias potencialmente relacionadas com a deteção de manifestações clínicas de Leishmaniose Felina incluem os carcinomas (Ahuir-Baraja et al., 2021).

Sendo os gatos considerados reservatórios secundários de *L. infantum*, pensa-se que na ausência do reservatório primário (o cão) não consigam manter de forma autónoma a infecção em ambientes naturais, mesmo na presença de vetores competentes. Não obstante, o potencial papel epidemiológico dos felinos na perpetuação e transmissão de *L. infantum* justifica a continuidade da investigação nesta área (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2022).

Perante o exposto, a leishmaniose continua a constituir um problema de saúde relevante. Para o seu controlo, devem ser intensificados os esforços de sensibilização e monitorização relativamente ao impacto global da leishmaniose (WHO, 2020), uma vez que a mesma representa um problema relevante para a saúde pública, devendo-se estabelecer programas nacionais de controlo, desenvolver orientações técnicas e implementar sistemas eficazes de vigilância epidemiológica, com recolha e análise de dados, de modo a compreender o papel dos gatos no ciclo de infecção desta zoonose (Santos dos Santos et al., 2021; WHO, 2016; WHO, 2020).

4. FISIOPATOGENIA

Existe uma correlação direta entre a progressão da infecção por *Leishmania* e a resposta imunitária (Maia et al., 2018; Pereira et al., 2021).

De uma forma geral, o organismo dos mamíferos apresenta um sistema de defesa primário que inclui barreiras físico-químicas, como a pele, as mucosas, o movimento ciliar nas vias respiratórias, o pH ácido do estômago, a ação de enzimas como a lisozima e a presença de peptídeos antimicrobianos. Estes

elementos são, contudo, ineficazes no caso da infecção por *Leishmania* spp. uma vez que o vetor, inocula por via percutânea as formas promastigotas nos tecidos. O sistema imunitário inato, incluindo macrófagos, neutrófilos e células NK (natural killer), atua como uma resposta primária do sistema imunitário. Porém, este parasita resiste à fagocitose pelos macrófagos, células onde as formas promastigotas se diferenciam em formas amastigotas (Esch et al., 2013; Ahuir-Baraja et al., 2021).

No entanto, tanto a resposta imunitária inata como a resposta imunitária adquirida têm um papel fundamental na evolução da infecção por *Leishmania* (Solano-Gallego et al., 2016). A principal defesa contra o parasita é mediada pela resposta imunitária adquirida, caracterizada pelo equilíbrio entre as respostas Th1 (células T auxiliares tipo 1) e Th2 (células T auxiliares tipo 2). As células Th1 secretam interleucina-2 (IL-2), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interferão-gama (IFN- γ), que ativam os macrófagos para eliminarem os parasitas intracelulares, sendo, por isso, considerada uma resposta protetora associada ao controlo da infecção. Por outro lado, as células Th2 secretam interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5), interleucina-10 (IL-10), interleucina-13 (IL-13) e fator de crescimento transformador beta (TGF- β), que favorecem a ativação de linfócitos B e a produção de anticorpos, caracterizando uma resposta humoral. Esta resposta está associada à progressão da doença (Solano-Gallego et al., 2016; Volpedo et al., 2021; Garía-Castro et al., 2022).

Em todos os hospedeiros vertebrados, os macrófagos desempenham um papel crucial no controlo da infecção, contudo, não determinam diretamente se a resposta imune será do tipo Th1 ou Th2, mas influenciam esse equilíbrio através da produção de citocinas. Sendo que, a presença de macrófagos infetados por *Leishmania* está geralmente associada a uma resposta inflamatória; a secreção de citocinas como o IFN- γ , IL-2 e TNF- α mediados por uma resposta Th1, promovem a destruição intracelular das formas amastigotas de *Leishmania* pelos macrófagos (Baneth et al., 2008; Pennisi et al., 2013). Assim, os macrófagos participam na modulação e execução da resposta imune, mas não na sua decisão inicial (Pennisi et al., 2013).

De uma forma geral, a resposta imunitária a uma infecção por *Leishmania* envolve a ativação das células Th1 e Th2, bem como a produção de anticorpos, os quais, apesar de representarem uma resposta imunitária específica, revelam-se ineficazes na eliminação dos parasitas e podem, inclusive, favorecer a sua multiplicação e disseminação (Montoya et al., 2018; Ahuir-Baraja et al., 2021).

O curso clínico da infecção por *Leishmania* é determinado pela polarização da resposta das células T; esta polarização é determinada por diversos fatores: as citocinas presentes, a genética e imunidade do hospedeiro, condições ambientais, a exposição prévia à saliva do vetor, assim como a espécie ou

estirpe de *Leishmania* envolvida. E, depende de qual das respostas imunitárias (Th1 ou Th2) predomina (Deplazes et al., 2016; Pennisi et al., 2018). A resposta Th2 favorece a produção elevada de anticorpos (IgG1, IgG2, IgM, IgA, IgE) (Deplazes et al., 2016; Maia et al., 2018; Pereira et al., 2021) sem efeito protetor e está associada a hiperglobulinemia e fraca resposta celular, originando sintomatologia (Deplazes et al., 2016). Presume-se que a dominância da resposta imunitária Th2 constitua um dos principais determinantes da sua maior suscetibilidade à infecção por *Leishmania* (Day, 2016; Solano-Gallego et al., 2016; Nascimento et al., 2022). Em contraste, a resposta Th1 promove uma resposta celular eficaz com títulos baixos de anticorpos, contribuindo para o controlo da infecção e consequentemente ausência de sintomatologia (Deplazes et al., 2016).

A suscetibilidade à infecção progressiva e desenvolvimento de lesões e sinais clínicos de leishmaniose resulta de um desequilíbrio entre a resposta imunitária Th1 e Th2; associada a uma resposta mediada por Th2 e por um comprometimento da resposta mediada por linfócitos Th1 (Esch et al., 2013; Pennisi et al., 2018; Vellozo et al., 2021). Indivíduos com resposta Th1 controlam melhor o parasita, com baixos níveis de parasitemia, mas podem desenvolver leishmaniose mucocutânea devido a uma resposta celular mais forte que conduz à destruição tecidual. Já os animais com resposta Th2 apresentam uma maior carga parasitária, pois os anticorpos são ineficazes no controlo do parasita intracelular obrigatório, apresentando maior risco de formas disseminadas, como a visceral ou a cutânea disseminada (Mann et al., 2021).

O desenvolvimento da infecção é assim condicionado por fatores imunológicos intimamente relacionados com o perfil genético dos hospedeiros. Em humanos, a infecção por *L. infantum* pode manifestar-se clinicamente desde uma lesão cutânea localizada até à forma visceral grave da doença, sendo esta última mais frequentemente observada em pacientes imunocomprometidos (Pennisi et al., 2013). Já o mecanismo subjacente à resposta imunitária felina face à infecção por *Leishmania* permanece pouco compreendido, sendo que o conhecimento atual, resulta sobretudo de uma extrapolação a partir de estudos em humanos e cães (Nascimento et al., 2022).

A resposta imunitária é desencadeada pela picada de uma fêmea de flebótomo infetada (Deplazes et al., 2016). Os componentes da saliva do vetor, devido às suas propriedades imunomoduladoras, podem inibir resposta celular local, atenuando a atividade dos macrófagos (células fundamentais na indução de citocinas pró-inflamatórias como IFN- γ , IL-2 e TNF- α). Este efeito contribui para um desvio da resposta imunitária celular, favorecendo um microambiente propício a uma resposta Th2, menos eficaz no controlo da infecção e facilitando a infecção pelas formas promastigotas, ou seja, associado a

uma maior permissividade à infecção (Deplazes et al., 2016; Tomiotto-Pellissier et al., 2018; Maia et al., 2018; Pereira et al., 2021; Nascimento et al., 2022).

No entanto, animais previamente picados por flebótomos e sensibilizados com o seu antigénio salivar, desenvolvem uma resposta Th1 robusta que limita o estabelecimento da infecção, tornando-os mais resistentes à infecção. Já os que nunca foram picados, os componentes salivares do vetor induzem um microambiente favorável à resposta Th2, facilitando o estabelecimento da infecção, tornando-os mais sensíveis (Deplazes et al., 2016).

Em cães infetados com sinais clínicos graves, observou-se uma produção reduzida de IFN- γ e alta parasitémia que se associam a uma resposta Th2 predominante, que apesar de elevados títulos de anticorpos, não conferem proteção (Solano-Gallego et al. 2016). Em gatos, a carga média de parasitas é significativamente mais baixa, o que pode estar relacionado à diminuição do título de anticorpos e à ocorrência de uma resposta imunitária predominantemente Th1, o que contribui para o controlo da infecção (Priolo et al. 2019; Nascimento et al., 2022).

Observou-se que gatos infetados por *L. infantum* em zonas endémicas de leishmaniose produzem IFN- γ específico em resposta à presença do parasita, indicando a ativação da imunidade mediada por células. Esta resposta do tipo Th1 é observada tanto em animais clinicamente saudáveis como em alguns com sinais clínicos, embora os primeiros pareçam controlar melhor a infecção. Nos gatos com manifestações clínicas, predomina uma resposta Th2, caracterizada por níveis elevados de citocinas pró-inflamatórias e por uma menor eficácia no controlo da infecção, o que favorece a sobrevivência e multiplicação das formas promastigotas do parasita, ou seja, associado a uma maior permissividade à infecção. (Priolo et al., 2019; Nascimento et al., 2022). A resposta humoral, por sua vez, não parece desempenhar um papel protetor (Nascimento et al., 2022).

O único estudo que avaliou o papel do sistema do complemento na infecção felina por *L. infantum* demonstrou que, ao contrário do que ocorre em humanos e cães, as proteínas dos gatos são consumidas pelos parasitas através da via das lectinas, o que pode, hipoteticamente, justificar a sua reduzida predisposição para o desenvolvimento de doença clínica (Pereira et al., 2021; Tirado et al., 2021).

Dados relativos à patogénese da leishmaniose em felinos são escassos. Estudos sugerem que os gatos, apresentam uma menor suscetibilidade ao desenvolvimento da doença por *L. infantum* quando comparados aos cães, embora também apresentem uma parasitemia prolongada (Akhtardanesh et al.,

2018; Pereira et al., 2021). Gatos naturalmente expostos à infecção por *L. infantum* produzem IFN- γ após estimulação *ex vivo* do sangue com antígenos do parasita, de forma análoga ao que ocorre em cães (Solano-Gallego et al., 2016; Priolo et al., 2019). Este achado reveste-se de importância, uma vez que evidencia que os parasitas do género *Leishmania* podem induzir uma resposta imunitária celular protetora em felinos (Pereira et al., 2021).

Em cães, após a inoculação, desenvolve-se uma reação inflamatória primária cutânea, geralmente subclínica. Os macrófagos infiltrados na lesão tornam-se infetados e disseminam os parasitas para diversos órgãos (gânglios linfáticos, baço, fígado, medula óssea e pele), paralelamente, ocorre proliferação de plasmócitos. A inflamação granulomatosa sistémica resultante provoca lesões multiorgânicas, enquanto a ativação específica e policlonal das células B conduz à formação de complexos imunes circulantes e autoanticorpos, que contribuem para danos endoteliais, glomerulonefrite e amiloidose (Deplazes et al., 2016). A infecção pode variar desde formas subclínicas até manifestações clínicas leves e autolimitadas ou quadros graves e progressivos (Baneth et al., 2008; Pennisi et al., 2013). No caso dos gatos, análise histopatológica das lesões cutâneas evidencia predominantemente uma dermatite granulomatosa difusa com macrófagos fortemente parasitados ou, alternativamente, uma perifoliculite granulomatosa acompanhada de reação liquenoide/dermatite de interface, geralmente associada a uma menor carga parasitária. Lesões inflamatórias granulomatosas semelhantes têm sido descritas também no fígado e nos rins (Pennisi et al., 2013).

Evidências sugerem que os gatos, em comparação com os cães, apresentam uma resistência intrínseca superior à infecção por *Leishmania*, o que se reflete numa menor ocorrência de infecção e numa reduzida expressão clínica da doença (Akhtardanesh et al., 2018; Nascimento et al., 2022). Esta diferença na suscetibilidade entre espécies é, em grande medida, atribuída ao perfil genético do hospedeiro, o qual modula a natureza e a eficácia da resposta imunitária desencadeada (Day, 2016; Nascimento et al., 2022).

5. MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

O primeiro caso de Leishmaniose Felina descrito em Portugal foi reportado num gato que apresentava áreas assimétricas e não pruriginosas de alopecia no dorso, bem como nódulos cutâneos supraoculares do lado direito da cabeça. A observação de formas amastigotas de *Leishmania* em lesões nodulares na

região da cabeça e nos gânglios linfáticos poplíteos confirmou o diagnóstico (Maia et al., 2015). Importa ainda salientar que não apenas as manifestações clínicas cutâneas, mas também as alterações oculares e sistêmicas, associadas à presença de hiperproteinemia e hiperglobulinemia, devem motivar a suspeita clínica (Maia et al., 2015; Pennisi et al., 2013, 2015 e 2018).

Apesar da Leishmaniose Felina se caracterizar por uma manifestação sistêmica, as lesões cutâneas de natureza ulcerativa e nodular constituem os achados cutâneos mais predominantes (Matralis et al., 2023). Porém, podem apresentar lesões cutâneas, mucocutâneas, orais e oculares (Pennisi et al., 2013; Fernandez-Gallego et al., 2020; Alcover et al., 2021).

As lesões cutâneas e mucocutâneas, representam a manifestação clínica mais prevalente da Leishmaniose Felina, podendo, em alguns casos, constituir o único achado detetado durante o exame físico. A dermatite nodular e/ou ulcerativa, crostosa, ou descamativa localiza-se predominantemente na região da cabeça e do pescoço, sendo a sua ocorrência menos frequente no tronco e nos membros (Figuras 1, 2, 3 e 4). Os nódulos geralmente são pequenos (<1 cm) (Matralis et al., 2023).

O prurido é, em geral, ausente, sendo frequentemente reportados casos de alopecia ou de pelagem de má qualidade ou rarefeita e lacerações (Figuras 1 e 2) (Pennisi et al., 2013, 2015 e 2018; Rocha et al., 2019; Abramo et al., 2021; Nascimento et al., 2022). As lesões dermatológicas podem ser isoladas ou múltiplas, localizando-se tipicamente na região cefálica, no pavilhão auricular e na ponta do nariz (Figura 3), podendo, igualmente, ocorrer envolvimento generalizado, com predomínio nas extremidades dos membros (Figura 4) (Fernandez-Gallego et al., 2020; Nascimento et al., 2022; Matralis et al., 2023).



Figura 1. Área alopécica e eritematosa com ulcerações crostosas localizadas na região facial e corporal do gato (Adaptado de Da Silva et al., 2023).



Figura 2. Alopecia auricular num gato, seropositivo com um título elevado de anticorpos para *L. infantum* (Adaptado de Baneth et al., 2020).



Figura 3. Lesões nodulares nas extremidades das orelhas, focinho, lábios e pálpebra inferior direita (Adaptado de Silva et al., 2020).



Figura 4. Lesão cutânea caracterizada pela presença de um nódulo localizado na região carpiana do gato. (Adaptado de Fernandez-Gallego et al., 2020).

Entre as manifestações não cutâneas mais comuns destacam-se a linfadenomegalia periférica, gengivoestomatite crónica, letargia/fraqueza generalizada, redução do apetite, perda de peso e anorexia. Afeta também a nível ocular, incluindo sobretudo uveíte, blefarite nodular e/ou queratite (ulcerativa ou não ulcerativa) e panoftalmite; mas também conjuntivite, edema ou perfuração da córnea (Pennisi et al., 2013; Alcover et al., 2021; Batista et al., 2023; Nascimento et al., 2023; Carbonara et al., 2024). Foram recentemente relatados casos de manifestações exclusivamente oculares, pseudotumores na íris, tanto no Brasil como na Europa (Madruga et al., 2018; Nascimento et al., 2023; Schäfer et al., 2023).

Os sinais clínicos menos frequentes, incluem desidratação, palidez das mucosas, dispneia, hipotermia, corrimento nasal, vômitos, caquexia, febre, diarreia, icterícia, poliúria/polidipsia, hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenomegalia, doença renal e, em alguns casos, aborto (Nascimento et al., 2023; Silva et al., 2023; Carbonara et al., 2024). No que diz respeito às alterações laboratoriais, podem passar por anemia não regenerativa, hiperglobulinemia, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, proteinúria, azotemia renal e leucopenia (Pennisi et al., 2013, 2015 e 2018; Alcover et al., 2021; Nascimento et al., 2023; Silva et al., 2023; Carbonara et al., 2024).

Contudo, os gatos podem permanecer infetados durante períodos prolongados, frequentemente por vários anos, sem manifestar sinais clínicos evidentes (Alcover et al., 2021; Nascimento et al., 2023). A maioria que desenvolve manifestações clínicas apresenta suspeita de disfunção ou comprometimento do sistema imunitário (Pennisi et al., 2013). As informações disponíveis relativas a alterações clínico-

patológicas são limitadas, contudo, foi observada a progressão para doença e em alguns casos acompanhados até ao óbito ou à eutanásia (Pennisi et al., 2013).

Todos os sinais clínicos mencionados também foram descritos em cães, podendo manifestar-se de forma generalizada ou localizada, simétrica ou assimétrica, com distribuição difusa ou focal, frequentemente coexistindo com lesões mucocutâneas (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2023). Nos canídeos, as manifestações clínicas da infeção podem apresentar uma ampla variabilidade (Alcover et al., 2021), porém, caracterizam-se, geralmente, por uma evolução crónica e progressiva, apresentando um período de incubação que pode estender-se por vários meses ou mesmo anos. Embora qualquer tecido ou órgão possa ser acometido, as manifestações cutâneas são as mais sugestivas do quadro clínico (Pennisi et al., 2013). De qualquer modo, ausência de sinais clínicos/ou quadro clínico subtil até ao desenvolvimento de formas graves podem evoluir para condições fatais (Alcover et al., 2021).

Enquanto nos cães a leishmaniose é uma doença crónica e progressiva que compromete todos os tecidos e órgãos, nos gatos, esta patologia afeta predominantemente o baço, fígado, linfonodos, medula óssea, rins e olhos, com as manifestações clínicas dermatológicas e mucocutâneas a serem as mais prevalentes, sendo mais frequentes do que nos cães (Pennisi et al., 2013, 2015 e 2018; Ahuir-Baraja et al., 2021). Atualmente, a Leishmaniose Felina deve ser considerada com maior frequência no diagnóstico diferencial de patologias em felinos (Maia et al., 2015; Carbonara et al., 2024).

6. MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

O aumento da incidência de casos de Leishmaniose, reforça a relevância do diagnóstico necessário para a confirmação da infeção e posterior controlo da sua disseminação. O diagnóstico em animais apoia-se, de forma integrada, na avaliação clínica, epidemiológica e laboratorial (Nascimento et al., 2022; Matralis et al., 2023). Laboratorialmente utilizam-se técnicas como citologia, histopatologia, técnicas sorológicas e técnicas moleculares para o diagnóstico de Leishmaniose Felina (Matralis et al., 2023). Em suspeita de infeção, as metodologias empregues em cães, em geral, não são igualmente aplicáveis a gatos (Nascimento et al., 2022).

Na Leishmaniose Felina, o diagnóstico parte de uma anamnese inicial, na qual se considera a área geográfica de residência do animal, o risco de exposição a flebótomos, a utilização de repelentes, assim como, sinais clínicos compatíveis, coinfeções como FIV e FeLV (Bezerra et al., 2019; Nascimento et al.,

2022), contacto com animais infetados, tipo de ambiente onde o animal vive e eventuais deslocações a zonas endémicas. Segue-se uma avaliação clínica associada a exames complementares como hemograma e bioquímica sérica que poderão sustentar exames laboratoriais adicionais mais específicos (Pennisi et al., 2015; Brianti et al. 2017; Nascimento et al., 2022).

Apesar da sua relevância clínica, os parâmetros bioquímicos e hematológicos em gatos infetados com *Leishmania* ainda são pouco compreendidos, não existindo, até à data, estudos publicados que os comparem com os de animais saudáveis (Batista et al., 2023).

Os exames laboratoriais dividem-se em métodos diretos e indiretos, com base na forma de deteção do agente (Nascimento et al., 2022; Matralis et al., 2023). Nos métodos diretos considera-se a deteção do parasita ou do seu material genético incluindo-se a citologia, histopatologia e testes moleculares, como a *Polymerase Chain Reaction* (PCR). Nos métodos indiretos, ocorre a deteção da resposta imunológica do hospedeiro, isto é, deteção de anticorpos contra *Leishmania*, pelo que se inclui o *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA), a Imunofluorescência Indireta (IFI), o *Western Blot* (WB) e a Imunocromatografia (POC - *Point of Care*) (Dantas-Torres et al., 2010; Pennisi et al., 2015; Trevisan et al., 2015; Baneth et al., 2016; Brianti et al. 2017; Alcover et al., 2021; Nascimento et al., 2022; Matralis et al., 2023).

Para o diagnóstico direto é necessária a colheita e seleção das amostras mais adequadas e com maior probabilidade de conterem parasitas para análise (Pereira et al., 2021; Matralis et al., 2023). Entre as amostras a colher, inclui-se a punção aspirativa por agulha fina de linfonodos, de medula óssea e, em determinadas situações, do baço. Estas amostras destacam-se como opções preferenciais (Alcover et al., 2021; Santos dos Santos et al., 2021; Nascimento et al., 2022; Batista et al., 2023). A colheita de tecido cutâneo proveniente de lesões dermatológicas, representa igualmente uma fonte valiosa para exames citológicos, histopatológicos ou moleculares, ou também, esfregaços de lesões cutâneas ou mucocutâneas (Abramo et al., 2021), bem como amostras de sangue periférico, embora este, geralmente, apresente uma menor sensibilidade na deteção direta do parasita (Pereira et al., 2021; Nascimento et al., 2022; Batista et al., 2023). Em determinados casos, a análise de secreções oculares, nasais ou do líquido cefalorraquidiano pode ser considerada, sobretudo quando há manifestações clínicas sugestivas (Leal et al., 2018; Madruga et al., 2018; Costa-Val et al., 2020; Matralis et al., 2023; Schäfer et al., 2023). Na definição do tipo de amostra a recolher, é fundamental ponderar tanto a acessibilidade do local como a carga parasitária esperada, garantindo assim a máxima sensibilidade dos métodos de diagnóstico direto (Nascimento et al., 2022; Matralis et al., 2023; Schäfer et al., 2023).

Sabe-se que a correlação entre os resultados sorológicos e a ocorrência de uma infecção ativa pode não ser fiável, uma vez que em gatos a resposta imunitária humoral é variável (Nascimento et al., 2022). Acresce que os testes sorológicos carecem de uma validação específica para felinos uma vez que foram inicialmente padronizados para cães, o que pode influenciar a sua sensibilidade e especificidade (Pennisi et al. 2015). Ainda assim, é frequente a sua utilização no *screening* em gatos (Brianti et al. 2017; Nascimento et al., 2022). Recomenda-se, porém, que a interpretação dos resultados seja feita em conjunto com a avaliação clínica e exames complementares de diagnóstico, como a PCR ou a citologia, devido ao risco de reações cruzadas com resultados falsos positivos assim como à dificuldade de diferenciação de uma exposição recente e uma exposição antiga (Coura et al. 2018; Nascimento et al., 2022).

6.1. MÉTODOS DIRETOS

Nos métodos diretos, o diagnóstico parasitológico é realizado por observação direta do parasita, onde se faz a colheita da amostra (por raspagem, punção ou biópsia), preparação do esfregaço, coloração e posteriormente a observação microscópica das formas amastigotas (Figura 5), e, pode ser realizada em diversas amostras biológicas, através de preparações citológicas geralmente coradas com Giemsa, ou de preparações histológicas coradas com hematoxilina-eosina de, nomeadamente, baço, fígado, medula óssea, linfonodos, e até de sangue periférico, pele, mucosa oral, exsudado nasal, olhos, estômago e rins, entre outros; isto é, órgãos que são infetados pelas formas amastigotas (Rocha et al., 2019; Nascimento et al., 2022; Schäfer et al., 2023).

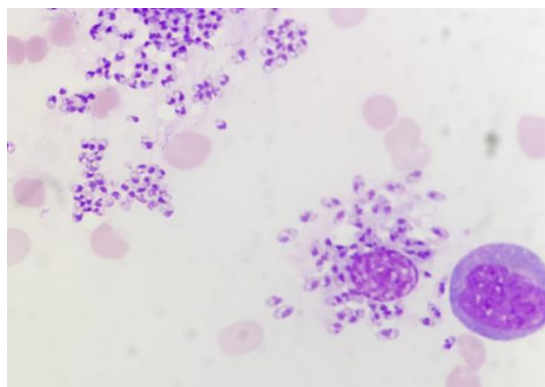


Figura 5. Esfregaço citológico de medula óssea com presença de amastigotas de *Leishmania* spp. no interior de macrófagos. Observação ao microscópio ótico, ampliação de 1000×, com uso de óleo de imersão. (Imagem gentilmente cedida pelo Prof. Sérgio Sousa).

A presença destas formas em tecidos linfoides poderá estar associada a alterações clínico-patológicas, destacando-se a sua relevância para a sensibilidade do diagnóstico parasitológico (Marcondes et al. 2018). Contudo, em gatos com sinais clínicos, os linfonodos e a medula óssea apresentam maior sensibilidade diagnóstica do que o baço e o fígado, ou outras amostras, embora não exista consenso quanto ao órgão ideal para o diagnóstico citológico (Coura et al. 2018).

Estes métodos de citologia em gatos são recomendados em casos sintomáticos, pois é uma técnica simples e de rápido resultado (Metzdorf et al. 2017; Nascimento et al., 2022). Envolve a recolha de esfregaços de impressão e aspirações com agulha fina de lesões nodulares ulcerativas de gatos infetados. As amostras são coradas com uma variante da coloração Romanowsky (Diff-Quick) (Rivas et al., 2018). A citologia é o método mais utilizado para lesões cutâneas, com uma elevada especificidade ($\approx 100\%$), mas com uma sensibilidade variável ($\approx 30-70\%$, dependente do tecido e carga parasitária) (Pennisi et al., 2015). Na ausência de amastigotas, recorre-se frequentemente ao diagnóstico histológico, imunohistoquímico ou por PCR (Pennisi et al., 2015; Abramo et al. 2021; Nascimento et al., 2022). Embora o diagnóstico por cultura seja lento e apresente baixa sensibilidade, fragmentos de lesões são cultivados em meio Novy-MacNeal-Nicolle (NNN) para pesquisa de promastigotas (Coura et al. 2018; Nascimento et al., 2022). Além disso, lesões cutâneas macroscópicas, nodulares e ulcerativas são biopsiadas e posteriormente fixadas em formol, e amastigotas podem ser detectadas por histologia (Abramo et al. 2021), onde se fazem cortes, corados com HE, avaliando o padrão inflamatório dérmico e as populações celulares (Pennisi et al., 2015; Rivas et al., 2018; Nascimento et al., 2022). Já a imunohistoquímica, devido à sua boa sensibilidade, pode ser usada como método complementar para melhorar a deteção de parasitas em número reduzido nos tecidos (Nascimento et al., 2022).

Relativamente ao diagnóstico molecular, a PCR apresenta elevada especificidade ($\approx 100\%$) e sensibilidade ($\approx 80-100\%$) para deteção do DNA de *Leishmania* em diversas amostras (Pennisi et al., 2015; Coura et al. 2018), incluindo sangue, medula óssea, linfonodos, pele, conjuntiva e outros tecidos. As amostras devem ser conservadas em condições apropriadas (refrigeradas ou congeladas) para evitar degradação do DNA, permitindo a confirmação da infeção mesmo quando a carga parasitária é baixa ou quando ocorrem infeções subclínicas (Nascimento et al., 2022; Schäfer et al., 2023). Este método baseia-se na extração de DNA a partir da amostra biológica, seguindo-se a sua incubação num *mix* que inclui *primers* específicos, nucleótidos, DNA polimerase e solução tampão. A reação passa por vários ciclos de temperatura, nos quais o DNA é desnaturado, os *primers* se emparelham e as novas cadeias são estendidas, resultando na amplificação da sequência-alvo. Posteriormente, os produtos

gerados são analisados por eletroforese em gel (Figura 6) (Pennisi et al., 2015; Pereira et al., 2019; Alcover et al., 2021; Priolo et al., 2022). As variantes mais utilizadas da PCR incluem a convencional (qualitativa), em tempo real (quantitativa - qPCR) e a nested PCR. No entanto, a PCR qualitativa não diferencia infecção ativa da presença residual de DNA parasitário, devendo ser interpretada em conjunto com os dados clínicos e laboratoriais (Abramo et al. 2021; Nascimento et al., 2022). Já a PCR quantitativa, além da detecção, permite quantificar a carga parasitária podendo fornecer indícios sobre o tipo de infecção, sendo útil no seguimento clínico e na avaliação da resposta terapêutica. Contudo, a sua interpretação deve igualmente considerar o contexto clínico do animal (Pennisi et al., 2015; Abramo et al. 2021; Nascimento et al., 2022).

A Figura 6 ilustra os produtos amplificados por PCR, evidenciando a presença de DNA de *Leishmania* em diferentes amostras. As bandas das colunas 1 e 6 correspondem ao marcador molecular. Na banda da coluna 2 observa-se a amplificação de DNA proveniente de uma amostra de PAAF. As bandas das colunas 3 e 4 apresentam os controlos positivos para *L. infantum* e *L. tropica*, respetivamente, enquanto a banda da coluna 5 representa o controlo negativo, sem amplificação. Esta imagem, adaptada de Matralis et al., 2023, evidencia a especificidade e sensibilidade da técnica.

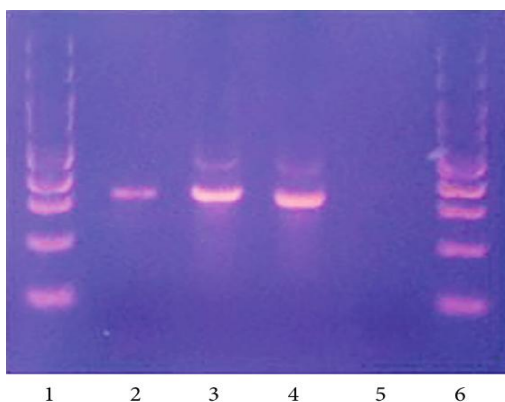


Figura 6. Produtos amplificados por PCR (Adaptado de Matralis et al., 2023).

A sensibilidade da PCR depende da amostra e da fase da infecção. Em gatos sintomáticos, verifica-se uma maior sensibilidade nas amostras pele, medula óssea e linfonodos em comparação com amostra de sangue periférico (Coura et al. 2018). Num contexto de *screening*, as zaragatoas conjuntivais têm-se revelado uma amostra fiável colhida com um procedimento minimamente invasivo para rastreio (Pennisi et al. 2015; Nascimento et al., 2022). Por fim, além do PCR, a *Loop-Mediated Isothermal Amplification* (LAMP) têm sido investigadas como alternativas promissoras para o diagnóstico da

Leishmaniose Felina, sobretudo em contexto de clínica, devido à sua simplicidade e rapidez. No entanto, a sua aplicação em gatos permanece em fase experimental (Nzelu et al. 2019; Nascimento et al., 2022).

Outras abordagens têm sido exploradas no diagnóstico da Leishmaniose Felina, embora com menor aplicação clínica (Nascimento et al., 2022), como a cultura parasitológica, embora direta, é laboriosa, de baixa sensibilidade e limitada a condições específicas (Pennisi et al. 2015; Nascimento et al., 2022). A imuno-histoquímica pode aumentar a sensibilidade diagnóstica em casos com infiltrado inflamatório sugestivo (Nascimento et al., 2022).

6.2. MÉTODOS INDIRETOS

Entre os métodos indiretos, o teste ELISA identifica anticorpos específicos presentes no soro do animal através de uma marcação enzimática (Pennisi et al., 2015; Persichetti et al., 2017). A reação colorimétrica, cuja intensidade é proporcional à quantidade de anticorpos presentes, permite análise por espectrofotometria e avaliar a resposta imunológica do animal à infeção (Pennisi et al., 2015; Persichetti et al., 2017; Rivas et al., 2018; Alcover et al., 2021). Apresenta uma boa especificidade ($\approx 80-100\%$) e sensibilidade, que dependem fortemente do tipo de antigénio utilizado (Persichetti et al., 2017). A interpretação deve ser complementada com informações clínicas e outros exames laboratoriais, como a PCR ou citologia (Persichetti et al., 2017; Alcover et al., 2021).

A técnica de IFI baseia-se na deteção de anticorpos específicos presentes no soro do animal (Pennisi et al., 2015). Os testes de IFI para utilização em amostras felinas estabeleceram a diluição de 1:80 como valor de corte animal (Pennisi et al., 2013 e 2015). Consiste na preparação de diluições seriadas de soro em lâminas fixadas com formas promastigotas do parasita. A deteção de anticorpos baseia-se na utilização de um conjugado com fluoresceína, com posterior observação em microscópio de fluorescência. O padrão de fluorescência é comparado com controlos positivos e negativos permitindo determinar a presença de anticorpos específicos (Pennisi et al., 2015; Persichetti et al., 2017; Pereira et al., 2019; Alcover et al., 2021; Priolo et al., 2022). A sua especificidade é elevada ($\approx 80-100\%$) mas a sensibilidade é mais baixa ($\approx 30-80\%$) (Persichetti et al., 2017). É uma das técnicas mais utilizadas em estudos com felinos, tendo-se demonstrado como a metodologia mais sensível para a deteção de infeções subclínicas ou em fases iniciais em felinos (Costa-Val et al., 2020; Nascimento et al., 2022). A IFI mantém ampla aplicação, embora o ELISA esteja a ganhar relevância devido ao seu potencial de automatização e menor subjetividade na interpretação dos resultados, esta técnica tem-se mostrado mais sensível na identificação de casos clínicos de leishmaniose em felinos (Nascimento et al., 2022).

O método WB, consiste na separação das proteínas do parasita *Leishmania* por eletroforese em gel, de acordo com o seu peso molecular. Posteriormente, estas proteínas são transferidas para uma membrana (normalmente de nitrocelulose), que é incubada com o soro do animal (Pennisi et al., 2015). Depois da incubação com soro felino diluído e se houver a presença de anticorpos específicos, estes ligam-se às proteínas imobilizadas na membrana. Um anticorpo secundário conjugado com enzima é então adicionado, ligando-se aos anticorpos do hospedeiro. A adição subsequente de um substrato enzimático permite a visualização de bandas correspondentes às proteínas reconhecidas, confirmando a presença de resposta imunitária específica contra o parasita (Pennisi et al., 2015; Persichetti et al., 2017; Rivas et al., 2018; Alcover et al., 2021). É considerado um dos métodos mais específicos ($\approx 95\%$ - 100%) e sensíveis ($\approx 85\%$ e 100%) (Persichetti et al., 2017), com elevada eficácia na deteção da doença em animais (Trevisan et al., 2015; Alcover et al., 2021) e útil como teste confirmatório, sendo utilizado para validar resultados obtidos por métodos como ELISA ou IFI (Pennisi et al., 2015; Persichetti et al., 2017; Alcover et al., 2021). Contudo, recentemente, verificou-se uma reduzida concordância do WB em relação aos resultados dos testes sorológicos e ao diagnóstico molecular (Trevisan et al., 2015; Alcover et al., 2021).

Testes rápidos de imunocromatografia, referidos como testes “*Point of Care*” (POC), têm sido propostos como ferramentas úteis em contexto clínico, pela sua rapidez e simplicidade na deteção de anticorpos específicos contra *Leishmania* no soro ou plasma do cão, contudo, não estão validados para utilização com soro de gato (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2022; Gebremeskele et al., 2023). Utilizam uma membrana com antigénios fixados, que capturam os anticorpos da amostra. O soro migra por capilaridade, promovendo a ligação dos anticorpos aos antigénios. Um anticorpo marcado visualmente destaca essa interação, formando uma linha colorida que sinaliza um resultado positivo (Pennisi et al., 2015; Gebremeskele et al., 2023; Pereira et al., 2024). Apresentam uma especificidade e sensibilidade baixa, especialmente em casos de baixa carga parasitária ou infeção subclínica, uma vez que os níveis de anticorpos circulantes podem ser insuficientes para deteção, conduzindo a possíveis falsos negativos; devem por isso, ser usados em conjunto com outros exames para confirmação do diagnóstico (Pennisi et al., 2015; Nascimento et al., 2022; Gebremeskele et al., 2023; Pereira et al., 2024).

Ainda que com menor uso clínico, a citometria de fluxo, é outra abordagem que tem sido explorada no diagnóstico da Leishmaniose Felina, usada principalmente em estudos experimentais que permite avaliar a resposta imunológica dos gatos infetados e a pesquisa de biomarcadores inflamatórios e imunológicos pode ajudar a desenvolver testes diagnósticos mais específicos (Nascimento et al., 2022).

Em quadros de leishmaniose cutânea em cães e gatos os métodos diagnósticos mais utilizados incluem os testes diretos de lesões (Citologia), a PCR, o ELISA, a IFI e o *Western blot*. Recomendando-se a utilização combinada destas diferentes técnicas para o diagnóstico da leishmaniose (Trevisan et al., 2015; Alcover et al., 2021).

De forma conclusiva, a combinação dos métodos diagnósticos anteriormente falados, como citologia, sorologia e técnicas moleculares, permanece a abordagem mais recomendada para reforçar a fiabilidade de um diagnóstico mais sensível e específico da Leishmaniose Felina (Brianti et al. 2017; Abramo et al. 2021; Nascimento et al., 2022). Todavia, apesar dos avanços laboratoriais, o diagnóstico da Leishmaniose Felina permanece desafiante, sobretudo em casos subclínicos ou com sinais inespecíficos. A integração dos dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais é essencial para a identificação da infecção e orientação terapêutica adequada (Nascimento et al., 2022).

7. TRATAMENTO E PREVENÇÃO

A evidência atualmente disponível sobre o tratamento e gestão da Leishmaniose Felina assenta, maioritariamente, em relatos de casos clínicos individuais, frequentemente desprovidos de seguimento adequado (Pennisi et al., 2015; Lappin et al., 2020).

O tratamento de gatos com Leishmaniose Felina baseia-se em abordagens empíricas e no uso *off-label* de medicamentos comumente prescritos para cães com leishmaniose canina, como o alopurinol e/ou o antimoniato de meglumina, ou ainda a miltefosina, que, resultam geralmente em cura clínica (Baneth et al., 2016; Pennisi et al., 2018; Matralis et al., 2023).

A miltefosina apresenta um risco potencial de anemia hemolítica em gatos, mais concretamente, porque contém propilenoglicol entre os excipientes da formulação oral de miltefosina licenciada para o tratamento da Leishmaniose Canina (Basso et al., 2016). No entanto, o protocolo terapêutico com alopurinol e antimoniato de meglumina (Basso et al., 2016), tem-se mostrado eficaz em vários casos clínicos (Tiozzo Ambrosi et al., 2023; Matralis et al., 2023). A administração prolongada de alopurinol (10–20 mg/kg a cada 12 ou 24 horas) tem-se revelado, na maioria dos casos, clinicamente eficaz, inclusive em gatos coinfectados com o FIV (Pennisi et al., 2015; Pereira et al., 2021; Schäfer et al., 2023). Contudo, a eliminação completa do agente infeccioso raramente é alcançada, sendo comum a recorrência dos sinais clínicos após a suspensão da terapêutica, à semelhança do que se verifica em cães (Pennisi et al., 2015). O antimoniato de meglumina (5–50 mg/kg ou 375 mg/gato a cada 24 horas,

via subcutânea ou intramuscular) (Pennisi et al., 2015), também tem sido utilizado com sucesso em determinadas situações, demonstrando uma resposta clínica favorável (Brianti et al., 2017; Otranto et al., 2017; Pereira et al., 2021).

Por outro lado, reações adversas cutâneas e até renais ao alopurinol têm sido documentadas em gatos (Leal et al., 2018; Pennisi et al., 2018; Brianti et al., 2019). A limitação na utilização de repelentes aprovados para cães em felinos, aliada ao aumento da resistência farmacológica por parte de *Leishmania spp.*, assim como a recuperação espontânea em gatos infetados pode contribuir para a sua persistência como reservatórios do parasita, representando um desafio adicional no controlo da leishmaniose (Ahuir-Baraja et al., 2021).

A quimioprofilaxia pode ser realizada com um colar (com 10% de imidacloprido e 4,5% de flumetrina), eficaz na redução do risco de infeção por *L. infantum* em gatos (Brianti et al., 2017; Pereira et al., 2021). Além disso, manter os gatos no interior durante a noite e utilizar barreiras físicas, como redes em janelas e portas, pode evitar a exposição às picadas de flebotomos. A pulverização com inseticidas residuais (piretrinas ou piretroides) em ambientes humanos e abrigos para animais é uma medida adicional, mas deve ser cautelosamente considerada em ambientes com gatos, devido à toxicidade potencial dos compostos presentes (Pereira et al., 2021). Já os isoxazolinas, nomeadamente o afoxolaner e o fluralaner, têm sido apontados como uma classe farmacológica emergente e promissora no controlo da leishmaniose canina e humana em regiões endémicas (Miglianico et al., 2018; Bongiorno et al., 2020; Queiroga et al., 2020; Pereira et al., 2021). A formulação *spot-on* de fluralaner (112,5–500mg), atualmente licenciada para o controlo de ectoparasitas, como carraças, pulgas e ácaros, em gatos, demonstrou induzir de forma prolongada a mortalidade dos vetores após se alimentarem em cães tratados (Bongiorno et al., 2020; Queiroga et al., 2020), sendo plausível a obtenção de resultados semelhantes em felídeos (Pereira et al., 2021). Os infetados devem ser rigorosamente monitorizados para detetar efeitos adversos durante o tratamento e para possíveis recidivas clínicas após a interrupção da terapêutica (Matralis et al., 2023). Por outro lado, em cães, a prevenção da doença é realizada através da aplicação de agentes repelentes contra os flebotomíneos e, mais recentemente, também pela utilização de vacinas (Pennisi et al., 2015).

A informação disponível sobre a prevenção da Leishmaniose Felina é escassa (Pennisi et al., 2015), contudo, as estratégias de prevenção e controlo que se devem adotar são, a avaliação clínica, o *screening* regular em animais destinados à reprodução ou transfusão sanguíneas e, tratamento para ectoparasitas (Pereira et al., 2021). A sua expectativa de vida em animais infetados é, em geral,

favorável, exceto na presença de complicações concomitantes. O prognóstico não parece ser substancialmente afetado pela abordagem terapêutica ou pela coinfeção por retrovírus (Pennisi et al., 2018; Pereira et al., 2021).

Em virtude disto, há a necessidade de investigação aprofundada sobre os aspetos clínicos e profiláticos da infeção por *Leishmania* em gatos, com o objetivo de desenvolver estratégias eficazes para a sua mitigação ou erradicação nesta espécie (Ahuir-Baraja et al., 2021). Contudo, a erradicação da infeção não é, na generalidade dos casos, possível, sendo, por isso, fortemente recomendada não só a implementação de medidas profiláticas adequadas, mas também o controlo de vetores flebotómicos, com vista à redução da taxa de infeção por espécies do género *Leishmania* em populações felinas residentes em áreas endémicas (Lappin et al., 2020).

Posto isto, a proteção das populações felinas pode ser fundamental para a implementação de uma estratégia "One Health" no controlo regional da infeção (Pennisi et al., 2018).

8. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Leishmaniose Felina é ainda uma doença pouco estudada e por isso alguns aspetos permanecem por esclarecer. Apesar do crescente reconhecimento da infeção em gatos, a sua verdadeira prevalência permanece subestimada, principalmente devido à falta de dados e à ausência de métodos de diagnóstico padronizados.

As diferenças imunológicas entre cães e gatos, associadas à variedade de manifestações clínicas nos felinos, dificultam a definição clara da doença nesta espécie. E, a hipótese de os gatos desempenharem um papel como hospedeiros reservatórios suscita preocupação numa perspetiva da saúde pública, sobretudo em regiões endémicas. Dado este cenário, torna-se fundamental reforçar a vigilância epidemiológica, melhorar os métodos de diagnóstico e desenvolver estratégias terapêuticas e preventivas direcionadas para os gatos. O papel dos médicos veterinários é essencial para reconhecer a suscetibilidade dos felinos, incluir a Leishmaniose Felina nos diagnósticos diferenciais e promover medidas preventivas adequadas. É importante reforçar a necessidade de uma abordagem integrada baseada no conceito "One World, One Health", considerando o possível papel dos gatos na transmissão desta zoonose e fomentar uma colaboração estreita entre medicina veterinária e saúde pública.

9. REFERÊNCIAS

- Abramo, F., Albanese, F., Gattuso, S., Randone, A., Fileccia, I., Dedola, C., Ibba, F., Ottaiano, P. e Brianti, E., 2021. Skin lesions in feline leishmaniosis: A systematic review. *Pathogens*, 10(4), p.472. <https://doi.org/10.3390/pathogens10040472>
- Aguiar, D.C.F., Nascimento, D.N.S., Penner, D.F., Castro, B.S.L., Virgolino, R.R., Neves, A.M.P., Siqueira, A.S. & Gonçalves, E.C., 2023. First molecular detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi in a domestic cat (*Felis catus*) from an urban area in eastern Amazon. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases*, 29, e20220048. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-jvatitd-2022-0048>
- Ahuir-Baraja, A.E., Ruiz, M.P., Garijo, M.M. & Llobat, L., 2021. Feline leishmaniosis: An emerging public health problem. *Veterinary Parasitology*, 281, p.109074. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2021.109074>
- Akhoundi, M., Downing, T., Votýpka, J., Kuhls, K., Lukes, J., Cannet, A., Ravel, C., Marty, P., Delaunay, P., Kasbari, M., Granouillac, B., Gradoni, L. and Sereno, D., 2017. *Leishmania* infections: Molecular targets and diagnosis. *Molecular Aspects of Medicine*, 57, pp.1–29. <https://doi.org/10.1016/j.mam.2016.11.011>
- Akhoundi, M., Kuhls, K., Cannet, A., Votýpka, J., Marty, P., Delaunay, P. & Sereno, D. (2016). A historical overview of the classification, evolution, and dispersion of *Leishmania* parasites and sandflies. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(3), e0004349. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004349>
- Akhtardanesh, B., Kheirandish, R., Sharifi, I., Mohammadi, A., Mostafavi, A., Mahmoodi, T. e Ebrahimi, M., 2018. Low susceptibility of domestic cats to experimental *Leishmania infantum* infection. *Journal of Vector Borne Diseases*, 55(3), pp.202–217. <https://doi.org/10.4103/0972-9062.249481>.
- Akhtardanesh, B., Moeini, E., Sharifi, I., Saberi, M., Sadeghi, B., Ebrahimi, M. and Otranto, D., 2020. *Leishmania* infection in cats positive for immunodeficiency virus and feline leukemia virus in an endemic region of Iran. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 20, p.100387. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100387>
- Alcover, M.M., Basurco, A., Fernandez, A., Riera, C., Fisa, R., Gonzalez, A., Verde, M., Garrido, A.M., Ruíz, H., Yzuel, A. e Villanueva-Saz, S., 2021. A cross-sectional study of *Leishmania infantum* infection in stray cats in the city of Zaragoza (Spain) using serology and PCR. *Parasites & Vectors*, 14(1), p.178. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04682-w>

- Azami-Conesa, I., Gómez-Muñoz, M.T. & Martínez-Díaz, R.A., 2021. A systematic review (1990–2021) of wild animals infected with zoonotic *Leishmania*. *Microorganisms*, 9(5), p.1101. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9051101>
- Baneth, G., Koutinas, A.F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P. and Ferrer, L., 2008. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology*, 24(7), pp. 308-317. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2008.03.003>.
- Baneth, G., Nachum-Biala, Y., Zuberi, A., Zipori-Barki, N., Orshan, L., Kleinerman, G., Shmueli-Goldin, A., Bellaiche, M., Leszkowicz-Mazuz, M., Salant, H. and Yasur-Landau, D., 2020. *Leishmania* infection in cats and dogs housed together in an animal shelter reveals a higher parasite load in infected dogs despite a greater seroprevalence among cats. *Parasites & Vectors*, 13(1), p.474. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3989-3>.
- Baneth, G., Thamsborg, S.M., Otranto, D., Guillot, J., Blaga, R., Deplazes, P. e Solano-Gallego, L., 2016. Major parasitic zoonoses associated with dogs and cats in Europe. *Journal of Comparative Pathology*, 155(1), pp.S54–S74. <https://doi.org/10.1016/j.jcpa.2015.03.001>
- Basso, M.A., Marques, C., Santos, M., Duarte, A., Pissarra, H., Carreira, L.M., Gomes, L., Valério-Bolas, A., Tavares, L., Santos-Gomes, G. and Pereira da Fonseca, I., 2016. Successful treatment of feline leishmaniosis using a combination of allopurinol and N-methyl-glucamine antimoniate. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 2(1), p.2055116916630002. <https://doi.org/10.1177/2055116916630002>
- Batista, J.F., Magalhães Neto, F.C.R., Lopes, K.S.P.P., Sousa, C.M.G., Alcântara, D.S., Baêta, S.A.F., Alves, M.M.M. & Mendonça, I.L., 2023. Clinical, hematological, biochemical, and histopathological evaluations in domestic cats (*Felis catus*) infected by *Leishmania infantum*. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32(3), e004723. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023037>
- Bezerra, J.A.B., Oliveira, I.V.P.M., Yamakawa, A.C., Nilsson, M.G., Tomaz, K.L.R., Oliveira, K.D.S., Rocha, C.S., Calabuig, C.I.P., Fornazari, F., Langoni, H. & Antunes, J.M.A.P., 2019. Serological and molecular investigation of *Leishmania* spp. infection in cats from an area endemic for canine and human leishmaniasis in Northeast Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 28(1), pp.124–130. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612019022>
- Bongiorno, G., Meyer, L., Evans, A., Lekouch, N., Bianchi, R., Khoury, C., Chiummo, R., Thomas, E. and Gradoni, L., 2020. A single oral dose of fluralaner (Bravecto®) in dogs rapidly kills 100% of blood-fed *Phlebotomus perniciosus*, a main visceral leishmaniasis vector, for at least 1 month after treatment. *Medical and Veterinary Entomology*, 34(1), pp.130-136. <https://doi.org/10.1111/mve.12420>

- Brianti, E., Falsone, L., Napoli, E., Gaglio, G., Giannetto, S., Pennisi, M.G., Priolo, V., Latrofa, M.S., Tarallo, V.D., Solari Basano, F., Nazzari, R., Deuster, K., Pollmeier, M., Gulotta, L., Colella, V., Dantas-Torres, F., Capelli, G. and Otranto, D., 2017. Prevention of feline leishmaniosis with an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% polymer matrix collar. *Parasites & Vectors*, 10(1), p.334. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2258-6>
- Carbonara, M., Iatta, R., Miró, G., Montoya, A., Benelli, G., Mendoza-Roldán, J.A., Papadopoulos, E., Lima, C., Bouhsira, E., Nachum-Biala, Y., Decaro, N., Schunack, B., Baneth, G. e Otranto, D., 2024. Feline leishmaniosis in the Mediterranean Basin: a multicenter study. *Parasites & Vectors*, 17(1), p.346. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13071-024-06419-x>
- Clos, J., Grünebast, J. & Holm, M. (2022). Promastigote-to-Amastigote Conversion in *Leishmania* spp.— A Molecular View. *Pathogens*, 11(9), 1052. <https://doi.org/10.3390/pathogens11091052>
- Costa-Val, A.P., Coura, F.M., Barbieri, J.M., Diniz, L., Sampaio, A., Reis, J.K.P., Bueno, B.L. & Gontijo, C.M.F., 2020. Serological study of feline leishmaniasis and molecular detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* in cats (*Felis catus*). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29(4), e013220. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020085>
- Coura, F.M., Passos, S.K.P., Pelegrino, M.O.F., Leme, F.O.P., Paz, G.F., Gontijo, C.M.F. & Costa-Val, A.P., 2018. Serological, molecular, and microscopic detection of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 27(4), pp.478–482. doi:10.1590/S1984-296120180082.
- D’Esquivel, M.O., Veira, V.P.C., Avelar, D.M., Michalsky, É.M., Pereira, N.C.L., Fortes-Dias, C.L. and Dias, E.S., 2024. Presence of *Leishmania* sp. amastigotes in the reproductive tract of dogs with visceral leishmaniasis. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 57, e0081-2024. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0081-2024>
- Dantas-Torres, F., Paiva-Cavalcanti, M., Figueredo, L.A., Melo, M.F., da Silva, F.J., da Silva, A.L., Almeida, E.L. & Brandão-Filho, S.P., 2010. Cutaneous and visceral leishmaniasis in dogs from a rural community in northeastern Brazil. *Veterinary Parasitology*, 170(3–4), pp.313–317. <https://www.arca.fiocruz.br/handle/icict/28421>
- Day, M.J., 2016. Cats are not small dogs: is there an immunological explanation for why cats are less affected by arthropod-borne disease than dogs? *Parasites & Vectors*, 9(1), p.20. <https://doi.org/10.1186/s13071-016-1334-3>
- de Mendonça, I.L., Batista, J.F., Ribeiro, I.M.M., Rocha, F.S.B., Silva, S.O. & Melo, M.N. (2017). *Leishmania infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. *Parasitology Open*, 3, e1. <https://doi.org/10.1017/pao.2017.1>

- Deplazes, P., Eckert, J., Mathis, A., Von Samson-Himmelstjerna, G. e Zahner, H., 2016. Parasitology in Veterinary Medicine. Wageningen: Wageningen Academic Publishers.
- Durão, J.F.C., Rebelo, E., Peleteiro, M.C., Correia, J.J. e Simões, G., 1994. Primeiro caso de leishmaniose em gato doméstico (*Felis catus domesticus*) detectado em Portugal (Concelho de Sesimbra). *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 89, pp.140–144.
- Elmahallawy, E.K., Zanet, S., Trisciuglio, A., Ferroglio, E., Poggi, M., Alsharif, K.F. & Agil, A., 2021. Feline leishmaniosis in northwestern Italy: current status and zoonotic implications. *Veterinary Sciences*, 8(10), p.215. <https://doi.org/10.3390/vetsci8100215>
- Esch, K.J. e Petersen, C.A., 2013. Transmission and epidemiology of zoonotic protozoal diseases of companion animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 26(1), pp.58–85. <https://doi.org/10.1128/CMR.00067-12>.
- Esch, K.J., Juelsgaard, R., Martinez, P.A., Jones, D.E. e Petersen, C.A., 2013. Programmed death 1–mediated T cell exhaustion during visceral leishmaniasis impairs phagocyte function. *Journal of Immunology*, 191(11), pp.5542–5550. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1301810>.
- Espinosa, O.A., Serrano, M.G., Camargo, E.P., Teixeira, M.M.G. & Shaw, J.J. (2016). An appraisal of the taxonomy and nomenclature of trypanosomatids presently classified as *Leishmania* and *Endotrypanum*. *Parasitology*, 145(4), pp.430–442. <https://doi.org/10.1017/S0031182016002092>
- Fernandez-Gallego, A., Feo Bernabe, L., Dalmau, A., Esteban-Saltiveri, D., Font, A., Leiva, M., Ortúñez-Navarro, A., Peña, M.T., Tabar, M.D., Real-Sampietro, L., Saló, F., Lloret, A. & Bardagí, M., 2020. Feline leishmaniosis: diagnosis, treatment and outcome in 16 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(11), pp.993–1007. <https://doi.org/10.1177/1098612X20902865>
- García-Castro, A., Egui, A., Thomas, M.C. e López, M.C., 2022. Humoral and cellular immune response in asymptomatic dogs with visceral leishmaniasis: A review. *Vaccines*, 10(6), p.947. <https://doi.org/10.3390/vaccines10060947>.
- Gebremeskele, B.T., Adane, G., Adem, M. and Tajebe, F., 2023. Diagnostic performance of CL Detect rapid-immunochromatographic test for cutaneous leishmaniasis: a systematic review and meta-analysis. *Systematic Reviews*, 12(1), p.237. <https://doi.org/10.1186/s13643-023-02422-y>.
- Gharbi, M., Mhadhbi, M., Rejeb, A., Jaouadi, K., Rouatbi, M. & Darghouth, M.A., 2015. Leishmaniosis (*Leishmania infantum* infection) in dogs. *Revue Scientifique et Technique (International Office of Epizootics)*, 34(2), pp.549–561. <https://doi.org/10.20506/rst.34.2.2374>

- Hong, A., Zampieri, R.A., Shaw, J.J., Floeter-Winter, L.M. & Laranjeira-Silva, M.F., 2020. One Health Approach to Leishmaniasis: Understanding the Disease Dynamics through Diagnostic Tools. *Pathogens*, 9(10), p.809. <https://doi.org/10.3390/pathogens9100809>
- Iatta, R., Furlanello, T., Latrofa, S., Brianti, E., Lorusso, E., Colella, V., Tarallo, V.D., Trerotoli, P., Schunack, B., Decaro, N., Miró, G., Dantas-Torres, F. e Otranto, D., 2019. A nationwide survey of *Leishmania infantum* infection in cats and associated risk factors in Italy. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(7), p.e0007594. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007594>.
- Jones, C.M. and Welburn, S.C., 2021. Leishmaniasis beyond East Africa: A zoonotic pathogen emerges in a new world. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p.618766. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.618766>
- Kmetiuk, L.B., Tirado, T.C., Biondo, L.M., Biondo, A.W. & Figueiredo, F.B., 2022. *Leishmania* spp. in indigenous populations: A mini-review. *Frontiers in Public Health*, 10, 1033803. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2022.1033803>
- Lappin, M.R., Tasker, S. & Roura, X., 2020. Role of vector-borne pathogens in the development of fever in cats: 2. Tick- and sandfly-associated diseases. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 22(11), pp.891-901. <https://doi.org/10.1177/1098612X20940293>
- Leal, R.O., Pereira, H., Cartaxeiro, C., Delgado, E., Peleteiro, M.C. e Pereira da Fonseca, I., 2018. Granulomatous rhinitis secondary to feline leishmaniosis: report of an unusual presentation and therapeutic complications. *Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports*, 4(2), p.2055116918811374. <https://doi.org/10.1177/2055116918811374>
- Madruga, G., Ribeiro, A.P., Ruiz, T., Sousa, V.R.F., Campos, C.G., Almeida, A.B.P.F., Pescador, C.A. e Dutra, V., 2018. Ocular manifestations of leishmaniasis in a cat: first case report from Brazil. *Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 70(5), pp.1451–1455. <https://doi.org/10.1590/1678-4162-10717>
- Maia, C. e Campino, L., 2018. Biomarkers associated with *Leishmania infantum* exposure, infection, and disease in dogs. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 8, p.302. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2018.00302>.
- Maia, C., Pimenta, P. and Cardoso, L., 2015. Feline leishmaniosis in Portugal – some remarks on disease and infection. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(6), pp.493–498. <https://doi.org/10.1177/1098612X15574506>.
- Maia, C., Sousa, C., Ramos, C., Cristóvão, J.M., Faísca, P. and Campino, L., 2015. First case of feline leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* genotype E in a cat with a concurrent nasal

- squamous cell carcinoma. *JFMS Open Reports*, 1(1), p.2055116915583961. <https://doi.org/10.1177/2055116915583961>
- Majoor, A., Michel, G., Marty, P., Boyer, L. & Pomares, C. (2023). Leishmaniasis: Strategies in treatment development. *Parasitology*, 150(3), pp. 189–204. <https://doi.org/10.1017/S0031182022001816>
- Mann, S., Frasca, K., Scherrer, S., Henao-Martínez, A.F., Newman, S., Ramanan, P. & Suarez, J.A., 2021. A review of leishmaniasis: Current knowledge and future directions. *Current Tropical Medicine Reports*, 2(2), pp.121–132. <https://doi.org/10.1007/s40475-021-00232-7>.
- Marcondes, M., Hirata, K.Y., Vides, J.P., Sobrinho, L.S.V., Azevedo, J.S., Vieira, T.S.W.J. e Vieira, R.F.C., 2018. Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. *Parasites & Vectors*, 11(1), p.131. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2716-9>.
- Matralis, D., Papadogiannaki, I., Gkerdidani, E., Patsoula, E., Tegos, N. & Papadogiannakis, E., 2023. A Case of Feline Leishmaniosis with Panniculitis. *Case Reports in Veterinary Medicine*, 2023, pp.1–4. <https://doi.org/10.1155/2023/8864790>
- Metzdorf, I.P., Lima Júnior, M.S.d.C., Matos, M.d.F.C., Souza Filho, A.F.d., Tsujisaki, R.A.d.S., Franco, K.G., Shapiro, J.T. & Borges, F.d.A., 2017. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. *Acta Tropica*, 174, pp. 70-76. doi:10.1016/j.actatropica.2017.06.015.
- Miglianico, M., Eldering, M., Slater, H., Ferguson, N., Ambrose, P.S., Lees, R.S., Koolen, K.M.J., Pruzinova, K., Jancarova, M., Volf, P., Koenraad, C.J.M., Duerr, H.-P., Trevitt, G., Yang, B., Chatterjee, A.K., Wisler, J., Sturma, A., Bousema, T., Sauerwein, R.W., Schult, P.G., Tremblay, M.S. and Dechering, K.J., 2018. Repurposing isoxazoline veterinary drugs for control of vector-borne human diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 115(40), pp.10123-10130. <https://doi.org/10.1073/pnas.1806309115>
- Montoya, A., García, M., Gálvez, R., Checa, R., Marino, V., Sarquis, J., Barrera, J.P., Rupérez, C., Caballero, L., Chicharro, C., Cruz, I. e Miró, G., 2018. Implications of zoonotic and vector-borne parasites to free-roaming cats in central Spain. *Veterinary Parasitology*, 251, pp.125–130. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.009>.
- Nascimento, L.F.J., Cirilo, T.M., Gomes, D.S., Gomes, A.C.A., Lima, V.F.S., Scher, R., Jain, S., Fujiwara, R.T. e Dolabella, S.S., 2022. Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. *Parasitology Research*, 121(1), pp.21–34. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>.

- Nzelu, C.O., Kato, H. & Peters, N.C., 2019. Loop-mediated isothermal amplification (LAMP): An advanced molecular point-of-care technique for the detection of Leishmania infection. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, 13(12), e0007698. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007698>
- Otranto, D., Dantas-Torres, F., Napoli, E., Solari Basano, F., Deuster, K., Pollmeier, M., Capelli, G. and Brianti, E., 2017. Season-long control of flea and tick infestations in a population of cats in the Aeolian archipelago using a collar containing 10% imidacloprid and 4.5% flumethrin. *Veterinary Parasitology*, 245, pp.52–58. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.08.005>
- Otranto, D., Napoli, E., Latrofa, M.S., Annoscia, G., Tarallo, V.D., Greco, G., Lorusso, E., Gulotta, L., Falsone, L., Solari Basano, F., Pennisi, M.G., Deuster, K., Capelli, G., Dantas-Torres, F. e Brianti, E., 2017. Feline and canine leishmaniosis and other vector-borne diseases in the Aeolian Islands: Pathogen and vector circulation in a confined environment. *Veterinary Parasitology*, 236, pp.144–151. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.019>.
- Otranto, D., Wall, R.L., Cantacessi, C., Colella, V., Charlier, J., Bartley, D.J., Bosco, A., Furlanello, T., Macrelli, M., Maurelli, M.P., Morelli, S. e Sainz, A. (2024). *Veterinary Parasitology*. 5.^a ed. Hoboken, NJ: Wiley-Blackwell.
- Pennisi, M.G., Cardoso, L., Baneth, G., Bourdeau, P., Koutinas, A., Miró, G., Oliva, G. and Solano-Gallego, L., 2015. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasites & Vectors*, 8, p.302. <https://doi.org/10.1186/s13071-015-0909-z>
- Pennisi, M.G., Hartmann, K., Lloret, A., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Hosie, M.J., Lutz, H., Marsilio, F., Möstl, K., Radford, A.D., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M.C., 2013. Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15(7), pp.638–642. <https://doi.org/10.1177/1098612X13489229>
- Pennisi, M.G., Persichetti, M.F., Serrano, L., Altet, L., Reale, S., Gulotta, L. and Solano-Gallego, L., 2018. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? *Veterinary Parasitology*, 251, pp.131–137. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.005>
- Pereira, A. & Maia, C., 2021. Leishmania infection in cats and feline leishmaniosis: An updated review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines. *Current Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases*, 1(1), p. 100001. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2021.100001>.
- Pereira, M.E., Neves, M.C.B., Almeida, A.B.P.F. and Sousa, V.R.F., 2024. Comparison of SensPERT® Leishmania rapid test with two other immunochromatographic tests for the diagnosis of

- canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Veterinary World*, 17(6), pp.1307–1310. <https://doi.org/10.14202/vetworld.2024.1307-1310>.
- Persichetti, M.F., Pennisi, M.G., Vullo, A., Masucci, M., Migliazzo, A. & Solano-Gallego, L. (2018). Clinical evaluation of outdoor cats exposed to ectoparasites and associated risk for vector-borne infections in southern Italy. *Parasites & Vectors*, 11, 136. <https://doi.org/10.1186/s13071-018-2725-8>
- Persichetti, M.F., Solano-Gallego, L., Vullo, A., Masucci, M., Marty, P., Delaunay, P., Vitale, F. and Pennisi, M.G., 2017. Diagnostic performance of ELISA, IFAT and Western blot for the detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in cats using a Bayesian analysis without a gold standard. *Parasites & Vectors*, 10(1), p.118. <https://doi.org/10.1186/s13071-017-2046-3>
- Pothirat, T., Tantiworawit, A., Chaiwarith, R., Jariyapan, N., Wannasan, A., Siriyasatien, P., Supparatpinyo, K., Bates, M.D., Kwakye-Nuako, G. & Bates, P.A. (2014). First isolation of *Leishmania* from Northern Thailand: case report, identification as *Leishmania martiniquensis* and phylogenetic position within the *Leishmania enriettii* complex. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 8(12), e3339. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0003339>
- Priolo, V., Martínez-Orellana, P., Pennisi, M.G., Masucci, M., Prandi, D., Ippolito, D., Bruno, F., Castelli, G. & Solano-Gallego, L., 2019. *Leishmania infantum*-specific IFN- γ production in stimulated blood from cats living in areas where canine leishmaniasis is endemic. *Parasites & Vectors*, 12(1), p.412. <https://doi.org/10.1186/s13071-019-3642-4>
- Priolo, V., Masucci, M., Donato, G., Solano-Gallego, L., Martínez-Orellana, P., Persichetti, M.F., Raya-Bermúdez, A., Vitale, F. and Pennisi, M.G., 2022. Association between feline immunodeficiency virus and *Leishmania infantum* infections in cats: a retrospective matched case-control study. *Parasites & Vectors*, 15(1), p.148. <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05230-w>
- Queiroga, T.B.D., Ferreira, H.R.P., dos Santos, W.V., de Assis, A.B.L., de Araújo Neto, V.T., da Câmara, A.C.J., Fagundes Neto, J.C., dos Reis, R.K., Nascimento, M.S.L., Gama, R.A. and Guedes, P.M.M., 2020. Fluralaner (Bravecto®) induces long-term mortality of *Lutzomyia longipalpis* after a blood meal in treated dogs. *Parasites & Vectors*, 13, Article 599. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04468-1>
- Rivas, A.K., Alcover, M., Martínez-Orellana, P., Montserrat-Sangrà, S., Nachum-Biala, Y., Bardagí, M., Fisa, R., Riera, C., Baneth, G. & Solano-Gallego, L., 2018. Clinical and diagnostic aspects of feline cutaneous leishmaniasis in Venezuela. *Parasites & Vectors*, 11(1), p. 338. <https://link.springer.com/article/10.1186/s13071-018-2747-2>

- Rocha, A.V.V.O., Moreno, B.F.S., Cabral, A.D., Louzeiro, N.M., Miranda, L.M., Santos, V.M.B.D., Costa, F.B., Nogueira, R.M.S., Marcili, A., Sperança, M.A. e Costa, A.P., 2019. Diagnosis and epidemiology of *Leishmania infantum* in domestic cats in an endemic area of the Amazon region, Brazil. *Veterinary Parasitology*, 273, pp.80–85. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.007>
- Sadlova, J., Myskova, J., Lestinova, T., Votycka, J., Yeo, M. & Volf, P., 2017. *Leishmania donovani* development in *Phlebotomus argentipes*: comparison of promastigote- and amastigote-initiated infections. *Parasitology*, 144(4), pp.497–504. <https://doi.org/10.1017/S0031182016002320>
- Santos dos Santos, N., de Pinho, F.A., Hlavac, N.R.C., Nunes, T.L., Almeida, N.R., Solcà, M.S., Varjão, B.M., Portela, R.W., Rugani, J.N., Rêgo, F.D., Barrouin-Melo, S.M. e Soares, R.P., 2021. Feline leishmaniasis caused by *Leishmania infantum*: parasite sequencing, seropositivity, and clinical characterization in an endemic area from Brazil. *Frontiers in Veterinary Science*, 8, p.734916. <https://doi.org/10.3389/fvets.2021.734916>
- Schäfer, I., Schmidt, A., Gräßer, F., Schieszler, A., Aupperle-Lellbach, H., Loesenbeck, G., Gentil, M., Müller, E. and Naucke, T.J., 2023. Feline leishmaniosis with focus on ocular manifestation: a case report. *Parasites & Vectors*, 16(1), p.217. <https://doi.org/10.1186/s13071-023-05826-2>
- Silva, D.T., Alves, M.L., Spada, J.C.P., Leonel, J.A.F., Vioti, G., Benassi, J.C., Carregaro, V.M.L., Alves-Martin, M.F., Starke-Buzetti, W.A. e Oliveira, T.M.F.S., 2023. Feline leishmaniosis: hematological and biochemical analysis. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 32(2), p.e003223. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612023032>
- Silva, R.B.S., Portela, R.A., Arruda, L.F.B., Ferreira, J.S., Souto, E.P.F., Araújo, A.L., Madeira, M.F., Dantas, A.F.M. & Melo, M.A., 2020. Natural infection by *Leishmania infantum* in domestic cats (*Felis catus*) in a municipality of moderate transmission in the Brazilian semi-arid region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 29(4), pp.1–10. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020102>.
- Soares, C.S.A., Duarte, S.C. & Sousa, S.R., 2015. What do we know about feline leishmaniosis? *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 18(6), pp.435-442. <https://doi.org/10.1177/1098612X15589358>
- Solano-Gallego, L., Montserrat-Sangrà, S., Ordeix, L. and Martínez-Orellana, P., 2016. *Leishmania infantum*-specific production of IFN- γ and IL-10 in stimulated blood from dogs with clinical leishmaniosis. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141(1-2), pp.65-70. <https://doi.org/10.1016/j.vetimm.2011.03.008>.

- Sousa, K.C.M., Herrera, H.M., Domingos, I.H., Campos, J.B.V., Santos, I.M.C.d., Neves, H.H., Machado, R.Z. e André, M.R., 2014. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 23(4), pp.449–455. <https://doi.org/10.1590/S1984-29612014078>.
- Spada, E., Canzia, I., Baggiani, L., Perego, R., Vitale, F., Migliazzo, A. and Proverbio, D., 2016. Prevalence of *Leishmania infantum* and co-infections in stray cats in northern Italy. *Parasites & Vectors*, 13(1), p.348. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-04192-3>.
- Steverding, D., 2017. The history of leishmaniasis. *Parasitology International*, 66(6), pp. 701–711. <https://doi.org/10.1016/j.parint.2017.09.002>.
- Sunter, J. and Gull, K. (2017) Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. *Open Biology*, 7(9), 170165. <https://doi.org/10.1098/rsob.170165>
- Tiozzo Ambrosi, A., Masserdotti, C., Becattini, L., Ottaiano, P., Ferrari, F. and Tamborini, A., 2023. Long-term follow-up of a case of feline leishmaniosis treated with a combination of allopurinol and meglumine antimoniate. *Canadian Veterinary Journal*, 64(3), pp.173-177. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36874537/>
- Tirado, T.C., Bavia, L., Ambrosio, A.R., Campos, M.P., de Almeida Santiago, M., Messias-Reason, I.J. e Figueiredo, F.B., 2021. A comparative approach on the activation of the three complement system pathways in different hosts of Visceral Leishmaniasis after stimulation with *Leishmania infantum*. *Developmental & Comparative Immunology*, 120, p.104061. <https://doi.org/10.1016/j.dci.2021.104061>.
- Tomiotto-Pellissier, F., Bortoleti, B.T.S., Assolini, J.P., Gonçalves, M.D., Carloto, A.C.M., Miranda-Sapla, M.M., Conchon-Costa, I., Bordignon, J. and Pavanelli, W.R., 2018. Macrophage polarization in leishmaniasis: Broadening horizons. *Frontiers in Immunology*, 12, p.633828. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.633828>.
- Trevisan, D.A.C., Demarchi, I.G. and Lonardoni, M.V.C., 2015. Diagnostic methods to cutaneous leishmaniasis detection in domestic dogs and cats. *Anais Brasileiros de Dermatologia*, [online] 90(6), pp.867–872. <https://www.scielo.br/j/abd/a/9J8gZKrW699SnXSKPcLGjnz/>
- Trüeb, I., Portela, R.D., Franke, C.R., Carneiro, I.O., Ribeiro Jr., G.J., Soares, R.P. & Barrouin-Melo, S.M. (2018) *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* sp. infection in wildlife from urban rainforest fragments in northeast Brazil. *Journal of Wildlife Diseases*, 54(1), pp.76–86. <https://doi.org/10.7589/2016-12-281>

- Vellozo, N.S., Rigoni, T.S. and Lopes, M.F., 2021. New therapeutic tools to shape monocyte functional phenotypes in leishmaniasis. *Frontiers in Immunology*, 12, p.704429. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.704429>
- Vilas-Boas, D.F., Nakasone Nakasone, E.K., Gonçalves, A.A.M., Lair, D.F., Oliveira, D.S., Pereira, D.F.S., Silva, G.G., Conrado, I.S.S., Resende, L.A., Zaldívar, M.F., Mariano, R.M.S., Dutra, W.O., Chávez-Fumagalli, M.A., Galdino, A.S., Silveira-Lemos, D. and Giunchetti, R.C., 2024. Global distribution of canine visceral leishmaniasis and the role of the dog in the epidemiology of the disease. *Pathogens*, 13(6), p.455. <https://doi.org/10.3390/pathogens13060455>
- Volpedo, G., Pacheco-Fernandez, T., Holcomb, E.A., Cipriano, N., Cox, B. e Satoskar, A.R., 2021. Mechanisms of immunopathogenesis in cutaneous leishmaniasis and post kala-azar dermal leishmaniasis (PKDL). *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11, p.685296. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.685296>.
- World Health Organization (WHO), 2016. Leishmaniasis in high-burden countries: an epidemiological update based on data reported in 2014. *Weekly Epidemiological Record*, 91(22), pp.285–296. <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9122>
- World Health Organization (WHO), 2020. 'Global leishmaniasis surveillance, 2017–2018, and first report on 5 additional indicators', *Weekly Epidemiological Record*, 25, pp. 265–280. <https://www.who.int/publications/i/item/who-wer9525>

