



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Leishmania infantum* SUBMETIDOS A TERAPIA COM
MARBOFLOXACINA ASSOCIADA AO ALOPURINOL**

JANILENE DE OLIVEIRA NASCIMENTO

Recife – PE

2019



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIA ANIMAL**

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Leishmania infantum* SUBMETIDOS A TERAPIA COM
MARBOFLOXACINA ASSOCIADA AO ALOPURINOL**

JANILENE DE OLIVEIRA NASCIMENTO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós –
graduação em Biociência Animal da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como pré-requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Biociência Animal.

Orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

Coorientadora: Prof Dra Edna Michelly de Sá
Santos

Recife - PE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

- O48a Nascimento, Janilene de Oliveira.
Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacin associada ao alopurinol / Janilene de Oliveira Nascimento. – Recife, 2019.
69 f.: il.
- Orientador(a): Leucio Câmara Alves.
Coorientador(a): Edna Michelly de Sá Santos.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal, Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).
1. Hematologia 2. Leishmaniose - Tratamento 3. Semiologia (Medicina) I. Alves, Leucio Câmara, orient. II. Santos, Edna Michelly de Sá, coorient. III. Título

CDD 500

JANILENE DE OLIVEIRA NASCIMENTO

**AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Leishmania infantum* SUBMETIDOS A TERAPIA COM
MARBOFLOXACINA ASSOCIADA AO ALOPURINOL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós –
graduação em Biociência Animal da
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
como pré-requisito parcial para obtenção do
grau de Mestre em Biociência Animal.

Aprovada em 08 de março de 2019

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves (Orientador)
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof^a Dra. Edna Michelly de Sá Santos
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

Prof. Dr. Victor Fernando Santana Lima
Departamento de Medicina Veterinária – UFS

Dr. Marco Antonio Granja Barbosa
Medico Veterinário autônomo

“Imagine uma nova história para sua vida e acredite nela”.

Paulo Coelho

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela força e saúde para superar todos os obstáculos trilhados até aqui. Obrigado por me proporcionar tantas alegrias.

As duas Marias da minha vida, minhas mães, pelo apoio e por terem acreditado nos meus ideais e na minha capacidade para conseguir vencer os obstáculos.

Aos meus irmãos, que estiveram sempre comigo me apoiando nas decisões difíceis, mesmo distantes fisicamente.

À Roseane Feitosa, pela força, paciência e companheirismo. Obrigada por acreditar na minha capacidade, amo-te.

Aos meus familiares, que mesmo na distância, sempre me desejaram sucesso e acreditaram na minha capacidade.

Ao professor Dr Leucio Câmara Alves, meu orientador. Obrigado pelos ensinamentos diários, conversas serenas, algumas vezes mais sérias, mas que foram essenciais para o meu crescimento profissional. Obrigado por acreditar em mim!

A professora Dra. Edna Michelly de Sá Santos pelo apoio primordial nos momentos mais difíceis.

A professora Dra. Maria Aparecida da Glória Faustino, agradeço pelos ensinamentos diários tanto profissional como pessoal.

Aos colegas do Laboratório de Doenças Parasitárias, pelos momentos compartilhados, pelas risadas e ensinamentos ao longo da trajetória.

Às residentes de Doenças Parasitárias pela paciência e ajuda no desenvolvimento do projeto.

Aos funcionários e professores do Departamento de Medicina Veterinária da UFRPE, que me ajudaram de forma direta e indireta.

Aos meus pacientes, que me ajudaram e incentivaram para que eu continuasse a fazer o que realmente gostava.

A CEVA, representado por Leonardo Brandão e Claudio Rossi por acreditar no nosso estudo com a marboflaxacina.

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco pelo financiamento da bolsa acadêmica.

Obrigado!

RESUMO

No Novo Mundo, *Leishmania infantum* é o agente da Leishmaniose Visceral Canina (LVC), ao qual é transmitida pela picada de flebotomíneos infectados. O cão é considerado o principal reservatório em áreas urbanas do Brasil e o tratamento dessa enfermidade ainda representa um desafio. O objetivo deste estudo foi avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *L. infantum* submetidos à terapia com marbofloxacina associada ao alopurinol. Para avaliar a eficácia da marbofloxacina, 12 cães domiciliados de ambos os sexos, raças variadas e idade entre 1-7 anos foram utilizados. Os animais foram divididos em dois grupos de tratamento: Grupo 1 (G1) foi tratado com marbofloxacina oral (Marbopet® Laboratory CEVA, Brasil) a 2 mg / Kg / dia por 28 dias em combinação com alopurinol a 10 mg / kg a cada 12 horas e o Grupo 2 (G2) tratado com marbofloxacina e alopurinol na mesma dosagem, mas o alopurinol foi administrado aos cães a partir de G2 após 28 dias da administração de marbofloxacina. Ao longo do tratamento, os cães foram avaliados durante 90 dias, realizando exames físicos mensais e avaliando hemograma, hemograma, fosfatase alcalina, alanina aminotransferase, ureia, creatinina, proteína sérica, albumina e globulina. Cada parâmetro clínico foi classificado de acordo com sua gravidade em uma escala numérica de 0 a 3. No grupo G1, a redução nos escores foi de 76,4%, enquanto o grupo G2 apresentou uma redução de 54,8%. As médias de albumina foram maiores aos 90 dias no grupo G1. Nenhum cão de ambos os grupos apresentou aumento de uréia e creatinina. Após o seguimento de até 90 dias, pode-se concluir que o tratamento com marbofloxacina e alopurinol em combinação ao mesmo tempo proporcionou uma maior remissão dos sinais clínicos, melhora nos perfis hematológicos e bioquímicos e aumento do valor da albumina.

Palavras-chave: Hematologia; Leishmaniose; Sinais clínicos; tratamento.

ABSTRACT

In the New World, *Leishmania infantum* is the agent of visceral leishmaniasis and CanL, which are spread by the bite of infected sand flies. The dog is considered the main reservoir in urban areas of Brazil and the treatment of CanL still represents a challenge. The objective of this study was to evaluate the clinical and laboratory aspects of dogs naturally infected with *L. infantum* submitted to therapy with marbofloxacin associated with allopurinol. To evaluate the efficacy of marbofloxacin 12 domiciled dogs of both genders, varied race and age between 1-7 years were used. The animals were divided into two treatment groups: Group 1 (G1) were treated with oral marbofloxacin (Marbopet® Laboratory CEVA, Brazil) at 2 mg/Kg/day for 28 days in combination with oral allopurinol at 10 mg/kg every 12 hours and Group 2 (G2) treated with marbofloxacin and allopurinol in the same dosage, but the allopurinol was give to dogs from G2 after 28 days of administration of marbofloxacin. After the treatment dogs were assessed during 90 days by performing monthly physical exams, and evaluating red blood count, white blood count, alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, urea, creatinine, serum protein, albumin and globulin parameters. Each clinical parameter was classified according to its severity on a numerical scale of 0 to 3. In group G1, the reduction in scores was 76.4%, while the G2 group presented a reduction of 54.8%. The averages of albumin were higher at 90 days in the G1 group. No dogs from both of groups presented increase of urea and creatinine. After the following up of 90 days it can be concluded the marbofloxacin and allopurinol treatment in combination at the same time provided a greater remission of clinical signs, improvement in hematological and biochemical profiles and increase of albumin value..

Keywords: Hematology; Leishmaniasis; Clinical signs; treatment.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

- Figura 1 - Ciclo biológico da *Leishmania infantum*.....17
Figura 2 - Resposta imune celular na infecção por *Leishmania infantum*.....19

CAPITULO 1

- Gráfico 1 – Média da redução porcentual entre cada escore clínico em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol de acordo com o grupo estudado.....52

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1

- Tabela 1 - Percentagens de sinais/alterações clínicas em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.....50
- Tabela 2 – Avaliação dos escores clínicos em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.....51
- Tabela 3 – Avaliação dos índices hematimétricos em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.....55
- Tabela 4 – Avaliação da bioquímica sérica em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.....57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT - Alanina aminotransferase
CHCM - Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
DPP[®] - *Dual Path Platform*
EDTA - Ácido etilenodiamino tetraacético
ELISA - Ensaio de Imunoabsorção Enzimática
FC - Fixação de Complemento
FA - Fosfatase alcalina
INF- γ - Interferon-gama
IL-12 - Interleucina 12
IL-2 - Interleucina 2
IRIS - International Renal Interest Society
Kg – Quilograma
LT – Leishmaniose Tegumentar
LV - Leishmaniose Visceral
LVC - Leishmaniose Visceral Canina
MAPA - Ministério de Agricultura Pecuária e Abastecimento
Mg - Miligramas
OMS - Organização Mundial da Saúde
PCR - Reação em Cadeia da Polimerase
qPCR - Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real
RIFI -Reação de Imunofluorescência Indireta
VG - Volume globular
Th1 – Célula T auxiliar do tipo I
TNF- α - Fator de Necrose Tumoral
UFRPE - Universidade Federal Rural de Pernambuco
VCM - Volume Corpuscular Médio

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	14
2. REVISÃO DE LITERATURA	16
2.1 Leishmaniose Visceral.....	16
2.2 Agente etiológico, vetor e transmissão.....	16
2.3 Hospedeiros susceptíveis e reservatório.....	18
2.4 Leishmaniose Visceral canina	18
2.4.1 Imunopatogenia.....	19
2.4.2 Manifestações clínicas.....	20
2.4.3 Alterações hematológicas e bioquímicas	21
2.4.4 Diagnóstico.....	23
2.4.4.1 Diagnóstico parasitológico.....	23
2.4.4.2 Diagnóstico sorológico.....	23
2.4.4.3 Diagnóstico molecular.....	24
2.4.5 Tratamento.....	24
2.4.5.1 Antimoniais pentavalentes.....	25
2.4.5.2 Alopurinol.....	25
2.4.5.3 Domperidona.....	26
2.4.5.4 Miltefosina.....	26
2.4.5.5 Anfotericina B.....	27
2.4.5.6 Marbofloxacina.....	28
2.4.5.7 Outros fármacos.....	29
2.4.6 Terapia de suporte.....	30
3 OBJETIVOS.....	31
REFERÊNCIAS.....	32

CAPÍTULO I

RESUMO.....	44
1. INTRODUÇÃO.....	45
2. MATERIAIS E METODOS.....	46
2.1 Aspectos éticos.....	46
2.2 Animais.....	46

2.3 Protocolo de tratamento.....	46
2.4 Acompanhamento dos animais.....	47
2.5 Avaliação clínica.....	47
2.6 Análises hematimétricas e bioquímicas.....	47
2.7 Análise Estatística.....	48
3. RESULTADOS.....	49
3.1 Avaliação da eficácia do tratamento.....	49
3.1.1 Avaliação clínica antes do tratamento (D0)	49
3.1.2 Avaliação clínica após o tratamento.....	49
3.1.3 Análise hematimétrica antes do tratamento (D0)	52
3.1.4 Análise Hematimétrica após o tratamento.....	53
3.1.5 Análise bioquímica antes do tratamento (D0)	56
3.1.6 Análise bioquímica após o tratamento.....	56
4. DISCUSSÃO.....	58
5. CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS.....	62
ANEXOS I.....	66
ANEXOS II.....	67
ANEXOS III.....	68
APÊNDICES.....	69

1 INTRODUÇÃO

As leishmanioses são doenças parasitárias de caráter antroponóóticas causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e transmitidas por insetos da subfamília Phlebotominae durante o repasto sanguíneo (WERNECK, 2014; GUIMARÃES-E-SILVA et al., 2017).

São consideradas doenças negligenciadas e reemergentes distribuídas em 88 países, com mais de 350 milhões de pessoas em risco de infecção, com registro aproximado de dois milhões de novos casos das diferentes formas clínicas ao ano (WHO, 2016; MARCOVAL et al., 2017).

No Brasil, a Leishmaniose Visceral (LV) é causada pela *Leishmania infantum*, sendo os vetores mais comuns, o *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* (LOPES et al., 2017) e os cães domésticos representando os principais reservatórios em áreas urbanas, provavelmente devido à estreita relação com o homem, embora há registro de várias espécies de mamíferos envolvidos na cadeia epidemiológica, que podem funcionar como reservatórios secundários da LV (BAUM et al., 2015; GUIMARAES et al., 2017; CALDART et al., 2017; MIRÓ e VÉLEZ, 2018).

A infecção canina também chamada de Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é considerada como doença imunomediada (BANETH, 2006; MAIA e CAMPINO, 2008), e a progressão da infecção nos cães apresenta acentuada resposta humoral com altos títulos de imunoglobulinas e depressão da resposta imunológica celular (MAIA e CAMPINO, 2008; CARRILLO e MORENO, 2009), determinando o surgimento de animais assintomáticos ou sintomáticos (MOLINA et al., 1994).

Sendo assim, na LVC os animais podem apresentar dermatopatias, linfadenomegalia, perda de peso, intolerância ao exercício, letargia, poliúria, polidipsia, epistaxe, onicogribose, debilidade, vômito e diarreia (MIRÓ et al., 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2017). A ativação exacerbada do sistema imune durante a infecção tem sido responsabilizada por diversas síndromes associadas a infecção como doença articular, renal, ocular entre outras (SOLANO-GALEGO et al., 2009).

Além disso, nessa enfermidade é possível detectar algumas alterações laboratoriais nos pacientes infectados que incluem azotemia, proteinúria, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, trombocitopenia, anemia e aumento dos valores das enzimas hepáticas (SOLANO-GALEGO et al., 2009).

Até recentemente, independentemente da fase clínica dos cães infectados, o tratamento de animais com *L. infantum* tem sido instituído para remissão dos sinais clínicos e redução da capacidade infectante (CIARLINI et al., 2010; TRIGO et al., 2010), baseado na utilização de antimoniato de meglumina, anfotericina B, alopurinol e imunomoduladores (SOLANO-GALEGO et al., 2009).

Em 2016, o Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento autorizou o uso de Mitelfosina, agente antiprotozoário com ação leishmanicida, para o tratamento da LV em cães no Brasil (MAPA, 2016), porém o tratamento com esse fármaco requer a associação de alopurinol para melhor resposta terapêutica, uma vez que seu uso apenas diminui carga parasitária e sinais clínicos (MANNA et al., 2015; REGUERA et al., 2016).

Contudo, há uma busca por novas opções terapêuticas, uma vez que há poucos fármacos disponíveis para a terapia da LVC que contemplem poucos efeitos adversos, administração oral e que promovam cura clínica (SOLANO-GALLEGO et al., 2011; MIRÓ e VÉLEZ, 2018).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *L. infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associada ao alopurinol.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Leishmaniose Visceral

A LV é uma doença crônica de caráter zoonótico e de distribuição mundial que acomete os animais silvestres, domésticos e o homem em áreas rurais e urbanas (DANTAS-TORRES, 2007). Segundo a Organização Mundial da Saúde, a LV é classificada entre as 10 doenças tropicais negligenciadas, estimando-se o surgimento de mais de 50.000 casos por ano da LV e 600.000 a 1.000.000 casos por ano da Leishmaniose Tegumentar (LT) (OMS, 2017).

A LV já foi descrita como uma doença de ambientes silvestres ou rurais, entretanto, as transformações ambientais provocadas pelo intenso processo migratório e de urbanização crescente levaram a expansão das áreas endêmicas, com o aparecimento de novos focos, apontando a enfermidade como uma doença reemergente (ALVES e BEVILACQUA, 2004).

No Brasil, as mudanças epidemiológicas no habitat natural de hospedeiros e vetores, associada a condições higiênico-sanitárias inadequadas, além do manejo de resíduos sólidos em grandes centros (ROSA et al., 2010; SILVA e LIPORONE, 2011) tem contribuído para a urbanização da doença (DANTAS-TORRES e BRANDÃO, 2006; XIMENES et al., 2007; COLOMBO et al., 2011).

2.2 Agente etiológico, vetor e transmissão

O agente etiológico da LV é um protozoário pertencente à ordem Trypanosomatida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*, sendo conhecidas aproximadamente 20 espécies de *Leishmania* que causam a enfermidade em humanos (KASPER et al., 2015) e 12 espécies que causam a enfermidade em animais (TREVISAN et al., 2015).

Agrupadas no complexo *Leishmania donovani*, eram conhecidas três espécies como agente etiológico da LV: *Leishmania (Leishmania) donovani*, *Leishmania (Leishmania) infantum* no Velho Mundo e *Leishmania chagasi* no Novo Mundo (NOGUEIRA, 2007). Entretanto, pesquisas comprovaram que do ponto de vista bioquímico e genético trata-se da mesma espécie, havendo a distinção apenas quanto à nomenclatura (RIBEIRO, 2005; KULHS et al., 2011).

O principal modo de transmissão do parasito para o ser humano e outros hospedeiros mamíferos é por picada de fêmeas de insetos hematófagos da subfamília Phlebotominae (GUIMARÃES-E-SILVA et al., 2017), sendo o *Lutzomyia longipalpis* (LOPES et al., 2017), *Lutzomyia migonei* no estado de Pernambuco (RIBEIRO et al., 2005) e *Lutzomyia cruzi* nos estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul (PITAPEREIRA et al., 2008).

O ciclo biológico é do tipo heteroxeno, com participação de dois hospedeiros, o flebotomíneo, que apresenta a forma promastigota no seu intestino, e um hospedeiro definitivo mamífero, que possui a forma ovoide não móvel, denominada de amastigota (KASPER et al., 2015).

A infecção do vetor ocorre quando a fêmea faz o repasto sanguíneo num hospedeiro infectado ingerindo as formas amastigotas de *Leishmania* spp existentes no interior dos macrófagos (Figura 1). No inseto, as amastigotas se reproduzem por divisão binária, transformam-se em promastigota, e estas se multiplicam rapidamente até originarem as promastigotas metacíclicas infectantes (BRASIL, 2014).

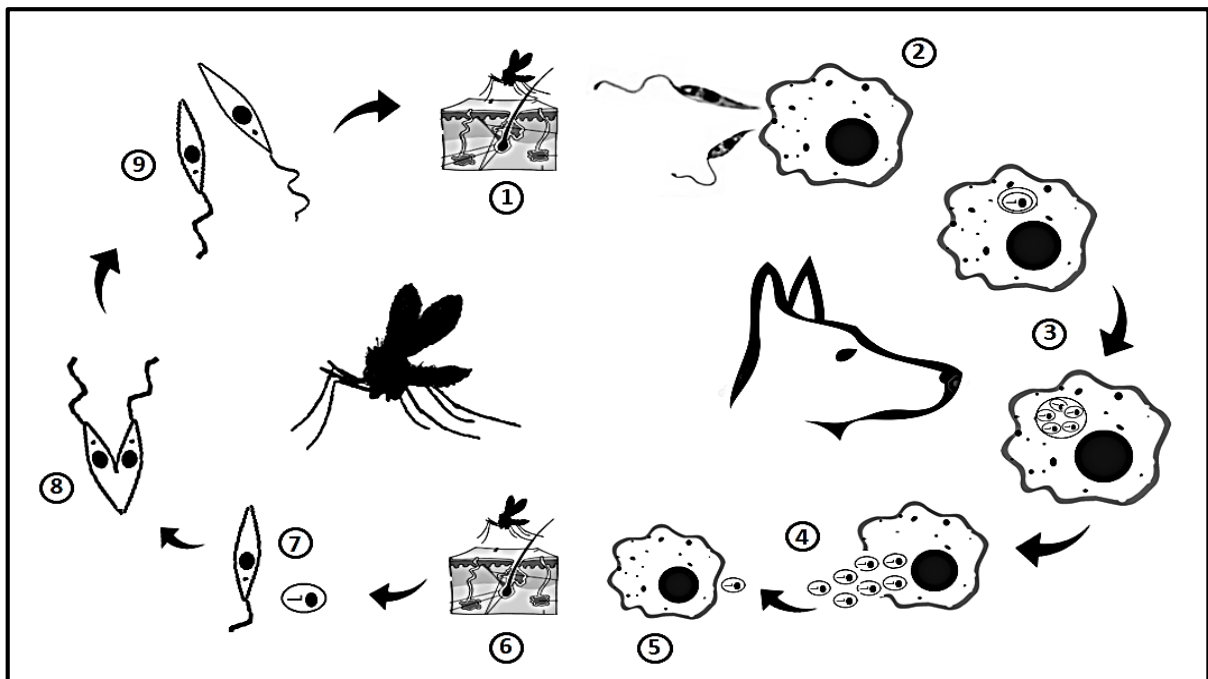


Figura 1 - Ciclo biológico da *Leishmania infantum*. Fonte: Nascimento, 2018

1-Flebotomíneo realiza o repasto sanguíneo, e deposita através de sua saliva formas promastigotas de *Leishmania* sp; 2- Forma promastigota invadindo um macrófago; 3- Após a transformação da forma promastigota em amastigota no macrófago ocorre a multiplicação por divisão binária; 4- Lise do macrófago e liberação das formas amastigotas na circulação; 5- As formas amastigotas invadem novas células do sistema fagocitário mononuclear e se dividem por divisão binária; 6- O flebotomo ingere sangue contendo as formas amastigotas; 7- Transformação das formas amastigotas em promastigotas; 8- Formas promastigotas procíclicas iniciam o processo por divisão binária passando a promastigotas metacíclicas; 9- Migração das formas promastigotas pela válvula faríngea do flebotomo.

No hospedeiro, após o repasto sanguíneo do vetor, as formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário, e se diferenciam em formas amastigotas, que se multiplicam por divisão binária. Os macrófagos, repletos desta últimas, rompem-se liberando essas formas, que serão fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo (PALTRINIERI et al., 2010).

2.3 Hospedeiros susceptíveis e reservatório

Mamíferos pertencentes à família Canidae, principalmente o cão doméstico, são apontados com a principal fonte de infecção para os flebotomíneos em ambiente urbano, pela alta prevalência da doença nesta espécie e grande quantidade de parasitos na pele, tornando-os alvo principal para o controle da doença (DANTAS-TORRES e BRANDÃO-FILHO, 2006; GUIMARAES et al., 2017). Os felinos também pode ser acometidos com ocorrência em várias partes do mundo (COELHO et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2015; METZDORF, 2015).

Estão envolvidos ainda no ambiente urbano os roedores (gêneros *Oryzomys* e *Akodon*), gambás (*Didelphis marsupialis*, *Didelphis albiventris*), além do cachorro-vinagre (*Speothos venaticus*), preguiça-de-dois-dedos (*Chloepus didactylus*), tamanduá-mirim (*Tamandua tetradactyla*), raposas (*Dusicyon vetuluse*, *Cerdocyon thous*), quirópteros (*Desmodus rotundus*) e primatas não humanos (*Callithrix penicillata*, *Callithrix jacchus*) (CUNHA et al., 2014; CARDOSO et al., 2015; PAIZ et al., 2015; CALDART et al., 2017; PAIZ et al., 2018).

2.4 Leishmaniose Visceral Canina

A LVC é uma doença crônica, sistêmica e imunomediada de caráter zoonótico, causada por *L. infantum* (ABBASZADEH-AFSHAR et al., 2015; SOLANO-GALLEGO et al., 2017).

Nos cães, dependendo da resposta imune, o período de incubação pode variar de três meses a sete anos, o que leva a diferentes apresentações clínicas da doença (GENARO, 1993; SOLANO-GALLEGO et al., 2017).

2.4.1 Imunopatogenia

As formas promastigotas metacíclicas ao serem depositadas no organismo são aderidas e recrutadas por células do sistema fagocitário mononuclear, principalmente macrófagos, dando início a uma série de eventos (REIS et al., 2006).

Numa infecção por *L. infantum*, as células do sistema mononuclear fagocitário infectadas atuam como células apresentadoras de antígenos, estimulando os linfócitos (CD4+) T auxiliares do tipo 1 (Th1), ou T auxiliares do tipo 2 (Th2). Quando o antígeno é apresentado por moléculas do complexo maior de histocompatibilidade do tipo II, elas liberam linfocinas que regulam o potencial microbicida dos macrófagos (REIS et al., 2006).

As células Th1 são consideradas pró-inflamatórias e secretam principalmente as interleucinas-2 (IL-2) e 12 (IL-12), fator de necrose tumoral (TNF- α) e interferon γ (IFN- γ), que podem iniciar a imunidade celular mediada e citotoxicidade. O eixo Th2 medeia a imunidade humoral com produção exacerbada de anticorpos e é considerada anti-inflamatória, secretando principalmente as interleucinas 4, 5, 6, 10 e 13 e apresenta comportamento antagonista das células Th1 (GENARO, 1993; FERRER, 2002). *Leishmania* sp é capaz de direcionar a diferenciação de células T para uma resposta do tipo Th2, caracterizada pela persistência da infecção (REIS et al., 2006).

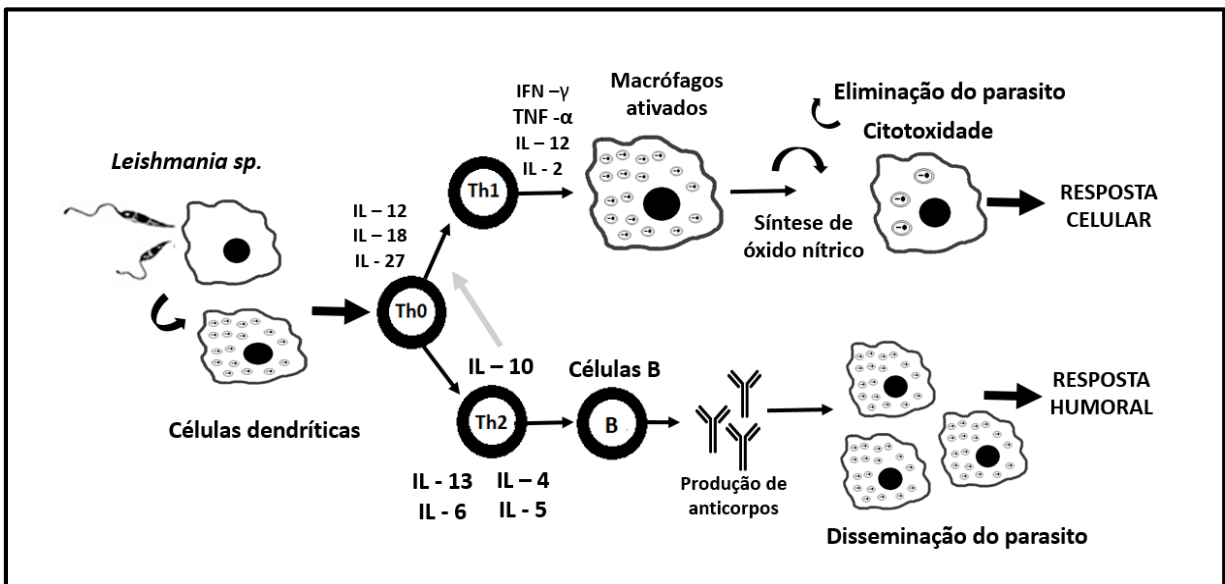


Figura 2 - Resposta imune celular na infecção por *Leishmania infantum*. Adaptado de Reis et al (2006).

2.4.2 Manifestações clínicas

O número e a intensidade dos sinais clínicos são determinados por um conjunto de fatores que envolvem a cepa do parasito, genética e o estado imunológico do hospedeiro (FERRER, 2002; SOLANO-GALLEGO et al., 2009). Desta forma, o sistema imunológico dos cães é capaz de controlar a infecção durante vários anos, sem o aparecimento de sinais, e às vezes pode até evoluir para uma cura espontânea (SOLANO-GALLEGO et al., 2017). Por outro lado, alguns cães infectados podem evoluir para síndromes graves levando os animais ao óbito (RIBEIRO et al., 2018).

De acordo com a presença ou ausência de sinais clínicos, os animais podem ser classificados em assintomáticos ou sintomáticos (ALEXANDRE-PIRES et al., 2010) sendo que os assintomáticos representam importante papel como reservatório da doença (BARBIÉRI, 2006).

Os sinais clínicos são bastantes variáveis e inespecíficos, sendo os mais predominantes as dermatopatias, que incluem dermatite esfoliativa, papular, nodular e ulcerativa, além de alopecia e onicogribose, sendo a dermatite descamativa a alteração mais comum, reportada entre 56 a 91% dos casos (SOLANO-GALLEGO et al., 2017; NOLI e AUXILIA, 2005; PALTRINIERI et al., 2016).

No entanto, os cães podem apresentar sinais sistêmicos que incluem problemas articulares, linfadenomegalia, oftalmopatias, epitaxes, vômitos, diarreias e comprometimento renal, apontado como a principal causa de óbitos em cães com LV (FERRER, 2002; MIRÓ et al., 2008).

O sistema hemolinfático é o primeiro envolvido e é caracterizado por linfadenomegalia com aspecto inicial exsudativo evoluindo para proliferativo hiperplásico (LUVIZOTTO, 2006).

As alterações oftálmicas mais observadas são blefarites, ceratoconjuntive seca ou não, uveites, conjuntivites folicular ou membranosa (SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007). Essas alterações são ocasionadas pela decorrência de infiltrado linfoplasmocitário perivascular em resposta a infecção presença do protozoário (FERRER, 2002; SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

Além da perda de peso, a atrofia muscular pode estar presente, relacionada a necrose das fibras musculares decorrente do processo inflamatório crônico (SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007).

A multiplicação de parasitos no organismo animal, particularmente nos hepatócitos pode induzir alterações estruturais e, conseqüentemente desencadear hepatomegalia e hepatite difusa crônica (SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007).

A doença renal pode ser atribuída pela deposição de imunocomplexos ou presença do parasito nas membranas glomerulares (MIRÓ et al., 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2011). Entretanto, há evidências que a resposta imune celular também esteja envolvida na patogênese da nefropatia da doença (COSTA et al., 2000). A artropatia pode ser explicada pelo aspecto patogênico semelhante a doença renal (SOLANO-GALLEGO et al., 2011).

Apesar de ser raro, o envolvimento do sistema nervoso central na LVC, pode ser demonstrado por formas amastigotas no plexo coroide, em associação a infiltrado linfoplasmocitário ou presença do DNA de *Leishmania* spp no liquido cefalorraquidiano (LUVIZOTTO, 2006; ZOBBA et al., 2017).

2.4.3 Alterações hematológicas e bioquímicas

As alterações mais comuns incluem azotemia, proteinúria, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, trombocitopenia, anemias, leucocitose ou leucopenia e aumento dos valores das enzimas hepáticas (GÓMEZ-OCHOA et al., 2010; MENDONÇA et al., 2015; BANETH et al., 2018, TORRECILHA et al., 2016).

No hemograma, a anemia com normocitose, normocromia e arregeneração tem sido mais relatada em cães com infecção natural, podendo ser explicada por perda sanguínea na epistaxe e ulcerações da pele, eritrólise, inflamação generalizada e doença renal crônica (SILVA, 2007; MENDONÇA et al., 2015; TORRECILHA et al., 2016). Por outro lado, independentemente da presença de vários ou nenhum sinal clínico de LV nos animais, há alterações significativas no hematócrito e hemoglobina (COSTA-VAL et al., 2007).

A trombocitopenia é outro achado frequente, sendo causada pela destruição periférica imunomediada das plaquetas circulantes, vasculite, trombocitopiose alterada e aumento da destruição plaquetária após falência renal e/ou hepático (MOURA et al., 2002; CORTESE et al., 2009; CORTESE et al., 2011) podendo ser encontrada em 15% a 50% nos animais infectados (CIARAMELLA et al., 2005; COSTA-VAL et al., 2007).

Quanto à série leucocitária, a leucocitose pode estar presente em alguns animais, principalmente por neutrofilia com desvio à esquerda regenerativo, estando associado a um quadro de infecção bacteriana secundária concomitantemente (MATTOS JR et al., 2004). A ocorrência de leucopenia é menos frequente, mas tem sido observada em outros estudos (BUSH, 2004).

A linfocitose também tem sido relatada em cães assintomáticos e sintomáticos (FELDMAN et al., 2000; IKEDA-GARCIA et al., 2003), sendo decorrente da estimulação antigênica persistente em infecções crônicas (GROULADE et al., 1977; BARR et al., 1991). Enquanto, a linfopenia está associada à severidade das manifestações clínicas da doença, sendo possivelmente atribuídas à liberação de citocinas imunodepressoras na presença do parasito, além do bloqueio de maturação das linhagens leucocitárias, causada pelo intenso parasitismo da medula óssea e também pelo recrutamento dessas células para sítios inflamatórios (BOURDOISEAU et al., 1997; ALVAR et al., 2004; REIS et al., 2006).

No que concerne as alterações bioquímicas, as alterações renais, representadas pelo aumento das concentrações séricas de ureia e creatinina, são relativamente comuns na LVC (TORRECILHA et al., 2016).

A hiperproteinemia nos cães com LV é decorrente de uma resposta imune humoral policlonal de linfócitos B, onde se observa um aumento de gamaglobulina, diminuição de albumina e inversão na relação albumina/ globulina, ao qual ocorre em decorrência de perdas por comprometimento hepático e renal ou subnutrição crônica em animais com anorexia (REIS, et al., 2006; SOLANO-GALLEGO et al., 2009; GREENE, 2012). A hipoalbuminemia é muito comum em cães com a enfermidade, devido a doença hepática crônica (> 60% dos animais tem hipoalbuminemia) e proteinúria (THRALL et al., 2012).

Na LVC, as alterações das enzimas hepáticas estão associadas com a evolução da doença em função da multiplicação do parasito no fígado, principalmente nas células de kupffer (SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007). Há o aumento da Alanina aminotransferase (ALT), enzima de extravasamento que se apresenta livre no citoplasma, principalmente nos hepatócitos, além da fosfatase alcalina (FA) (THRALL et al., 2012).

2.4.4 Diagnóstico

O diagnóstico da LVC continua sendo um desafio, devido a presença de animais assintomáticos, inespecificidade de sinais clínicos e ausência de um diagnóstico que possua 100% de especificidade e sensibilidade (MOREIRA JR, et al., 2003). Sendo assim, é necessário a realização do diagnóstico laboratorial quer seja por meio de exames laboratoriais parasitológicos, sorológicos e moleculares isolados ou associados (ALVAR et al., 2004; MAIA e CAMPINO, 2012).

2.4.4.1 Diagnóstico parasitológico

O exame parasitológico representa o “*Padrão-Ouro*” para o diagnóstico definitivo da LVC, e se baseia na visibilidade de formas amastigotas do parasito no interior dos macrófagos ou livres em preparações citológicas, como aspirado de linfonodos, biopsias de medula óssea e citologia esfoliativa da pele (SILVA, 2007; GREENE, 2012).

Esse método direto representa o método de eleição para o diagnóstico de infecção estabelecida na enfermidade, por ser rápido, de fácil execução, baixo custo, e possuir 100% de especificidade. Entretanto, a sensibilidade do exame pode ser baixa, devido a alguns fatores como: coleta, experiência do leitor, qualidade da amostra e carga parasitária (GENARO, 1993; SILVA, 2007).

2.4.4.2 Diagnóstico sorológico

Os métodos sorológicos detectam a presença de anticorpo IgG anti *Leishmania* sp, e são bastante úteis em inquéritos epidemiológicos (REY, 2001; GREENE, 2012).

No entanto, esses métodos devem ser interpretados com cautela, uma vez que não são 100% sensíveis e específicos, podendo ocorrer a presença de reações falso-positivas, por outros tripanossomatídeos como o *Trypanosoma caninum* e alguns patógenos prevalentes em algumas regiões do Brasil como a *Babesia* spp, *Ehrlichia* spp e *Anaplasma* spp (RIBEIRO, 2007; SOLANO-GALLEGO et al., 2009; BARROS et al, 2012).

No Brasil, as técnicas sorológicas recomendadas pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico da infecção canina é o DPP (Dual Path Platform) – BioManguinhos/Fundação Oswaldo Cruz® como triagem e o ELISA como teste

confirmatório (GRIMALDI et al., 2012; BRASIL, 2014).

2.4.4.3 Diagnóstico molecular

A biologia molecular tem mostrado ser uma ferramenta de grande valia no diagnóstico da infecção por *Leishmania* sp com sensibilidade e especificidade próximas a 100%, principalmente para detecções em cães assintomáticos (MAIA e CAMPINO, 2008).

A Reação em Cadeia de Polimerase (PCR) é um método molecular que permite identificar e amplificar sequências de DNA do parasito, apresentando alta especificidade, porém a sensibilidade pode ser dependente da amostra obtida. Amostras de medula óssea, linfonodos, pele e suabe conjuntival tem mostrado melhores resultados em relação ao sangue periférico, devido á baixa quantidade de parasitos nessa amostra biológica (FERREIRA, 2013).

Outra técnica molecular derivada da PCR é a Reação em Cadeia de Polimerase em tempo real (qPCR), método baseado no uso de corantes ou sondas fluorescentes e que permite avaliar a carga parasitária na pele (MAIA e CAMPINO, 2008).

2.4.5 Tratamento

O tratamento da LVC representa um desafio para o médico veterinário, devido à extrema complexidade de sua patogenia, uma vez que a condição clínica do paciente é um fator que influencia na escolha do melhor protocolo terapêutico. É sábio que o tratamento de cães doentes em áreas endêmicas reduz a infectividade canina, diminuindo assim os riscos epidemiológicos para humanos e outros cães não infectados (ALVAR, et. al., 2004; SOLANO-GALLEGO et al., 2011; TRAVI et al., 2018).

A terapia anti-leishmanial pode diminuir a carga parasitária, embora não seja capaz de alcançar uma cura parasitológica (BANETH e SHAW, 2002; NOLI e AUXILIA, 2005; MANNA et al., 2008; REGUERA et al., 2016).

Desta forma, o tratamento da doença objetiva a remissão dos sinais clínicos e redução na capacidade infectante dos animais (GOMEZ-OCHOA et al., 2009; CIARLINI et al., 2010; TRIGO et al., 2010; TRAVI, et al., 2018) e tem sido baseado na utilização de antimoniato de meglumina, anfotericina B, alopurinol, miltefosina e imunomoduladores (SOLANO-GALEGO et al., 2009).

Contudo, no Brasil o tratamento da LVC consolidou-se apenas no ano de 2016, sob a portaria interministerial do Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento, ao qual autorizou o uso de Miltefosina, agente antiprotozoário com ação leishmanicida (MAPA, 2016).

2.4.5.1 Antimoniais pentavalentes

Os antimoniais pentavalentes são usados há mais de 50 anos para o tratamento da LV (TIUMAN et al., 2011) e atuam seletivamente, inibindo a enzima fosfofrutoquinase dos protozoários, que é necessária para a oxidação de ácido glicolítico e ácidos graxos, causando sua morte (SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

No Brasil, seu uso é restrito ao tratamento da leishmaniose em humanos, porém em países onde ocorre a liberação do fármaco a dose recomendada para cães é de 75 a 100 mg/ kg por via subcutânea uma vez ao dia por quatro a seis semanas (BRASIL, 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

A monoterapia com o uso de antimoniato promove remissão dos sinais clínicos, com baixas recidivas, mas não elimina completamente os parasitos (DENEROLLE e BOURDOISEAU, 1999; BANETH e SHAW, 2002; ALVAR, 2004; IKEDA-GARCIA et al., 2010). Assim, recomenda-se o uso do antimoniato de meglumina em associação com o alopurinol, sendo a terapia mais eficaz e rotineira no protocolo da LVC (MANNA et al., 2015).

Além disso, o fármaco apresenta efeitos colaterais como cardiotoxicidade, pancreatite e nefrotoxicidade (LAWN et al., 2006; BADALOV et al., 2007; SUNDAR e CHAKRAVARTY, 2015), porém em cães não foram observados sinais de pancreatite (PANAGIOTIS et al., 2014).

2.4.5.2 Alopurinol

O alopurinol é uma droga leishmanioestática que atua como um análogo de purina, inibindo síntese proteica quando incorporada ao RNA do parasito, levando-o a morte (NOLI e SARIDOMICHELAKIS, 2014). É utilizada como monoterapia em alguns países, onde o antimoniato e a miltefosina estão indisponíveis (HELM et al., 2013).

Como terapia associada a uma droga leishmanicida, esse fármaco representa o composto mais usado contra o LVC na Europa (MATTIN et al., 2014), induzindo remissão dos sinais clínicos e baixa toxicidade (RIBEIRO, 2007). Porém, é incapaz de

eliminar completamente os parasitos e não tem atividade preventiva na LVC (SARIDOMICHELAKIS et al., 2005).

A dose utilizada como monoterapia é de 15-30 mg/kg/dia dividido em duas ou três doses diárias (NOLI e AUXILIA, 2005) e a interrupção do tratamento pode ocorrer quando as seguintes condições forem satisfeitas: recuperação clínica completa; normalização clínico-patológica e níveis de anticorpos negativos ou abaixo do nível de corte do teste. Por isso, é necessário realizar controles da resposta do organismo ao tratamento e melhora clínica (SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

O alopurinol associado à domperidona e três doses de vacina contra *Leishmania* sp. com intervalo de 21 dias, induziu gradativamente a remissão dos sinais clínicos, e após doze meses de tratamento não foram encontradas formas amastigotas de *L. infantum* na pele dos animais (NASCIMENTO, 2015).

2.4.5.3 Domperidona

A imunomodulação é essencial para o tratamento da LVC, tendo a domperidona como importante fármaco para essa finalidade (PASSOS et al., 2014). Essa droga é um antagonista do receptor de dopamina e provoca a liberação de serotonina, estimulando produção de prolactina e produção de linfócitos Th1 e de IL-2, IL-12, INF- γ e TNF- α , levando à ativação dos macrófagos seguida da diminuição da população de Th2 (GOMEZ-OCHOA et al., 2009).

Em estudo realizado por Gomez-Ochoa et al (2009) a domperidona em monoterapia foi administrada duas vezes por dia, na dosagem de 1 mg/kg durante 30 dias em cães naturalmente infectados com LVC e a remissão clínica foi observada em 96% dos cães num intervalo de 90 dias.

2.4.5.4 Miltefosina

A miltefosina é um alquifosfolípido, originalmente desenvolvido como agente antineoplásico (HILGARD et al., 1993), com capacidade leishmanicida *in vitro* e *in vivo* (SUNDAR et al., 1998; FARCA et al., 2012).

Seu mecanismo não está totalmente esclarecido, estudos mostram que o fármaco altera as vias de sinalização e a síntese de membrana celular levando a apoptose (VERMA e DEY, 2004). Além disso, a miltefosina é capaz de estimular células T elevando os níveis de INF- γ , assim estimulando a produção de óxido nítrico

(NO) e radicais reativos de oxigênio dentro dos vacúolos dos macrófagos, eliminando os parasitos (MANNA et al., 2008; REGUERA et al., 2016).

Quando usado como monoterapia, reduz consideravelmente a carga parasitária, e promove cura clínica (MANNA et al., 2008; ANDRADE et al., 2011). Por outro lado, animais tratados apresentam aumento significativo na parasitemia seis meses após o tratamento (ANDRADE et al., 2011).

Por esse fato, é recomendável associar a medicação com outros fármacos para uma melhor resposta terapêutica (MANNA et al., 2015; REGUERA et al., 2016). A associação com o alopurinol na dose 10mg/Kg/dia e miltefosina na dose de 2mg/kg/dia tem sido um protocolo que apresenta a mesma efetividade da associação alopurinol e antimonial pentavalente (MANNA et al., 2015; REGUERA et al., 2016).

2.4.5.5 Anfotericina B

A anfotericina B é uma droga com atividade anti-leishmanial efetiva contra diferentes espécies de *Leishmania* spp. que têm relevância clínica nas Américas, tais como como *L. infantum*, *L. braziliensis* e *L. amazonensis* (MORAIS-TEIXEIRA et al., 2014).

Seu mecanismo de ação se dá através da ligação preferencial com esteróis (ergosterol ou episterol) presentes na membrana plasmática da *Leishmania*, que altera a permeabilidade de membrana e causa distúrbios metabólicos, culminando com a morte celular (RAMOS et al., 1996; BRASIL, 2014).

Para caninos, a anfotericina B pode ser utilizada pela via intravenosa na dose de 0,5-0,8 mg/kg, duas a três vezes por semana numa dosagem de 10-15 mg/kg (GRAMICCIA et al., 1992). Seu uso na terapia da LVC tem uma boa resposta, porém só é recomendado em áreas não endêmicas, devido a preocupações com efeitos colaterais e indução de resistências em casos humanos (BEST et al., 2014).

A principal limitação ao uso desta droga é a necessidade de hospitalização prolongada devido à sua alta nefrotoxicidade (SUNDAR et al., 2007). A anfotericina B pode ainda afetar a qualidade do sêmen e fertilidade em cães, interferindo com a espermatogênese (ASSIS et al., 2010).

2.4.5.6 Marbofloxacin

É uma fluoroquinolona sintética de terceira geração desenvolvida apenas para uso veterinário (ROUGIER et al., 2008). Possui atividade potente contra várias bactérias sendo frequentemente usado no tratamento de uma ampla gama de infecções bacterianas por Gram-positivas e Gram-negativas (PRESCOTT et al., 2000; MEUNIER et al., 2004).

Como outras quinolonas, a marbofloxacin inibe a enzima bacteriana DNA girase (ou topoisomerase II), e como a *Leishmania* apresenta uma estrutura genômica que exhibe maiores semelhanças com as bactérias, esse fármaco atua também sobre a DNA girase do parasito (MAJUMDER, 1988; SLUNT et al., 1996; CHAKRABORTY e PRESCOTT et al., 2000).

As fluoroquinolonas são conhecidas por apresentarem propriedades imunomoduladoras, diminuindo a resposta das citocinas em particular (DALHOFF e SHALIT, 2003). Estudos demonstram que a marbofloxacin tem previamente uma atividade leishmanicida indireta através do TNF- α e Óxido nítrico (NO) via sintase (VOULDOUKIS et al., 2006).

A dose recomendada é de 2mg/kg/dia durante 28 dias, com a qual 83% dos cães apresentaram boa resposta com diminuição dos sinais clínicos (ROUGIER et al., 2008), além da redução da carga parasitária nos linfonodos após três meses. Esse fármaco, também tem mostrado bons resultados *in vitro* (VOULDOUKIS et al., 2006).

Segundo Rougier et al (2012) a eficácia foi demonstrada em 68,9% do cães, sendo que 23,8% foram clinicamente curados após três meses, além disso a evolução dos parâmetros hematológicos e bioquímicos foram satisfatórios. A recaída foi observada em 52,6% dos cães com aproximadamente 5,5 meses após a conclusão do tratamento. Contudo, não apresentou cura parasitologica com persistencia do parasito nos linfonodos (ROUGIER et al., 2012).

No estudo realizado por Pineda et al (2017), pacientes com LVC e insuficiencia renal crônica tratados com marbofloxacin na dose recomendada, apresentaram diminuição na carga parasitária em 72% dos cães, além disso houve aumento da concentração de albumina plasmática e uma diminuição significativa na concentração de globulina.

Apesar desse fármaco não eliminar totalmente o parasito, como é o caso de outras drogas com ação anti-leishmanial, seu uso mostrou bons resultados e não

induz modificações na ureia e creatinina em cães não azotemicos, sendo uma droga muito segura para pacientes com doença renal crônica (PINEDA et al., 2017). Além disso, apresenta poucos ou nenhum efeito colateral no trato gastrointestinal, incluindo o fármaco como opção promissora no tratamento da LVC (ROUGIER et al., 2012).

2.4.5.7 Outros fármacos

Outros fármacos também podem ser utilizados na terapia da LVC, como o metronidazol, que é um antibiótico sintético do nitroimidazol. Segundo Pennisi et al (2005), o metronidazol associado com a espiamicina no tratamento da LVC, apresentou bons resultados com remissão clínica completa ou quase completa. Outros estudos mostram que as recidivas são altas e que a carga parasitária não é eliminada efetivamente (BIANCIARDI et al., 2004).

Vários medicamentos anti-fúngicos com ação anti-leishmanial foram investigados em humanos, cães e roedores (BANETH e SHAW, 2002). A associação de agentes à base de antimoniais com cetoconazol tem sido utilizada com sucesso em humanos contra a leishmaniose no velho mundo (EL-SAYED e ANWAR, 2010). Essa associação foi investigada *in vitro* contra amastigotas de *L. (L.) amazonensis* (NUNES et al., 2017).

Há um grande interesse em terapias anti-leishmanial de uso oral, sendo o fluconazol, cetoconazol e itraconazol alternativas que satisfazem este requisito (GALVÃO et al., 2017). Estes agentes demonstraram ser altamente eficaz contra *Leishmania* spp tanto em testes *in vitro* (BEACH et al., 1988; SHOKRI et al., 2017) quanto *in vivo* (SAENZ et al., 1990; ALRAJHI et al., 2002). Entretanto, não há estudos suficientes para recomendar o uso dessas drogas unicamente como terapia anti-leishmanial (GALVÃO et al., 2017).

O tratamento com pentamidina tem sido utilizado com sucesso para estabelecer a resposta imunológica de cães com LV (LASRI et al., 2003). Estudos mostraram que a pentamidina reduz os sinais clínicos, sem recidivas no período de seis meses após a conclusão do tratamento e sem presença de efeitos colaterais (RHALEM et al., 1999).

Um estudo piloto com a aminosidina investigou a eficácia e a segurança da administração diária por via subcutânea de aminosidina na dose de 15 mg/kg durante 21 dias em cães sem azotemia ou proteinúria (ATHANASIOU et al., 2013). Os

parâmetros clínicos, sorológicos e parasitológicos melhoraram significativamente no final do tratamento, sem recaída durante os 3 meses subsequentes (ATHANASIOU et al., 2013).

2.4.6 Terapia de suporte

A LVC apresenta diferentes manifestações clínicas, destacando principalmente as lesões renais, hepatites difusas crônicas, oftalmopatias e dermatopatias, tendo as glomerulopatias como a maior causa de óbito em pacientes, o que requer uma terapia de suporte associada ao tratamento antileishmanial (FERRER, 2002; MIRÓ et al., 2008).

A terapia da doença renal crônica (DRC) é baseada nos estágios da classificação da Sociedade Internacional de Interesse Renal, que varia de I a IV (IRIS, 2009), sendo a magnitude do comprometimento das estruturas renais e da função renal o que determina as variações das manifestações clínicas (LEES et al., 2004).

Em pacientes renais, várias disfunções devem ser corrigidas para um bom sucesso terapêutico, tais como: distúrbios eletrolíticos, desequilíbrio ácido-base, hipertensão arterial sistêmica, proteinúria, hiperfosfatemia, anemia e anormalidades gastrintestinais (POLZIN, 2013).

Além disso, deve-se levar em consideração as infecções concomitantes, que se instalam pela imunossupressão do paciente de LVC e que dificultam a recuperação, principalmente as hemoparasitoses como erliquiose, babesiose, hepatozoonose, anaplasmose, filarioses, entre outras (CORRALES, 2005).

Dessa forma, é imprescindível que o paciente da LV seja cuidado em todos os sistemas, pois muitas vezes a cura clínica não é alcançada devido a presença de coinfeções e suas consequências (VEADO et al., 2002).

3 OBJETIVOS

4.1 Objetivo Geral

Avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol.

4.2 Objetivos Específicos

Avaliar clinicamente cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado ao alopurinol;

Avaliar o perfil hematológico e bioquímico de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado ao alopurinol.

REFERÊNCIAS

- ABBASZADEH-AFSHAR, M. J. et al. Seroepidemiological survey of visceral leishmaniasis among nomadic tribes of Kerman Province, Southeastern Iran: an observational study for implication to health policy. **Journal of Biostatistics and Epidemiology**, v.1, p.105-111, 2015.
- ALEXANDRE-PIRES, G. et al. Canine Leishmaniosis. Immunophenotypic profile of leukocytes in different compartments of symptomatic, asymptomatic and treated dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.137, n. 3-4, p.275-283, 2010.
- ALRAJHI, A. A. et al. Fluconazole for the treatment of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania major*. **New England Journal of Medicine**, v.346, p.891-895, 2002.
- ALVAR, J. et al. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v.57, p.1-88, 2004.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Caderno de Saúde Pública**, v.20, p.259-265, 2004.
- ANDRADE, H. M. et al. Evaluation of miltefosine for the treatment of dogs naturally infected with *L. infantum* (= *L. chagasi*) in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.181, p.83-90, 2011.
- ASSIS, V. P. et al. Dogs with *Leishmania chagasi* infection have semen abnormalities that partially revert during 150 days of Allopurinol and Amphotericin B therapy. **Animal Reproduction Science**, v.117, p.183-186, 2010.
- ATHANASIOU, L. V. et al. A cross-sectional sero-epidemiological study of canine leishmaniasis in Greek mainland. **Acta Tropica**, v.122, p.291-295, 2013.
- BADALOV, N. et al. Drug-induced acute pancreatitis: an evidence-based review. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, v.5, p.648-661, 2007.
- BARBIÉRI, C.L. Immunology of canine Leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v.28, p.329-337, 2006.
- BARR, S. C.; GOSSET, K.; KLEI T. R. Clinical, clinicopathologic, and parasitologic observations of trypanosomiasis in dogs with North American *Trypanosoma cruzi* isolates. **American Journal of Veterinary Research**, v.52, p.954-960, 1991.
- BANETH, G. et al. Renal dialysis and long-term treatment of a dog with kidney disease associated with canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v.11, p.2-5, 2018.
- BANETH, G.; SHAW S. E. Chemotherapy of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.106, p.315-324, 2002.
- BARROS, J. H. S. et al. Occurrence of *Trypanosoma caninum* in areas overlapping with leishmaniasis in Brazil: what is the real impact of canine leishmaniasis control.

Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, v.106, p.419-423, 2012.

BAUM, M. et al. Molecular detection of the blood meal source of sand flies (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, Paraná State, Brazil. **Acta Tropica**, v.143, p.8-12, 2015.

BEACH, D. H. et al. Effects of antimycotic azoles on growth and sterol biosynthesis of *Leishmania* promastigotes. **Molecular and Biochemical Parasitology**, v.31, p.149-162, 1988.

BEST, M. P. et al. The diagnosis and management of a case of leishmaniosis in a dog imported to Australia. **Veterinary Parasitology**, v.202, p.292-295, 2014.

BOURDOISEAU, G. et al. Lymphocyte subset abnormalities in canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.56, p.345-351, 1997.

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

BIANCIARDI, P. et al. The efficacy of enrofloxacin, alone or combined with metronidazole, in the therapy of canine leishmaniasis. **Parasitology Research**, v.93, p.486-492, 2004.

BUSH, B. M. *Interpretação de Resultados Laboratoriais para Clínicos de Pequenos Animais*. São Paulo. Roca, 376p, 2004.

CALDART, E. T. et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.26, p.17-27, 2017.

CARDOSO, R. M. et al. Expanding the knowledge about *Leishmania* species in wild mammals and dogs in the Brazilian savannah. **Parasites & Vectors**, v.171, p.2-8, 2015.

CARRILLO, E. MORENO J. Cytokine profiles in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, p.67-70. 2009.

CHAKRABORTY, A. K; MAJUMDER, H. K. Mode of action of pentavalent antimonials: specific inhibition of type I DNA topoisomerase of *Leishmania donovani*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.152, p. 605-611, 1988.

CIARAMELLA, P. et al. Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Journal**, v.169, p.465-467, 2005.

CIARLINI, P. C. et al. Leucograma e metabolismo oxidativo dos neutrófilos de cães com leishmaniose visceral antes e após o Tratamento com antimoniato de meglumina e alopurinol. **Revista Ciência Animal Brasileira**, v.11, p.369-375, 2010.

COELHO, W. M. D. et al. Occurrence of *Leishmania (Leishmania) chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária (Online)**, v.19, P.256-258, 2010.

COLOMBO, F. A. et al. Detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* RNA in fleas and ticks collected from naturally infected dogs. **Parasitology Research**, v.109, p. 267-274, 2011.

CORRALES. Leishmaniosis canina. Manejo clínico de la leishmaniosis canina Podemos unificar criterios? La leishmaniosis canina 2º parte. Información Veterinaria. **Revista oficial del Consejo general de Colegios Veterinarios de Espana**, p. 44-48, 2005.

CORTESE, L. et al. Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v.164 p.778-782, 2009.

CORTESE, L. et al. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally coinfecting by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. **Veterinary Journal**, v.188 p.118-121, 2011.

COSTA, F. A. L. et al. CD4+ T cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.33, p.1455-1458, 2000.

COSTA-VAL, A. P. et al. Canine visceral leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. **Veterinary Journal**, v.174, p.636-643, 2007.

CUNHA, R M. et al. Envolvimento do *Desmodus rotundus* no ciclo epidemiológico das leishmanioses na Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.15, p.774-781, 2014.

DALHOFF, A., SHALIT, I. Immunomodulatory effects of quinolones. **Lancet Infectious Diseases**, v.3, p. 359-371, 2003.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania (Leishmania) infantum* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Veterinary Parasitology**, v. 149, p. 139-146, 2007.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: Revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 48, p.151-156, 2006.

DENEROLLE, P. BOURDOISEAU, G. Combination allopurinol and antimony treatment versus antimony alone and allopurinol alone in the treatment of canine leishmaniasis (96 cases). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.13, p.413-415, 1999.

EL-SAYED, M.; ANWAR, A. E. Intralesional sodium stibogluconate alone or its combination with either intramuscular sodium stibogluconate or oral ketoconazole in the treatment of localized cutaneous leishmaniasis: a comparative study. **Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology**, v.24, p.332-40, 2010.

FARCA, A. M. et al. Canine leishmaniasis: In vitro efficacy of miltefosine and marbofloxacin alone or in combination with allopurinol against clinical strains of *Leishmania infantum*. **Parasitology Research**, v.110, p.2509–2513, 2012.

FELDMAN, B.V. et al. **Schalm's Veterinary Hematology**. Canada: Lippincott Williams & Wilkins, 1344p, 2000.

FERRER L. **The pathology of canine leishmaniasis**. Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum, Seville, Spain, p.21-24, 2002.

FERREIRA, S. A. **Avaliação do potencial de amostras clínicas de coleta não invasiva para o diagnóstico molecular da leishmaniose visceral canina por PCR**. Tese (Programa de Pós-Graduação em Parasitologia) Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2013.

GALVÃO, E. L.; RABELLO, A.; COTA, G.F. Efficacy of azole therapy for tegumentary leishmaniasis: A systematic review and metaanalysis. **PLoS ONE**, v.12, p.1-24, 2017.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. 220f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; ORSINI, S. Decreased sensitivity to meglumine antimoniate (Glucantime®) of *Leishmania infantum* isolated from dogs after several courses of drug treatment. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v.86, p.613-620, 1992.

GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. ed. [s.l.] Elsevier/Saunders, 2012.

GROULADE. Canine leishmaniasis. Clinical haematology and biology of leishmaniasis. **Animal Company**, v.12, p.121-128, 1977.

GÓMEZ-OCHOA, P. et al. The nitroblue tetrazolium reduction test in canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.135-138, 2010.

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

GRIMALDI, G. J. et al. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP® CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.106, p.54-59, 2012.

GUIMARAES, A. et al. Serosurvey for canine visceral leishmaniasis in rural and urban areas of the Brazilian Legal Amazon. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, p.207-208, 2017.

GUIMARÃES-E-SILVA, A. S. et al. *Leishmania* infection and blood food sources of phlebotomines in an area of Brazil endemic for visceral and tegumentary leishmaniasis. **PLoS One**, v.12, p.1-19, 2017.

HELM, M. et al. Therapy of canine leishmaniosis with allopurinol in imported dogs in a non-endemic area. **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v.155, p.559-567, 2013.

HILGARD, P. et al. Alkylphosphocholines: A new class of membrane-active anticancer agents. **Cancer Chemotherapy and Pharmacology**, v.32, p.90-95, 1993.

IKEDA-GARCIA, F. A. et al. Clinical and Parasitological of dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* submitted to treatment with meglumine antimonite and allopurinol. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, p.218-223, 2010.

IKEDA-GARCIA, F.A. et al. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba, São Paulo: estudo retrospectivo de 191 casos. **Revista Clínica Veterinária**, v.47, p.42-47, 2003.

INTERNATIONAL RENAL INTEREST SOCIETY - IRIS. **Staging of CKD**. 2009. Disponível em http://www.iris-kidney.com/pdf/IRIS2009_Staging_CKD.pdf. Acesso em 26/11/2018.

KASPER, L. D. et al. **Harrison's Principles of Internal Medicine 19/E (Vol.1 & Vol.2)**. [s.l.] McGraw-Hill Education, 2015.

KULHS, K. et al. Comparative microsatellite typing of new world *Leishmania infantum* reveals low heterogeneity among populations and its recent old world origin. **Neglected Tropical Diseases**, v.5, p.1-16, 2011.

LAWN, S. D. et al. Electrocardiographic and biochemical adverse effects of sodium stibogluconate during treatment of cutaneous and mucosal leishmaniasis among returned travelers. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.100, p.264-269, 2006.

LASRI, S. et al. Western blot analysis of *Leishmania infantum* antigens using sera from pentamidine-treated dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.91, p.13-18, 2003.

LEES. G. E. Early diagnosis of renal disease and renal failure, v.34, p.867-85, 2004.

LOPES, E. G. et al. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. **Epidemiology and Infection**, v.145, p.2436-2444, 2017.

LUVIZOTTO, M. C. R. Alterações patológicas em animais naturalmente infectados [abstract]. In: **Anais do I Fórum sobre Leishmaniose Visceral Canina**; Jaboticabal, São Paulo, 2006.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary Parasitology**, v.158, p.274-287, 2008.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Cytokine and phenotypic cell profiles of *Leishmania infantum* infection in the dog. **Journal of Tropical Medicine**, v.2012, P.1-8, 2012.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Nota Técnica Nº 11/2016/Cpv/Dfip/Sda/Gm/MapaNota Técnica**. [s.l: s.n.], 2016. Disponível em: <<http://www.sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2016/09/nota-tecnica.pdf>> Acesso em 05 de novembro de 2018.

BRASIL. Ministério da Saúde. Proíbe o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Portaria interministerial nº 1.426, de 11 de julho de 2008**. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/gm/2008/pri1426_11_07_2008.html> Acesso em 10 de novembro de 2018.

MANNA, L. et al. Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. **Parasites & vectors**, v.289, p.1-9, 2015.

MANNA, L. et al. Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. **Veterinary Journal**, v.182, p.441-445, 2008.

MARCOVAL, J. et al. Cutaneous leishmaniasis associated with anti-tumour necrosis factor- α drugs: an emerging disease. **Clinical and Experimental Dermatology**, v.42, p.331-334, 2017.

MATTIN, M. J. et al. The frequency and distribution of canine leishmaniosis diagnosed by veterinary practitioners in Europe. **Veterinary Journal**, v.200, p.410-419, 2014.

MATTOS JR, D. G. et al. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, p.119-122, 2004.

MENDONÇA, et al. Biochemical and hematological changes in dogs naturally infected by *Leishmania (infantum) chagasi*. **Revista Clínica Veterinária**; v.20, p.78-84, 2015.

METZDORF, I.P. **Caracterização molecular de *Leishmania infantum* em felinos domésticos na região Centro-Oeste do Brasil**. Tese de mestrado. Mato Grosso do Sul, 2015.

MEUNIER, D. et al. A seven year survey of susceptibility to marbofloxacin of pathogenic strains isolated from pets. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.24, p.592-598, 2004.

MIRÓ, G. et al. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. **Trends in Parasitology**, v.24, p.371-377, 2008.

MIRÓ, G.; VÉLEZ, R. L. Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniasis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. **Veterinary Parasitology**, v.254, p.151-159, 2018.

MOLINA, R. et al. Infectivity in dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. **Transactions Royal of Society Tropical Medicine and Hygiene**, v.88, p.491-493, 1994.

MORAIS-TEIXEIRA, E. et al. In vitro interaction between paromomycin sulphate and four drugs with leishmanicidal activity against three New World *Leishmania* species. **Journal of Antimicrobial Chemotherapy**, v.69, p.150-154, 2014.

MOREIRA JR, E. D. et al. Peridomestic risk factors for canine leishmaniasis in urban dwellings: new findings from a prospective study in Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 69, n. 4, p. 393-397, 2003.

MOURA, R.O.D. et al. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, v.24, p.61-64, 2002.

NASCIMENTO, G. G. **Avaliação da carga parasitária na pele de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) infantum* chagasi submetidos a tratamento experimental**. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal Tropical) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2015.

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

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

NOLI, C.; SARIDOMICHELAKIS, M.N. An update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). **Veterinary Journal**, v.202, p.425-35, 2014.

NUNES, D. C. O. et al. In vitro additive interaction between ketoconazole and antimony against intramacrophage *Leishmania (Leishmania) amazonensis* amastigotes. **PLoS ONE**, v.12, p. 1-10, 2017.

OLIVEIRA, T. M. et al. Conjunctival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, p. 220-222, 2015.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Investir para superar o impacto global das doenças tropicais negligenciadas - Terceiro relatório da OMS sobre doenças tropicais negligenciadas. **Geneva: World Health Organization**; 2017.

PAIZ, L. M. et al. Serological Evidence of Infection by *Leishmania (Leishmania) infantum* (Synonym: *Leishmania (Leishmania) chagasi*) in Free-Ranging Wild Mammals in a Nonendemic Region of the State of São Paulo, Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, v.15, p.667-673, 2015.

PAIZ, L. M. et al. Antibodies and Molecular Detection of *Leishmania (Leishmania) infantum* in Samples of Free-Ranging Marmosets (Primates: Callitrichidae: *Callithrix* spp.) in an Area of Canine Visceral Leishmaniasis in Southeastern Brazil. **Vector Borne Zoonotic Diseases**, p.1-6, 2018.

PALTRINIERI, S. et al. Guidelines for diagnosis and clinical classification of leishmaniasis in dogs. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 236, p.1184–1191, 2010.

PALTRINIERI, S. et al. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v.45, p.552-578, 2016.

PANAGIOTIS, X. et al. Prospective evaluation of serum pancreatic lipase immunoreactivity and troponin I concentrations in *Leishmania infantum* infected dogs treated with meglumine antimonate. **Veterinary Parasitology**, v.203; p.326-330, 2014.

PASSOS, S. R. et al. Clinical treatment of cutaneous leishmaniasis in dogs with furazolidone and domperidone. **International Journal of Antimicrobial Agents**, v.44, p.463-465, 2014.

PENNISI, M.G. et al. Efficacy of the treatment of dogs with leishmaniasis with a combination of metronidazole and spiramycin. **Veterinary Record**, v.156, p.346–349, 2005.

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

PITA-PEREIRA, D. et al. Detection of natural infection in *Lutzomyia cruzi* and *Lutzomyia forattinii* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) by *Leishmania infantum chagasi* in an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil using a PCR multiplex assay. **Acta Tropica, Basel**, v. 107, p. 66-69, 2008.

POLZIN, D. J. Evidence-based step-wise approach to managing chronic kidney disease in dogs and cats. **Journal of Veterinary Emergency and Critical Care**, v.23, p.1-11, 2013.

PRESCOTT, S. G. et al. **Fluoroquinolones**. In: Antimicrobial Therapy in Veterinary Medicine, 3rd ed. Iowa State University Press, Ames, IA, pp. 315–338, 2000.

RAMOS, H. et al. Amphotericin B kills unicellular leishmanias by forming aqueous pores permeable to small cations and anions. **Journal of Membrane Biology**, v.152, p.65–75, 1996.

RHALEM, A. et al. Analysis of immune responses in dogs with canine visceral leishmaniasis before, and after, drug treatment. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.71, p.69-76, 1999.

REIS, A. B. et al. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**; v.81, p.68-75, 2006.

REIS, A.B. et al. Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.112, p.102-116, 2006.

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

REY, L. Parasitologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 424p, 2001.

RIBEIRO. Consulta de expertos OPS/OMS sobre Leishmaniasis visceral en las Americas. Brasília, p. 1-137, 2005.

RIBEIRO, V. M. Leishmaniose visceral canina: aspectos de tratamento e controle. **Revista Clinica Veterinária**, v.71, p.66-76, 2007.

RIBEIRO, R. R. et al. Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. **BioMed Research International**, v.2018, p.1-12, 2018.

ROSA, J. S. S.; SANTOS, S. I. A.; PEREIRA, D. C. O Acúmulo De Lixo no Aglomerado da Serra: Uma Visão de Comunidades do Entorno do Parque Municipal das Mangabeira. **Revista Sinapse Ambiental**, v.7, p.27-45, 2010.

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

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

SARIDOMICHELAKIS, M. N. et al. Periodic administration of allopurinol is not effective for the prevention of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in the endemic areas. **Veterinary Parasitology**, v.130, p.199-205, 2005.

SAENZ, R. E.; PAZ, H.; BERMAN, J. D. Efficacy of ketoconazole against *Leishmania braziliensis panamensis* cutaneous leishmaniasis. **American Journal of Medicine**, v.89, p.147-155, 1990.

SHOKRI, A. et al. In vitro antileishmanial activity of novel azoles (3-imidazolylflavanones) against promastigote and amastigote stages of *Leishmania major*. **Acta Tropica**, v.167, p.73-78, 2017.

SILVA, S. M. **Avaliação clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) submetidos a um protocolo terapêutico em uma Clínica Veterinária de Belo Horizonte.** [Dissertação]. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

SILVA, C. B.; LIPORONE, F. Deposição Irregular de Resíduos Sólidos Domésticos em Uberlândia: Algumas Considerações. **Revista Eletrônica de Geografia, Uberlândia**, v.2, p.22-35, 2011.

SLUNT, K. M. et al. Effect of mitonafide analogs on topoisomerase II of *Leishmania chagasi*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.40, p.706-709, 1996.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.1-18, 2009.

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

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Diagnostic Challenges in the Era of Canine *Leishmania infantum* Vaccines. **Trends in Parasitology**, v.33, p.706-717, 2017.

SUNDAR, S. et al. Trial of oral miltefosine for visceral leishmaniasis. **Lancet**, v.352, p.1821-1823, 1998.

SUNDAR, S. et al. Amphotericin B treatment for Indian visceral leishmaniasis: response to 15 daily versus alternate-day infusions. **Clinical Infectious Diseases**, v.45, p.556-561, 2007.

SUNDAR; S.; CHAKRAVARTY, J. Investigational drugs for visceral leishmaniasis. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.24, p.43-59, 2015.

THRALL, M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry.** BOOK, Wiley, 2012.

TRAVI, B. L. et al. Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, v.12, p.1-13, 2018.

TREVISAN, D. A. C.; LONARDONI, V. V. C.; DEMARCHI, I. G. Diagnostic methods to cutaneous leishmaniasis detection in domestic dogs and cats. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, v.90, p.868-872, 2015.

TRIGO, J. et al. Treatment of visceral leishmaniasis by the vaccine Leish-111f+MPL-SE. **Vaccine**, v.28, p.3333-3340, 2010.

TORRECILHA, R. B. P. et al. Correlations between peripheral parasite load and common clinical and laboratory alterations in dogs with visceral leishmaniasis. **Preventive Veterinary Medicine**, v.132, p.83-87, 2016.

TIUMAN, T. S. et al. Recent advances in leishmaniasis treatment. **International Journal of Infectious Diseases**, v.15, p.525-532, 2011.

VEADO, J. C. C. et al. Uso de cetoanálogo na terapia da insuficiência renal canina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia (Online)**, v.54, p.543-545, 2002.

VERMA, N. K.; DEY, C. S. Possible mechanism of miltefosine-mediated death of *Leishmania donovani*. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.48, p.3010-3015, 2004.

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

XIMENES, M. F. F. M. et al. Flebotomíneos (Díptera: Psychodidae) e leishmanioses no Rio Grande do Norte, Nordeste do Brasil – reflexos do ambiente antrópico. **Neotropical Entomology**, v.36, p.128-137, 2007.

WERNECK, G. L. Visceral leishmaniasis in Brazil: rationale and concerns related to reservoir control. **Revista de Saúde Pública**, v.48, p.851-856, 2014.

World Health Organization (WHO). Leishmaniasis: Epidemiological situation, 2016. <<http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en/>> em 06 nov. 2018.

ZOBBA, R. et al. A case of canine neurological leishmaniasis. **Veterinaria Italiana**, v.53 p. 321-326, 2017.

CAPÍTULO I

AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Leishmania infantum* SUBMETIDOS A TERAPIA
COM MARBOFLOXACINA ASSOCIADA AO ALOPURINOL

AVALIAÇÃO CLÍNICO-LABORATORIAL DE CÃES NATURALMENTE
INFECTADOS POR *Leishmania infantum* SUBMETIDOS A TERAPIA COM
MARBOFLOXACINA ASSOCIADA AO ALOPURINOL

RESUMO

A Leishmaniose Visceral é uma doença de caráter zoonótico causada por protozoário denominado *Leishmania infantum*, sendo transmitido aos hospedeiros susceptíveis por insetos hematófagos da subfamília Phlebotominae. O cão é considerado o principal reservatório em áreas urbanas e apresenta sinais clínicos bastantes variáveis e inespecíficos, sendo os mais predominantes as dermatopatias e a linfadenomegalia. Além disso, nessa enfermidade é possível detectar algumas alterações laboratoriais hemato-bioquímicas que podem auxiliar na elaboração do prognóstico da doença. Objetivou-se com esse estudo avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *L. infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol. Foram utilizados 12 cães domiciliados, de ambos os sexos, de raça variadas e idade entre 1 a 7 anos. Os animais foram divididos em dois grupos de tratamento: Grupo 1 (G1) tratados com marbofloxacina (Marbopet® Laboratório CEVA, Brasil) na dose de 2mg/kg/dia PO/28 dias e alopurinol na dose de 10mg/kg BID PO/ 90 dias e Grupo 2 (G2) tratados com marbofloxacina (Marbopet® Laboratório CEVA, Brasil) e alopurinol na mesma posologia, porém o alopurinol iniciou-se após o período de administração da marbofloxacina, ou seja, após o 28º dia. Todos os animais, de ambos os grupos, foram monitorados clinicamente e através de exames hematológicos e bioquímicos nos dias 0, que é o início do tratamento (D0), 30 (D30), 60 (D60) e 90 (D90). Cada parâmetro clínico foi classificado de acordo com sua gravidade em uma escala numérica de 0 a 3. Foram analisados os valores do eritrograma, leucograma, plaquetas e quantificadas as concentrações séricas de Fosfatase Alcalina, Alanina Aminotransferase, Ureia, Creatinina, proteína sérica, albumina e globulina. No grupo G1 a redução dos escores foi de 76,4%, enquanto o grupo G2 apresentou 54,8% de redução. As médias da albumina foram mais elevadas com 90 dias no grupo G1. Em relação as enzimas renais nenhum paciente dos grupos apresentou aumento de ureia e creatinina. O uso da marbofloxacina associada ao alopurinol mostrou ser uma nova opção terapêutica para a Leishmaniose Visceral Canina, uma vez que apresenta poucos efeitos adversos, administração oral e remissão dos sinais clínicos, hematológicos e bioquímicos.

Palavras-chave: Hematologia; Leishmaniose; Sinais clínicos; tratamento.

1. INTRODUÇÃO

No Brasil, a Leishmaniose Visceral (LV) é causada pela *Leishmania infantum*, sendo os vetores mais comuns, o *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi* (LOPES et al., 2017) tendo como os cães domésticos os principais reservatórios em áreas urbanas (BAUM et al., 2015; GUIMARAES et al., 2017; CALDART et al., 2017; MIRÓ e VÉLEZ, 2018).

Nos cães a doença apresenta caráter imunomediada (MAIA e CAMPINO, 2008), e a progressão da infecção nos cães apresenta acentuada resposta humoral com altos títulos de imunoglobulinas e depressão da resposta imunológica celular (CARRILLO e MORENO, 2009), determinando o surgimento de animais assintomáticos ou sintomáticos (MOLINA et al., 1994). Neste sentido, a ativação exacerbada do sistema imune durante a infecção por *L. infantum* tem sido responsabilizada por diversas síndromes associadas a infecção como doença articular, renal, ocular entre outras (SOLANO-GALEGO et al., 2009).

Os sinais clínicos são bastante variáveis e inespecíficos, com predominância de dermatopatias e linfadenomegalias, além de perda de peso, intolerância ao exercício, letargia, poliúria, polidipsia, lesões oculares, epistaxe, onicogribose, debilidade, vômito e diarreia (MIRÓ et al., 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2017).

Por conseguinte, algumas alterações laboratoriais podem ser detectadas e incluem azotemia, proteinúria, hiperproteinemia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, trombocitopenia, anemias e aumento dos valores das enzimas hepáticas (SOLANO-GALEGO et al., 2009). Essas alterações são analisadas através de exames hematológicos e bioquímicos com a finalidade de monitoramento na terapia da LVC, além de auxiliar na elaboração do prognóstico e terapia (GOMEZ-OCHOA et al, 2010, TORRECILHA et al., 2016; BANETH et al., 2018).

No Brasil, desde o ano de 2016, a miltefosina é o único agente leishmanicida autorizado pelo Ministério de Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2016), porém o tratamento com esse fármaco necessita de associações, como o uso de alopurinol para melhor resposta terapêutica, uma vez que seu uso apenas diminui carga parasitária e ocasiona remissão dos sinais clínicos (MANNA et al., 2015; REGUERA et al., 2016).

Portanto, são necessários estudos que englobem mais opções terapêuticas, uma vez que a doença é bastante complexa e há poucos fármacos disponíveis para

a terapia da LVC que contemplem poucos efeitos adversos, administração oral e que promovam cura clínica (SOLANO-GALLEGO et al., 2011; MIRÓ e VÉLEZ, 2018).

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *L. infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1 Aspectos éticos

O projeto foi aprovado pelo Conselho de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) registrado sob o protocolo de número 23082.014015/208-25.

2.2 Animais

Dezenove cães com sinais clínicos de LVC foram selecionados, sendo que 12 participaram do presente estudo. Os cães eram domiciliados, de ambos os sexos, de raça variadas e idade entre um a sete anos, provenientes do serviço ambulatorial do Hospital Veterinário da UFRPE. Todos os pacientes apresentavam pelo menos um sinal clínico sugestivo de LV, além de alterações hematológicas e bioquímicas. Os tutores dos cães foram informados dos procedimentos a serem realizados, por meio da assinatura de um termo de consentimento da pesquisa.

Todos os cães foram submetidos ao teste imunocromatográfico (DPP® – Bio Manguinhos) e posteriormente confirmados através de exames parasitológicos (biópsia de medula óssea, aspirado de linfonodos e citologia esfoliativa de pele) pela visibilidade de formas amastigotas da *L. infantum*.

2.3 Protocolo de tratamento

Os animais foram divididos em dois grupos de tratamento: Grupo 1 (G1) tratados copor via oral durante 28 dias e alopurinol na dose de 10mg/kg a cada 12 horas durante 90 dias e Grupo 2(G2) tratados com marbofloxacina (Marbopet® Laboratório CEVA, Brasil) na dose de 2mg/kg/dia PO durante 28 dias e alopurinol na dose de 10mg/kg BID PO, porém com o início do alopurinol após o período de administração da marbofloxacina, ou seja, após o 28º dia.

Nas terapias de apoio, foram utilizadas apenas anti-inflamatórios (corticosteróides, AINEs) de uso oftálmico para o manejo das lesões oftálmicas causadas pela infecção por *L. infantum*. Coleiras repelentes aos flebotomíneos foram utilizadas nos animais para evitar a reinfecção dos pacientes e como forma de controle da doença.

2.4 Acompanhamento dos animais

Todos os animais, de ambos os grupos, foram monitorados clinicamente e através de exames hematológicos, bioquímicos nos dias zero, que é o início do tratamento (D0), 30 (D30), 60 (D60) e 90 (D90) dias após o tratamento.

2.5 Avaliação clínica

Durante o monitoramento, todos os animais foram avaliados quanto à presença de sinais sistêmicos como dermatopatias, linfadenopatias, sinais oftálmicos, sinais gastrintestinais, distúrbios miccionais, epistaxe e alterações musculoesqueléticas.

Cada parâmetro clínico foi classificado de acordo com sua gravidade em uma escala numérica de 0 a 3, adaptado de Rougier et al (2012), como segue: 0: ausente, 1: leve, 2: moderada e 3: severa. Nos casos de linfadenomegalia e dermatites (ulcerativa, nodular e papular) a classificação foi seguida de: 0: ausente, 1: local e 2: generalizado. A soma das pontuações clínicas foi calculada adicionando os pontos dados a cada um dos 14 parâmetros clínicos listados em cada momento do monitoramento.

2.6 Análises hematimétricas e bioquímicas

Foram coletados 5ml de sangue/animal por meio de venopunção cefálica, jugular ou safena lateral, acondicionadas em microtubos plásticos com solução anticoagulante ácido etilenodiamino tetraacético (EDTA) para a realização de análises hematimétricas e sem EDTA para análises bioquímicas.

Em todos os animais foram realizados hemogramas utilizando um contador automático de células (Labtest SDH-3 vet) seguido da contagem diferencial em estiraços sanguíneos corados pelo método do tipo Romanowsky. Os parâmetros avaliados foram: contagem de eritrócitos, leucócitos (neutrófilos, linfócitos, monócitos

e eosinófilos), volume globular (VG), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) e volume corpuscular médio (VCM).

A análise bioquímica foi realizada através do analisador automático TP-ANALYZER BASIC®, ao qual foram mensuradas os seguintes parâmetros: Ureia, Creatinina, Alanina aminotransferase (ALT) e Fosfatase alcalina (FA), além de Proteína total, Albumina e Globulina.

2.7 Análise Estatística

Para a comparação entre os grupos em relação às variáveis numéricas foi utilizado o teste de Mann-Whitney e o teste de Friedman na comparação entre as avaliações em cada grupo e nas variáveis categóricas foram utilizados simultaneamente os testes Exato de Fisher e Mc-Nemar.

No caso de diferença significativa pelo teste de Friedman foram utilizados testes de comparações múltiplas do referido teste. A margem de erro utilizada na decisão dos testes estatísticos foi de 5%. Os dados foram digitados na planilha EXCEL e o programa utilizado para obtenção dos cálculos estatísticos foi o IBM SPSS na versão 23.

3. RESULTADOS

3.1 Avaliação da eficácia do tratamento

3.1.1 Avaliação clínica antes do tratamento (D0)

No início de tratamento (D0) todos os animais de ambos os grupos apresentavam dermatopatias/linfadenopatias. No G1, os sinais dermatológicos foram: dermatite descamativa 100% (6/6), dermatite ulcerativa 83,3% (5/6) onicogrifose e alopecia 66,6% (4/6), paroníquia e dermatite nodular 33,3% (2/6) e dermatite pustular 16,6% (1/6). Outros sinais estavam presentes como as oftalmopatias 50,0% (3/6), oftalmopatias 16,6% (1/6) e sinais gastrointestinais 16,6% (1/6).

No G2, os sinais dermatológicos foram: dermatite descamativa e alopecia 83,3% (5/6), dermatite ulcerativa e onicogrifose 66,6% (4/6), paroníquia 33,3% (2/6), e dermatite pustular 16,6% (1/6). Além da presença das oftalmopatias 16,6% (1/6).

3.1.2 Avaliação clínica após o tratamento

Após 30 dias do tratamento, os animais do G1 tiveram redução dos escores clínicos de 22,65% com persistência das dermatopatias e linfadenomegalias 100,0% (6/6). Dentre as dermatites, tem-se: dermatite descamativa 83,3% (5/6) onicogrifose 66,6% (4/6), paroníquia e dermatite ulcerativa 16,6% (1/6). As oftalmopatias ainda estavam presentes 33,3% (2/6).

No G2, essa diminuição foi de 23,01%, com a mesma proporção de linfadenomegalias do G1. As dermatopatias foram de 83,3% (5/6), com dermatite descamativa e alopecia 50,0% (3/6) onicogrifose 83,3% (5/6), dermatite pustular, sinais oculares e sinais articulares com 16,6% (1/6).

No D60, os animais do G1 apresentaram uma taxa de redução dos escores clínicos de 57,94%, com persistência de sinais clínicos como: dermatopatias e linfadenomegalias 100,0% (6/6), onicogrifose 66,6% (4/6), dermatite descamativa 50,0% (3/6), e oftalmopatias 16,6% (1/6).

No grupo G2, houve decréscimo de 43,98%, com 83,3% (5/6), dos animais apresentando dermatopatias e linfadenomegalias onicogrifose 83,3% (5/6), alopecia 83,3% (5/6), dermatite descamativa 66,6% (4/6), dermatite pustular e sinais oculares com 16,6% (1/6).

Após os 90 dias, nos animais do G1 a redução dos escores clínicos foi de 76,4% (variação percentual), apenas com persistência da onicogribose 33,3% (2/6) e linfadenopatias 83,3% (5/6). No G2, esse decréscimo foi de 54,8%, ao qual todos os animais persistiram com a linfadenomegalia e alguns com outros sinais como: onicogribose 83,3% (5/6), alopecia (50,0% (3/6), dermatite descamativa 33,3% (2/6) e sinais oculares 16,6% (1/6) (Tabela 1).

Tabela 1 – Percentagens de sinais/alterações clínicas em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.

Sinal /alteração	G1				G2			
	D0	D30	D60	D90	D0	D30	D60	D90
D. Descamativa	100,0%	16,6%	50,0%	50,0%	83,3%	50,0%	66,6%	66,6%
D. Ulcerativa	83,3%	16,6%	-	-	66,6%	-	-	-
Alopecia	66,6%	66,6%	-	-	83,3%	50,0%	83,3%	83,3%
Onicogribose	66,6%	66,6%	66,6%	33,3%	66,6%	83,3%	83,3%	83,3%
D. Nodular	33,3%	-	-	-	-	-	-	-
Paroníquia	33,3%	16,6%	-	-	33,3%	-	-	-
D. Pustular	16,6%	16,6%	-	-	16,6%	16,6%	16,6%	16,6%
Linfadenomegalia	100,0%	100,0%	100,0%	83,3%	100,0%	100,0%	83,3%	83,3%
Oftalmopatias	50,0%	33,3%	16,6%	-	16,6%	16,6%	16,6%	16,6%
Artropatias	16,6%	16,6%	16,6%	-	-	16,6%	-	-
Outros	16,6%	-	-	-	-	-	-	-

Estatisticamente, na avaliação dos escores clínicos não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para nenhum momento das avaliações, as médias reduziram com o tempo de avaliação em cada um dos grupos com diferenças significativas entre as avaliações em cada grupo (Tabela 2).

Tabela 2 – Avaliação dos escores clínicos em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.

Avaliação	Grupo		Valor de p
	Grupo G1 Média ± DP (Mediana)	Grupo G2 Média ± DP (Mediana)	
0 dia	9,17 ± 2,93 (9,00) (A)	8,17 ± 3,31 (9,50) (A)	p ⁽¹⁾ = 1,000
30 dias	6,67 ± 1,63 (6,50) (B)	6,67 ± 3,56 (7,50) (B)	p ⁽¹⁾ = 0,747
60 dias	3,67 ± 0,82 (3,50) (C)	4,67 ± 2,34 (4,50) (C)	p ⁽¹⁾ = 0,217
90 dias	2,00 ± 1,26 (2,00) (D)	3,67 ± 1,75 (3,50) (D)	p ⁽¹⁾ = 0,086
Valor de p	p⁽²⁾ < 0,001*	p⁽²⁾ = 0,001*	
Média variação absoluta			
Dia 0 – 30	2,50	1,50	p ⁽¹⁾ = 0,519
Dia 0 – 60	5,50	3,50	p ⁽¹⁾ = 0,088
Dia 0 – 90	7,17	4,50	p ⁽¹⁾ = 0,072
Média da variação percentual			
Dia 0 – 30	22,65	23,01	p ⁽¹⁾ = 0,974
Dia 0 – 60	57,94	43,98	p ⁽¹⁾ = 0,091
Dia 0 – 90	76,41	54,88	p ⁽¹⁾ = 0,015*

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%

(1) Através do teste Mann-Whitney

(2) Através do teste Friedman.

Em relação às variações (reduções) absolutas e porcentuais ressalta-se que as médias da variação porcentual apresentaram diferenças mais elevadas no grupo G1 nas avaliações com 60 dias e com 90 dias, entretanto a única diferença significativa entre os grupos ocorreu na variação (diferença) de 0 para 90 dias (76,4% para G1 x 54,88% para G2) (Gráfico 1).

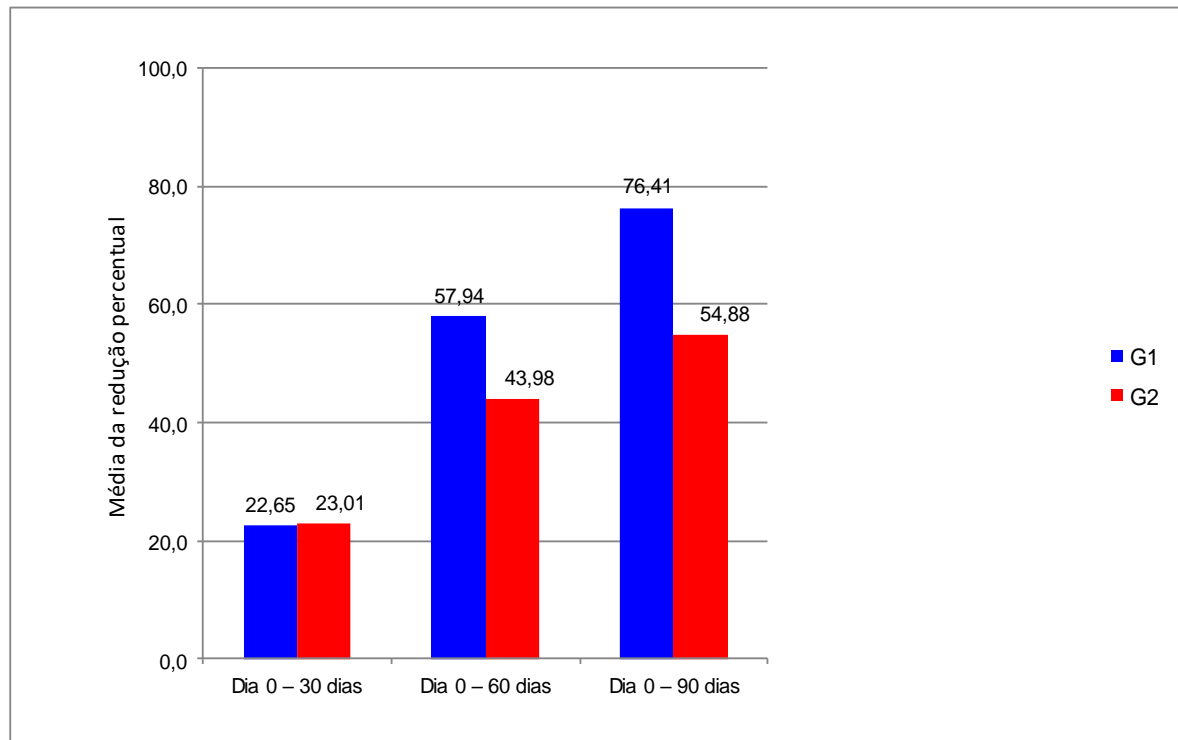


Gráfico 1 – Média da redução percentual entre cada escores clínicos em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol de acordo com grupo estudado.

3.1.3 Análise hematimétrica antes do tratamento (D0)

Em ambos os grupos, no início de tratamento (D0) observou-se a presença de trombocitopenia 66,6% (4/6), enquanto a anemia foi observada em 66,6% (4/6) no G1 e 83,3% (5/6) no G2. Quanto ao tipo de anemia, observou-se no G1 50,0% (2/4) de anemia normocítica normocrômica e 50,0% (2/4) de anemia normocítica hipocrômica. No G2, 80% (4/5) dos animais foi observado anemia normocítica normocrômica, seguido de anemia microcítica hipocrômica 20,0% (1/5).

Os neutrófilos hipersegmentados estavam aumentados apenas no grupo G1 com 16,6% (1/6). A linfopenia estava presente em 33,3% (2/6) dos animais em ambos os grupos. A eosinofilia e a leucopenia não foram observadas em nenhum dos animais dos grupos estudados em início de tratamento. Todos os animais de ambos os grupos apresentavam hiperproteinemia plasmática.

3.1.4 Análise Hematimétrica após o tratamento

Após 30 dias da realização do tratamento, em ambos os grupos, observou-se a presença de trombocitopenia apenas no G2, com a mesma proporção do início de tratamento. A anemia foi observada em ambos os grupos [83,3% (4/6)], sendo que no G1 75% (3/4) apresentavam anemia normocítica normocrômica e 25,0% (1/4) de anemia normocítica hipocrômica. Com relação ao grupo G2, 50,0% (2/4) foi diagnosticada anemia normocítica normocrômica, seguido de anemia normocítica hipocrômica na mesma proporção.

No D30, quanto ao leucograma, a leucocitose e leucopenia não foram observadas em nenhum dos grupos estudados. A eosinopenia e a linfopenia estavam presentes em 33,3% (2/6) no G1, enquanto no G2 apenas a linfopenia 16,6% (1/6). Quanto a eosinofilia, não foi encontrado nenhum animal com a alteração nesse momento. Os neutrófilos hipersegmentados estavam dentro do padrão de referência em ambos os grupos. Todos os animais do G1 apresentaram hiperproteinemia plasmática, enquanto no G2 86,6% (5/6).

Após 60 dias, a trombocitopenia foi observada em apenas um animal do G1 (16,6%), e no G2 a proporção continuava com 66,6% (4/6). A anemia teve uma proporção maior no G2 66,6% (4/6) e G1 33,3% (2/6). Dos animais que persistiram a anemia no G1, 100,0% (2/2) do tipo anemia normocítica hipocrômica, enquanto no G2 75,0% (3/4) anemia normocítica normocrômica e 25,0% anemia normocítica hipocrômica.

No leucograma (D60), observou-se a leucocitose por neutrofilia absoluta apenas no G2 33,3% (2/6), enquanto que a leucopenia por neutropenia absoluta foi observada no G1 16,1% (1/6). A eosinopenia foi de 16,6% (1/6) em ambos os grupos, enquanto a eosinofilia não estava presente. A linfopenia foi observada apenas no G2 33,3% (2/6). Todos os animais de ambos os grupos apresentavam hiperproteinemia plasmática.

Dos animais que apresentavam algum tipo de anemia no início de tratamento (D0) foi observado que após 90 dias de tratamento no G1 100,0% (4/4) dos animais não apresentava um quadro de anemia, ao passo que no G2 a anemia estava presente em 40,0% (2/5) dos pacientes. O número de plaquetas normalizou em todos os animais no 90º dia no G1, e no grupo G2 25,0% (1/4) ainda apresentavam trombocitopenia.

Os neutrófilos hipersegmentados estavam diminuídos apenas no grupo G2 com 16,6% (1/6) após 90 dias. No mesmo grupo observou-se uma neutrofilia absoluta 16,6% (1/6). Os valores de linfócitos foram normalizados no 90º dia no G2, porém no G1 estava presente 16,6% (1/6). A eosinofilia e eosinopenia não foram encontrados no G1, ao passo que no G2 foi de 16,6% (1/6).

Dos animais do G1 que apresentavam hiperproteinemia plasmática no D0, apenas um animal 16,6% (1/6) apresentou valores de proteína plasmática dentro do valor de referência. No G2, 100,0% (6/6) dos pacientes apresentavam a hiperproteinemia pós 90 dias.

Observa-se que ocorreram diferenças entre as avaliações da proteína plasmática no grupo G1, ao qual se destaca que: a média da proteína foi menor na avaliação com 90 dias (9,15) e variou de 10,52 a 10,93 nas outras três avaliações e pelos testes de comparações múltiplas se comprova diferença significativa entre 90 dias e as outras avaliações.

Não foram registradas diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das avaliações das variáveis hematimétricas analisadas (Tabela 2).

Tabela 3 – Avaliação dos índices hematimétricos em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.

Variável	Avaliação	Grupo		Valor de p
		G1 Média ± DP (Mediana)	G2 Média ± DP (Mediana)	
Hemácias	D0	5,24 ± 1,29 (5,60)	5,27 ± 1,22 (5,34)	p ⁽¹⁾ = 1,000
	D30	5,43 ± 1,00 (5,10)	5,10 ± 1,49 (5,25)	p ⁽¹⁾ = 0,810
	D60	5,68 ± 0,65 (5,70)	5,33 ± 1,22 (5,45)	p ⁽¹⁾ = 0,423
	D90	6,43 ± 0,75 (6,05)	5,68 ± 0,96 (6,00)	p ⁽¹⁾ = 0,335
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,062	p ⁽²⁾ = 0,613	
Hemoglobina	D0	10,39 ± 2,81 (10,45)	0,14 ± 2,05 (10,05)	p ⁽¹⁾ = 0,810
	D30	10,80 ± 2,01 (10,30)	10,95 ± 4,41 (10,20)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D60	11,40 ± 1,95 (11,85)	10,73 ± 2,74 (10,90)	p ⁽¹⁾ = 0,423
	D90	12,77 ± 1,23 (12,50)	11,65 ± 2,92 (12,30)	p ⁽¹⁾ = 0,631
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,059	p ⁽²⁾ = 0,284	
Hematócrito	D0	33,83 ± 8,84 (35,00)	33,33 ± 7,81 (34,50)	p ⁽¹⁾ = 0,806
	D30	35,00 ± 5,93 (33,00)	33,33 ± 8,91 (33,00)	p ⁽¹⁾ = 0,810
	D60	37,50 ± 5,09 (38,50)	35,33 ± 7,92 (36,50)	p ⁽¹⁾ = 0,522
	D90	39,50 ± 3,21 (38,00)	37,83 ± 6,15 (41,00)	p ⁽¹⁾ = 0,808
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,456	p ⁽²⁾ = 0,543	
Plaquetas	D0	208916,67 ± 79403,03 (175000,00)	219916,67 ± 155896,89 (156500,00)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D30	250666,67 ± 67724,93 (225000,00)	189333,33 ± 112908,22 (154000,00)	p ⁽¹⁾ = 0,078
	D60	225000,00 ± 35637,06 (225000,00)	226000,00 ± 122688,22 (214000,00)	p ⁽¹⁾ = 0,748
	D90	248000,00 ± 34438,35 (245000,00)	244333,33 ± 91217,69 (200000,00)	p ⁽¹⁾ = 0,462
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,274	p ⁽²⁾ = 0,491	
Leucócitos	D0	10950,33 ± 2446,29 (11455,0)	1274,00 ± 4050,59 (10337,50)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D30	8825,00 ± 1265,25 (8890,00)	1056,67 ± 4949,69 (10065,00)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D60	11289,00 ± 4076,33 (12435,00)	2480,00 ± 4846,18 (11450,00)	p ⁽¹⁾ = 0,873
	D90	9989,00 ± 3070,23 (10250,00)	10626,67 ± 3295,13 (10045,00)	p ⁽¹⁾ = 0,873
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,311	p ⁽²⁾ = 0,273	
Neutrófilos	D0	8842,00 ± 2048,57 (8203,00)	8097,00 ± 1689,68 (8068,50)	p ⁽¹⁾ = 0,423
	D30	6453,33 ± 1640,46 (6002,00)	8315,00 ± 4006,33 (8171,50)	p ⁽¹⁾ = 0,631
	D60	8935,00 ± 4190,84 (9441,50)	9699,00 ± 4462,21 (7627,00)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D90	7710,00 ± 3265,67 (7973,00)	8110,67 ± 3555,79 (7655,50)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,236	p ⁽²⁾ = 0,267	
Eosinófilos	D0	393,67 ± 305,83 (320,50)	500,43 ± 418,03 (391,50)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	D30	286,00 ± 421,57 (140,00)	381,67 ± 265,29 (310,00)	p ⁽¹⁾ = 0,261
	D60	227,00 ± 217,84 (141,50)	583,00 ± 435,63 (542,00)	p ⁽¹⁾ = 0,055
	D90	449,67 ± 411,82 (339,50)	320,50 ± 314,80 (181,00)	p ⁽¹⁾ = 0,575
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,564	p ⁽²⁾ = 0,227	
Linfócitos	D0	1620,50 ± 1249,85 (1801,00)	1985,50 ± 2328,20 (1318,50)	p ⁽¹⁾ = 0,873
	D30	1788,67 ± 1173,17 (1819,50)	1389,83 ± 883,22 (1207,00)	p ⁽¹⁾ = 0,873
	D60	1692,67 ± 826,40 (1499,00)	1473,33 ± 821,64 (1535,50)	p ⁽¹⁾ = 0,631
	D90	1423,50 ± 463,18 (1318,00)	2100,00 ± 729,24 (1947,50)	p ⁽¹⁾ = 0,149
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,974	p ⁽²⁾ = 0,387	
PPT	D0	10,93 ± 1,27 (11,40) ^(A)	9,43 ± 1,89 (8,80)	p ⁽¹⁾ = 0,146
	D30	10,52 ± 1,87 (11,40) ^(A)	9,50 ± 1,35 (9,00)	p ⁽¹⁾ = 0,421
	D60	10,82 ± 1,19 (10,80) ^(A)	9,80 ± 1,40 (10,00)	p ⁽¹⁾ = 0,106
	D90	9,15 ± 0,88 (9,40) ^(B)	9,53 ± 1,53 (8,65)	p ⁽¹⁾ = 0,748
	Valor de p	p ⁽²⁾ = 0,003*	p ⁽²⁾ = 0,613	

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%

3.1.5 Análise bioquímica antes do tratamento (D0)

No G1, 66,6% (4/6) dos animais apresentavam hipoalbuminemia, enquanto que no G2 o valor foi de 83,3% (5/6). A hiperglobulinemia esteve presente em 66,6% (4/6) nos animais do G1, ao passo que no G2 essa alteração foi presente em 83,3% (5/6).

No grupo G1, 50,0% (3/6) dos animais foi evidenciado elevação da enzima fosfatase alcalina e no G2 esse valor foi de 33,3% (2/6). Em relação aos metabolitos renais, houve aumento da ureia 66,6% (4/6) no G1 e 33,3% (2/6) no G2, porém ambos sem alteração do valor de creatinina (Tabela 3).

3.1.6 Análise bioquímica após o tratamento

Após 30 dias de tratamento, apenas 16,6% (1/6) apresentavam a albumina dentro dos valores de referência (KANEKO et al, 2008). Os valores de proteína sérica estavam normais apenas no G2 16,6% (1/6). A hiperglobulinemia esteve presente em ambos os grupos, com 100% (6/6) no G1 e 16,6% (1/6) no G2.

O aumento da ALT foi observada apenas no G2 16,6% (1/6) no D30, enquanto no mesmo grupo o aumento de fosfatase alcalina (FA) representou 50,0% (3/6). A ureia estava aumentada em 50,0% (3/6) no G1 e 33,3% (2/6) no G2, porém ambos sem alteração do valor de creatinina.

No D60, a proporção de albumina normal foi de 50,0% (3/6) no G1, enquanto o G2 permaneceu com a mesma proporção do D30. Os valores de proteína sérica estavam normais apenas no G2 16,6% (1/6). A hiperglobulinemia esteve presente em ambos os grupos na mesma proporção do D30.

Ao termino de 90 dias de tratamento, 83,3% (5/6) dos pacientes do G1 apresentaram valores de albumina dentro do padrão de referência (KANEKO et al, 2008). No G2, essa porcentagem foi de 50,0% (3/6). A hiperglobulinemia esteve presente em 100,0% (6/6) dos animais do G1 e 83,3% (5/6) no G2.

Em ambos os grupos 16,6% (1/6) dos animais apresentaram aumento da enzima FA, com nenhuma alteração dos valores de ALT. Em relação as enzimas renais nenhum paciente dos grupos apresentou aumento de ureia e creatinina.

Estatisticamente, ocorreram diferenças entre as avaliações da albumina em ambos os grupos e as médias da albumina foram mais elevadas com 90 dias (3,00 no grupo G1 e 2,72 no grupo G2), seguida da avaliação com 60 dias (2,68 no G1 e 2,07

no grupo G2) e menos elevadas na avaliação com 30 dias. Os testes de comparações múltiplas mostraram diferenças significativas entre 30 e 90 dias no grupo G1 e entre as duas primeiras avaliações e as duas últimas (0 e 30 dias diferentes de 60 e 90 dias).

Tabela 4 – Avaliação da bioquímica sérica em cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associado com alopurinol, de acordo com grupo estudado.

Variável	Avaliação	Grupo		Valor de p
		G1 Média ± DP (Mediana)	G2 Média ± DP (Mediana)	
Ureia	0 dia	57,12 ± 25,12 (61,05)	47,88 ± 31,99 (37,60)	p ⁽¹⁾ = 0,337
	30 dias	52,67 ± 21,52 (53,85)	48,43 ± 19,43 (41,05)	p ⁽¹⁾ = 0,873
	60 dias	44,33 ± 7,89 (41,25)	58,03 ± 31,41 (58,25)	p ⁽¹⁾ = 0,200
	90 dias	51,72 ± 9,76 (52,15)	47,50 ± 15,32 (49,70)	p ⁽¹⁾ = 1,000
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,327	p⁽²⁾ = 0,740	
Creatinina	0 dia	1,00 ± 0,17 (0,95)	0,88 ± 0,13 (0,80)	p ⁽¹⁾ = 0,156
	30 dias	1,07 ± 0,20 (1,00)	0,95 ± 0,18 (0,90)	p ⁽¹⁾ = 0,289
	60 dias	1,10 ± 0,14 (1,10)	0,98 ± 0,19 (0,95)	p ⁽¹⁾ = 0,223
	90 dias	1,05 ± 0,22 (1,10)	1,03 ± 0,24 (1,00)	p ⁽¹⁾ = 0,805
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,858	p⁽²⁾ = 0,660	
ALT	0 dia	33,23 ± 8,71 (32,25)	50,08 ± 35,56 (41,95)	p ⁽¹⁾ = 0,520
	30 dias	44,18 ± 17,20 (39,25)	95,70 ± 140,68 (40,10)	p ⁽¹⁾ = 0,810
	60 dias	34,27 ± 7,77 (31,35)	37,22 ± 22,95 (34,90)	p ⁽¹⁾ = 0,748
	90 dias	46,52 ± 22,84 (40,15)	36,88 ± 16,55 (33,80)	p ⁽¹⁾ = 0,470
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,550	p⁽²⁾ = 0,829	
Fosfatase alcalina	0 dia	153,80 ± 36,14 (154,40)	186,15 ± 143,23 (120,35)	p ⁽¹⁾ = 0,522
	30 dias	134,65 ± 23,17 (133,75)	354,60 ± 301,71 (261,15)	p ⁽¹⁾ = 0,423
	60 dias	136,60 ± 20,07 (132,35)	167,43 ± 98,90 (122,50)	p ⁽¹⁾ = 0,749
	90 dias	143,18 ± 31,68 (136,45)	114,70 ± 32,99 (107,00)	p ⁽¹⁾ = 0,109
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,769	p⁽²⁾ = 0,061	
Proteína do soro	0 dia	9,33 ± 2,13 (8,70)	10,88 ± 4,36 (9,45)	p ⁽¹⁾ = 0,522
	30 dias	10,23 ± 1,94 (9,85)	13,22 ± 5,51 (11,90)	p ⁽¹⁾ = 0,470
	60 dias	9,12 ± 1,51 (8,80)	10,05 ± 2,40 (10,30)	p ⁽¹⁾ = 0,574
	90 dias	8,68 ± 0,75 (8,90)	8,40 ± 0,80 (8,65)	p ⁽¹⁾ = 0,519
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,299	p⁽²⁾ = 0,138	
Albumina	0 dia	2,25 ± 0,82 (2,10) ^(AB)	1,78 ± 0,56 (1,65) ^(A)	p ⁽¹⁾ = 0,297
	30 dias	1,92 ± 0,78 (1,80) ^(A)	1,75 ± 0,62 (1,60) ^(A)	p ⁽¹⁾ = 0,747
	60 dias	2,68 ± 0,95 (2,80) ^(BC)	2,07 ± 0,47 (2,00) ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0,296
	90 dias	3,00 ± 0,51 (2,75) ^(C)	2,72 ± 0,70 (2,55) ^(B)	p ⁽¹⁾ = 0,226
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,018*	p⁽²⁾ = 0,036*	
Globulina	0 dia	7,08 ± 2,82 (6,60)	9,53 ± 4,63 (8,70)	p ⁽¹⁾ = 0,423
	30 dias	8,32 ± 2,57 (8,45)	11,37 ± 6,15 (10,00)	p ⁽¹⁾ = 0,521
	60 dias	6,43 ± 1,86 (5,80)	7,98 ± 2,50 (8,45)	p ⁽¹⁾ = 0,294
	90 dias	5,68 ± 0,73 (5,65)	5,68 ± 1,45 (6,20)	p ⁽¹⁾ = 0,630
	Valor de p	p⁽²⁾ = 0,250	p⁽²⁾ = 0,259	

(*) Diferença significativa ao nível de 5,0%.

4. DISCUSSÃO

No início de tratamento, todos os animais de ambos os grupos apresentavam dermatopatias e linfadenopatias. Essas alterações dermatológicas ocorrem na maioria dos casos de LVC e demonstram o comprometimento da epiderme, derme e hipoderme em associação aos anexos cutâneos, devido a presença do parasito (GENARO, 1993; SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007). Noli (1999) considera a linfadenopatia um dos sinais clínicos mais consistentes, embora possa estar ausente ocasionalmente.

Ao término dos 90 dias, observou-se que os animais tiveram redução clínica, porém com persistência de sinais clínicos como a onicogribose e as linfadenomegalias. A onicogribose é uma característica bem marcante, que ocorre pela estimulação da matriz ungueal decorrente do parasito ou pelo resultado da apatia do animal doente, impedindo seu desgaste natural (SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

Em um estudo realizado por Castro et al. (2012) a linfadenomegalia foi o sinal clínico mais presente (41,6%), seguido de onicogribose (38,8%), o que pode ser observado em diversos outros estudos que também apontam a linfadenomegalia como o sinal clínico mais presente juntamente com as dermatopatias (DIAS, 2008; FREITAS et al., 2012; PALTRINIERI et al., 2016).

As oftamopatias presentes em ambos os grupos numa proporção menor em relação aos demais sinais clínicos, são comumente descritas (16% a 80,5%) em cães com LV e frequentemente associadas a sinais sistêmicos da doença (PENA et al., 2000; GREENE, 2012). O comprometimento articular encontrado no D0 foi pouco evidenciado como descrevem estudos anteriores (SILVA, 2007; NOGUEIRA, 2007).

Os sinais gastrointestinais foram pouco evidentes, com a presença apenas no grupo G1, que corrobora com estudos anteriores (AMUSATEGUI et al., 2003; DENEROLLE, 1996). Porém, avaliações mostram que essas alterações podem acontecer numa proporção maior (20 - 59%) (FEITOSA et al., 2000; ZARAGOZA et al., 2003;).

Após 30 e 60 dias, todos os animais tiveram persistência das dermatopatias e linfadenomegalias, mas com remissão dos outros sinais clínicos mencionados anteriormente, principalmente no G1.

A melhora clínica observada durante os 90 dias no G1 discorda com resultados descritos por Rougier et al, (2012), no qual a soma dos escores clínicos diminuiu em 61% entre o início de tratamento e o terceiro mês. Entretanto, no G2, os dados

corroboram com o autor mencionado. É provável que a diferença aqui encontrada seja pelo fato de que Rougier et al. (2012) utilizou apenas a marbofloxacina.

Porém, sabe-se que há uma persistência do efeito terapêutico após o 28º da marbofloxacina, ao qual pode ser atribuído às propriedades imunomoduladoras do fármaco (SHALIT e DALHOFF 2003; VOULDOUKIS et al., 2006; ROUGIER et al., 2008).

Nesse estudo foi encontrado uma alteração bastante comum na LVC, que é a anemia, podendo ser relacionada há vários fatores, como hemorragia, hemólise, insuficiência renal crônica, hipoplasia ou aplasia medular e diminuição da fluidez da membrana lipídica do eritrócito (DE LUNA et al., 2000; AMUSATEGUI et al., 2003; COSTA-VAL et al, 2007; PALTRINIERI et al., 2016).

No G1, com o tratamento houve aumento das variáveis: hematócrito, hemoglobina e hemácias, dessa forma, o protocolo foi responsivo à anemia. Enquanto que no G2, alguns animais permaneceram com a anemia, o que pode ser explicado pela cronicidade da doença e resposta individual do paciente. Rougier et al. (2012), observaram em seu trabalho o qual utilizou a marbofloxacina isoladamente, pouca melhora nos quadros de anemia.

A neutrofilia, devido a uma resposta sistêmica inflamatória, pode estar presente e particularmente proeminente em casos com dermatite ulcerativa e infecção bacteriana secundária (NICOLATO et al., 2013).

Por outro lado, alterações morfológicas quantitativas ou qualitativas em outras populações de leucócitos são menos comuns, embora linfopenia, linfocitose ou eosinofilia sejam ocasionalmente descritas (NICOLATO et al., 2013). A linfocitose foi observada apenas no G2, normalizando após o D90. Este fato pode ocorrer devido a inflamação crônica no paciente (HARVEY, 2012). Outros estudos relatam que cães naturalmente infectados por *L. infantum* com baixa carga parasitária, mostraram um aumento valores absolutos de monócitos e linfócitos, quando comparados com cães altamente parasitados (REIS et al., 2006; ROATT et al., 2017)

A trombocitopenia foi outro achado bem comum entre os grupos, sendo causada pela destruição periférica imunomediada das plaquetas circulantes (CORTESE, et al., 2009; CORTESE, et al., 2011). Em ambos os grupos houve normalização nos valores de plaquetas, que pode ser observado em estudos anteriores (ROUGIER et al., 2008; ROUGIER et al., 2012).

Ambos os grupos de tratamentos, apresentaram hiperproteinemia plasmática durante todo o estudo, sendo essa alteração relacionada ao aumento de globulinas e desidratação, frequentemente associada a doenças inflamatórias crônicas (THRALL et al., 2012).

Quanto aos alterações da bioquímica sérica relacionadas à LVC, foi observado estabilização nos valores de referência durante os 90 dias, principalmente em relação ao aumento da albumina em ambos os grupos, sendo que no grupo G1 esse aumento foi maior com aumento da relação A/G. Estudos anteriores estão de acordo com esses dados (KOUTINAS et al., 2001; VALLADARES et al., 2001; ROUGIER et al., 2012).

Em relação aos metabólitos renais, nenhum paciente dos grupos no D90 apresentou aumento de ureia e creatinina, concordando com ensaios clínicos prévios, nos quais não foi verificado aumento da creatinina (ROATT et al., 2017).

A combinação da redução dos sinais clínicos e normalização das alterações hemato-bioquímicas permitem confirmar a eficácia da marbofloxacina no tratamento de LVC (KARGIN et al., 2004). Além disso, a melhora no estado clínico do animal é o principal critério para avaliar a eficácia do tratamento (ROUGIER et al., 2012).

Em um estudo anterior (ROUGIER et al., 2012), o tratamento com marbofloxacina mostrou um caminho bastante encorajador no tratamento da LVC, o que se confirma com o presente estudo, ao qual após 90 dias de acompanhamento, os grupos de tratamento tiveram boa eficácia, porém o G1 foi superior, devido a uma maior remissão dos sinais clínicos, melhora nos valores hemato-bioquímicos e aumento dos valores de albumina.

O tratamento da LVC com marbofloxacina associada ao alopurinol traz uma nova opção a ser utilizada, uma vez que contempla pontos primordiais no protocolo terapêutico: administração oral, poucos efeitos adversos, redução dos sinais clínicos e conseqüentemente redução da capacidade infectante. O que torna uma associação segura a ser utilizada em cães com LV.

5. CONCLUSÃO

O uso da marbofloxacina associada ao alopurinol mostrou ser uma nova opção terapêutica a ser utilizada no protocolo terapêutico da Leishmaniose Visceral Canina, uma vez que apresenta poucos efeitos adversos, administração oral, remissão dos sinais clínicos e normalização dos valores hematológicos e bioquímicos.

Ambos grupos de tratamento tiveram boa eficácia, porém o G1 foi superior, devido a uma maior remissão dos sinais clínicos, melhora nos valores hemato-bioquímicos e aumento dos valores de albumina

REFERÊNCIAS

- AMUSATEGUI, I. et al. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, v.18, p.147-156, 2003.
- BANETH, G. et al. Renal dialysis and long-term treatment of a dog with kidney disease associated with canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v.151, p.2-5, 2018.
- BAUM, M. et al. Molecular detection of the blood meal source of sand flies (Diptera: Psychodidae) in a transmission area of American cutaneous leishmaniasis, Paraná State, Brazil. **Acta Tropica**, v.143, p.8-12, 2015.
- CALDART, E. T. et al. *Leishmania* in synanthropic rodents (*Rattus rattus*): new evidence for the urbanization of *Leishmania (Leishmania) amazonensis*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.26, p.17-27, 2017.
- CARRILLO, E. MORENO J. Cytokine profiles in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.128, p.67-70. 2009.
- CASTRO, I. P. et al. Perfil hepático e protéico em cães com leishmaniose visceral. **Bioscience Journal** v.28, p.799-804, 2012.
- CORTESE, L. et al. Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v.164 p.778-782, 2009.
- CORTESE, L. et al. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally coinfecting by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. **Veterinary Journal**, v.188 p.118-121, 2011.
- COSTA-VAL, A. P. et al. Canine visceral leishmaniasis: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. **Veterinary Journal**, v.174, p.636-643, 2007.
- DALHOFF, A., SHALIT, I. Immunomodulatory effects of quinolones. **Lancet Infectious Diseases**, v.3, p. 359-371, 2003.
- DE LUNA, R. et al. Decreased lipid fluidity of the erythrocyte membrane in dogs with leishmaniasis-associated anaemia. **Journal of Comparative Pathology**, v.122, p.213-216, 2000.
- DENEROLLE, P. Leishmaniose canine: difficultés du diagnostic et du traitement (125 cas). **Pratique Médicale et Chirurgicale de L'Animal de Compagnie**, v. 31, p.137-145, 1996.
- DIAS C. A. **Estudo das alterações clínico-laboratoriais e histopatológicas renais em cães com Leishmaniose Visceral naturalmente infectados no Distrito Federal**. Brasília, 2008. 82p.: il. Dissertação de Mestrado (M) – Universidade de Brasília/Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, 2008.

FEITOSA, M. M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba- SP, Brasil. **Clínica Veterinária**, v.5, n. 28, p.36-44, 2000.

FREITAS, J. C. C. et al. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.5, p.24-29, 2012.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. 220f. Tese (Doutorado em Parasitologia) - Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 1993.

GÓMEZ-OCHOA, P. et al. The nitroblue tetrazolium reduction test in canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.172, p.135-138, 2010.

GREENE, C. E. **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4. ed. [s.l.] Elsevier/Saunders, 2012.

GUIMARAES, A. et al. Serosurvey for canine visceral leishmaniasis in rural and urban areas of the Brazilian Legal Amazon. **The Brazilian Journal of Infectious Diseases**, v. 21, p.207-208, 2017.

HARVEY, J. W. **Veterinary Hematology: A Diagnostic Guide and Color Atlas**. BOOK, Elsevier/Saunders, 2012.

KANEKO, J. et al. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals** 6th Edition. BOOK, Elsevier/Saunders, 2008.

KARGIN, F. K. et al. Some haematological, biochemical and electrophoretic findings in dogs with visceral leishmaniosis. **Revue de Médecine Vétérinaire**, v.155, p.226-229, 2004.

KOUTINAS, A. F. et al. A randomised, blinded, placebo-controlled clinical trial with allopurinol in canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.98, p.247-26, 2001.

LOPES, E. G. et al. Serological and molecular diagnostic tests for canine visceral leishmaniasis in Brazilian endemic area: one out of five seronegative dogs are infected. **Epidemiology and Infection**, v.145, p.2436-2444, 2017.

SILVA, S. M. **Avaliação clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) submetidos a um protocolo terapêutico em uma Clínica Veterinária de Belo Horizonte**. [Dissertação]. Belo Horizonte: Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Veterinary Parasitology**, v.158, p.274-287, 2008.

MANNA, L. et al. Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. **Parasites & vectors**, v.289, p.1-9, 2015.

MINISTÉRIO DE AGRICULTURA PECUÁRIA E ABASTECIMENTO (MAPA). **Nota Técnica Nº 11/2016/Cpv/Dfip/Sda/Gm/MapaNota Técnica**. [s.l: s.n.], 2016. Disponível em: <<http://www.sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2016/09/nota-tecnica.pdf>> Acesso em 05 de novembro de 2018.

MIRÓ, G. et al. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. **Trends in Parasitology**, v.24, p.371-377, 2008.

MIRÓ, G.; VÉLEZ, R. L. Clinical management of canine leishmaniosis versus human leishmaniosis due to *Leishmania infantum*: Putting “One Health” principles into practice. **Veterinary Parasitology**, v.254, p.151-159, 2018.

MOLINA, R. et al. Infectivity in dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. **Transactions Royal of Society Tropical Medicine and Hygiene**, v.88, p.491-493, 1994.

NICOLATO, R. C. et al. Clinical forms of canine visceral Leishmaniasis in naturally *Leishmania infantum* infected dogs and related myelogram and hemogram changes. **PLoS ONE**, v.8, p.1-9, 2013.

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

NOLI, N. Canine Leishmaniasis. **Waltham Focus**, v.9, p.16-24, 1999.

PALTRINIERI, S. et al. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v.45, p.552-578, 2016.

PENA, M. T.; ROURA, X.; DAVIDSON, M. G. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dogs: 105 cases (1993-1998). **Veterinary Ophthalmology**, v.3, p.35-41, 2000.

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

REIS, A. B. et al. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**; v.81, p.68-75, 2006.

ROATT, B. M. et al. A Vaccine Therapy for Canine Visceral Leishmaniasis Promoted Significant Improvement of Clinical and Immune Status with Reduction in Parasite Burden. **Frontiers in Immunology**, v.8, p.1-14, 2017.

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

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

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.1-18, 2009.

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

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Diagnostic Challenges in the Era of Canine *Leishmania infantum* Vaccines. **Trends in Parasitology**, v.33, p.706-717, 2017.

VALLADARES, J. E. et al. Long term improvement in the treatment of canine leishmaniosis using an antimony liposomal formulation. **Veterinary Parasitology**, v.97, p.15-21, 2001.

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

THRALL, M. A. et al. **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. BOOK, Wiley, 2012.

TORRECILHA, R. B. P. et al. Correlations between peripheral parasite load and common clinical and laboratory alterations in dogs with visceral leishmaniasis. **Preventive Veterinary Medicine**, v.132, p.83-87, 2016.

ZARAGOZA, C. et al. SDS-PAGE and western blot urinary proteins in dogs with leishmaniasis. **Veterinary Research**, v. 34, p. 137-151, 2003.

ANEXOS I

Tabela 1. Valores hematológicos normais de referência em cães

Parâmetros	Unidades	Intervalo de referência
Eritrócitos	x10 ⁶ /µl	5,5 – 8,5
Hemoglobina	g/dL	12,0 – 18,0
Hematócrito (VG)	%	37 - 55
VCM	fL	60 - 77
CHCM	%	32 - 36
Reticulócitos	%	0,0 – 1,5
Leucócitos	/µl	6.000 – 17.000
Neutrófilos	/µl	3.000 – 11.500
Linfócitos	/µl	1.000 – 4.800
Monócitos	/µl	150 – 1.350
Eosinófilos	/µl	100 – 1.250
Basófilos	/µl	Raros
Plaquetas	/µl	200.000 – 500.000
Proteína plasmática	(g/dl)	5,5 – 8,0

Fonte: KANEKO, J.J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals (2008)

Tabela 2. Valores bioquímicos normais de referência em cães

Parâmetros	Unidades	Intervalo de referência
FA	U/L	20 - 156
ALT	U/L	21 - 102
Creatinina	mg/dL	0,5 – 1,5
Ureia	mg/dL	21 - 60
Albumina	g/dL	2,6 – 3,3
Globulina	g/dL	2,7 – 4,4
Proteínas totais séricas	g/dL	5,4 – 7,1
Relação Albumina:Globulina	-	0,59 – 1,11

Fonte: KANEKO, J.J. Clinical Biochemistry of Domestic Animals (2008)

ANEXOS II

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS GRADUAÇÃO**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Convidamos o (a) Sr (a) para participar da Pesquisa intitulada (Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia com marbofloxacina associada ao alopurinol), sob a responsabilidade do pesquisador (Janilene de Oliveira Nascimento), a qual pretende (Avaliar os aspectos clínicos e laboratoriais de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum* submetidos a terapia mencionada). Sua participação com seu animal é voluntária. Se você aceitar participar, os resultados decorrentes do estudo com seu (s) animal (is) estará contribuindo para a inovação de opções terapêuticas eficazes a ser utilizada no tratamento da Leishmaniose Visceral Canina. Se depois de consentir em sua participação o (a) Sr (a) desistir de continuar participando, tem o direito e a liberdade de retirar seu consentimento em qualquer fase da pesquisa, seja antes ou depois da coleta dos dados, independente do motivo e sem prejuízo a sua pessoa. Os resultados da pesquisa serão analisados e publicados, mas sua identidade e de seu (s) animal (is) não serão divulgadas, sendo guardada em sigilo.

Consentimento Pós-Informação



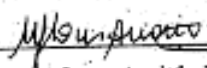
Eu, _____, fui informado sobre o projeto que o pesquisador quer fazer e porque precisa da minha colaboração, e entendi a explicação. Por isso, eu concordo em participar do projeto.

Data: ___/___/____

Assinatura do participante

Assinatura do Pesquisador Responsável

ANEXOS III

 UFRPE	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO Rua Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos - CEP: 52171-900 - Recife/PE	 CEUA - UFRPE Aprovado em <u>20/03/2019</u> Validade <u>30/03/2021</u>
Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA G 402.1 Licença condicional para o uso de animais em experimentação e/ou ensino		
A Comissão de ética no uso de animais CEUA da Universidade Federal Rural de Pernambuco, no uso de suas atribuições, autoriza a execução do projeto discriminado abaixo. O presente projeto também se encontra de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11794/2008.		
Número da licença	011/2019	
Número do processo	23082.014015/2018-25	
Data de emissão da licença	20 de março de 2019	
Título do Projeto	Aspectos clínicos, carga parasitária e coinfeção em cães naturalmente infectados por <i>Leishmania infantum</i> submetidos a tratamento experimental	
Finalidade (Ensino, Pesquisa, Extensão).	Pesquisa	
Responsável pela execução do projeto	Lêucio Camara Alvès	
Colaboradores	Winy Gomes de Oliveira Silva, Janelene de Oliveira Nascimento, Maria Vanuza Nunes Meireles, Jéssica Cristiane Mazer Bernad, Jaqueline Bianque Oliveira, Rafael Antonio do Nascimento Ramos, Edna Michelly de Sá Santos, Talita Nayara Bezerra-Lins	
Tipo de animal e quantidade total autorizada	Cão macho e fêmea 200. Total: 200	
 Prof.ª Dr.ª Marleyne José Afonso Accioly Lins (Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais- CEUA/UFRPE)		Prof.ª Dr.ª Marleyne Amorim Presidente CEUA/UFRPE SIAPE 384877 Amorim

APÊNDICE

FICHA DE ACOMPANHAMENTO – PROJETO MARBOFLOXACINA

DIA: _____

Data: ____/____/____

Ficha: _____

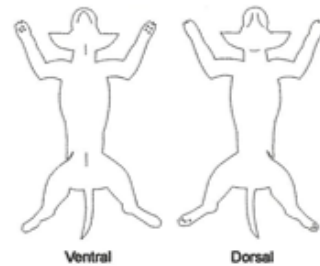
Nome do animal: _____ Tutor: _____

Peso: _____

EXAME FÍSICO

Exame dermatológico

- a) Alopecia () Ausente () suave () Moderado () severo
 b) Onicogribose () Ausente () suave () Moderado () severo
 c) Paroníquia () Ausente () suave () Moderado () severo
 d) D. descamativa () Ausente () suave () Moderado () severo
 e) D. ulcerativa () Ausente () local () generalizado
 f) D. nodular () Ausente () local () generalizado
 g) D. pustular () Ausente () local () generalizado
 h) D. papular () Ausente () local () generalizado



Exame oftálmico

Sinais oculares (conjuntivite, queratite, uveíte): () Ausente () suave () Moderado () severo

Sinais gastrointestinais () Ausente () suave () Moderado () severo _____

Problema articular () Ausente () suave () Moderado () severo _____

Distúrbios miccionais () Ausente () suave () Moderado () severo _____

Epistaxe: () Ausente () suave () Moderado () severo _____

Linfadenomegalia () Ausente () local () generalizado: _____

Apetite: () Normorexia () Hiporexia () anorexia () Polifagia

Parâmetros vitais

FC: _____ FR: _____ Temp: _____ TPC: _____ Mucosas: _____

COLETAS

Punção medular: () não () sim () *esternal* () *jiliaca* () - () +

Citologia cutânea: () não () sim () *pele íntegra* () *pele lesionada* () - () +

Apirado linfonodo: () não () sim _____ () - () +

TRATAMENTO

G1 () G2 ()

Tratamento oftálmico: _____

Tratamento de suporte: _____

Queixas: _____

Recomendações: Uso de repelente, inseticida spot-on e colar contra flebótomos a fim de evitar uma re-infecção pelo parasito.

Escala numérica de pontuação: 0- ausente; 1- suave; 2 -moderado e 3 - severo

0- ausentes; 1- local e 2- generalizado

Adaptado de Rougier et al (2012)

A soma dos escores clínicos: _____