

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA  
CENTRO DE CIÊNCIAS RURAIS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA VETERINÁRIA**

Gabriela Hartmann

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp.  
EM GATOS-DOMÉSTICOS**

Santa Maria, RS  
2023

Gabriela Hartmann

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM GATOS-DOMÉSTICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Orientador: Prof. Dr. Rafael Almeida Fighera

Santa Maria, RS  
2023

This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001

Hartmann, Gabriela  
Aspectos epidemiológicos da infecção por *Leishmania*  
spp. em gatos-domésticos / Gabriela Hartmann.- 2023.  
70 p.; 30 cm

Orientador: Rafael Almeida Figuera  
Coorientador: Alexandre Krause  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa  
Maria, Centro de Ciências Rurais, Programa de Pós  
Graduação em Medicina Veterinária, RS, 2023

1. Leishmaniose felina 2. Leishmanioses 3. Doenças  
transmitidas por vetores 4. Reação de imunofluorescência  
indireta I. Almeida Figuera, Rafael II. Krause,  
Alexandre III. Título.

Sistema de geração automática de ficha catalográfica da UFSM. Dados fornecidos pelo autor(a). Sob supervisão da Direção da Divisão de Processos Técnicos da Biblioteca Central. Bibliotecária responsável Paula Schoenfeldt Patta CRB 10/1728.

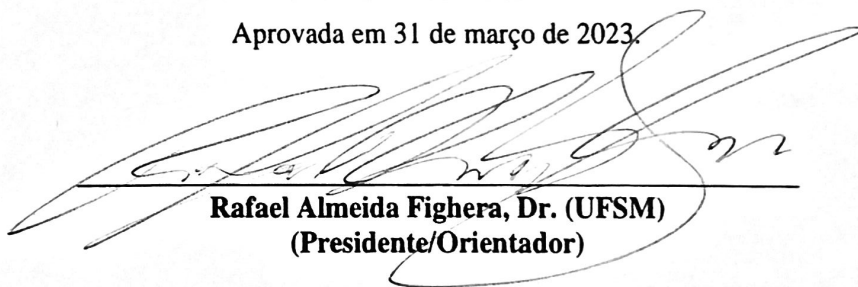
Declaro, GABRIELA HARTMANN, para os devidos fins e sob as penas da lei, que a pesquisa constante neste trabalho de conclusão de curso (Dissertação) foi por mim elaborada e que as informações necessárias objeto de consulta em literatura e outras fontes estão devidamente referenciadas. Declaro, ainda, que este trabalho ou parte dele não foi apresentado anteriormente para obtenção de qualquer outro grau acadêmico, estando ciente de que a inveracidade da presente declaração poderá resultar na anulação da titulação pela Universidade, entre outras consequências legais.

**Gabriela Hartmann**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM GATOS-DOMÉSTICOS**

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, área de concentração em Patologia e Patologia Clínica Veterinária, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Mestre em Medicina Veterinária**.

Aprovada em 31 de março de 2023.



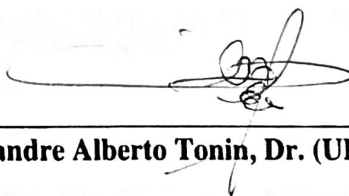
---

**Rafael Almeida Figuera, Dr. (UFSM)**  
**(Presidente/Orientador)**



---

**Robério Olinda, Dr. (Lab. Cearense de Diagnóstico)**



---

**Alexandre Alberto Tonin, Dr. (UFSM)**

Santa Maria, RS

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente à minha família. À minha mãe, Fátima Maria Hartmann, quem sempre foi minha maior incentivadora, conselheira, que sempre abraça e acolhe as minhas loucuras e impulsividades e oferece palavras de conforto quando elas (tantas vezes) se fazem necessárias. Minha mãe foi quem inspirou meu amor pelos animais e despertou meus interesses culturais, mas acima de tudo e à parte da nossa relação mãe e filha, sempre foi um modelo de independência feminina, buscando “aos trancos e barrancos” o melhor para suas filhas sem renunciar sua individualidade e jornada pessoal. Ao meu pai, Egon Egídio Hartmann, que sempre se fez presente na minha criação e que me inspira a dar valor às coisas simples da vida e a ter senso de coletividade e empatia pelo próximo. À minha irmã, Fernanda Hartmann, que, apesar da nossa relação ser de “tapas e beijos”, sempre me apoia nos momentos de necessidade e me inspira todos os dias com sua persistência e motivação de ir atrás de seus objetivos sem renunciar aos prazeres mundanos. Obrigada por toda a compreensão, respeito à minha individualidade (e muitas vezes minha ausência) e às nossas diferenças. Amo muito vocês!

Agradeço muito à família Dutra Balbé, que por muitos anos foram minha segunda família. O apoio de vocês foi essencial sempre, mas principalmente nesses dois anos de mestrado. Sempre serei muito grata e guardarei a todos com muito carinho no coração. Também agradeço aos meus filhos felinos Fiapinho, Piti e Hermes Trismegisto (Nenezinho), assim como todos os outros serzinhos não humanos maravilhosos que já passaram pela minha vida, que por muitas vezes foram meu maior conforto e as melhores companhias do mundo. Na língua de vocês: *miau, miau, miau* (tradução: amo vocês meus filhos, nem se eu escolhesse vocês seriam mais perfeitos do que isso).

Agradeço ao meu orientador Rafael Almeida Figuera, o primeiro professor que despertou meu interesse pela medicina veterinária e que viu em mim, uma jovem Gabriela, de cabelos coloridos e jeito não tradicional, um potencial, me oferecendo meu primeiro estágio de graduação e me “colocando na linha”. Agradeço muito por todo o incentivo, por ter me aceitado de volta no mundo patológico, por todos os momentos de aprendizado na sala de necrópsia e no microscópio, por todos os conselhos, risadas e, principalmente por ter sido sempre tão compreensivo com meu processo de crescimento profissional e individual nesses últimos dois anos. “Prof”, tu sempre serás uma grande inspiração para mim em todos os aspectos da vida. Se algum dia eu for metade do que tu és como professor, serei feliz.

Aos colegas e amigos da equipe Sedivet, que me acompanharam durante essa jornada da pós-graduação (em ordem alfabética: Alana, Prof. Alexandre, Dieguito, Douglas, Flávia,

Luís, Matheus, Milena e Renata). Obrigada por me acolherem, por todos os ensinamentos compartilhados, por todo apoio nos momentos difíceis, pelos momentos de risadas e confraternizações sempre muito calorosas. Eu sempre vou guardar esses anos em que convivemos com muito carinho e espero sempre poder rever vocês nos congressos patológicos futuros. Tenham a certeza de que sempre podem contar comigo, onde eu estiver!

Às minhas amigas, a família que eu escolhi, que me apoiaram tanto nesses últimos dois anos tão difíceis (em ordem alfabética: Alana, Angélica, Betina, Carol, Flávia, Gi, Gláucia, Laís, Milena e Roberta). Eu não tenho nem palavras para dizer o que vocês representam na minha vida. Se não fosse o apoio de todas eu com certeza não seria quem eu sou hoje. Nos últimos tempos eu entendi que não existe amor maior que o de uma amizade feminina e aprendo todos os dias a amar essa jornada louca que é a vida. Com vocês eu também aprendi que é possível “morrer de tanto viver” e me sinto importante, acolhida e amada. Tem uma passagem que define muito melhor o que eu sinto por vocês e jamais seria capaz de colocar em palavras próprias: “companheira me ajuda que eu não posso andar só, eu sozinha ando bem, mas com você ando melhor”. Amo muito vocês gurias, “é as gu” e obrigada por tudo! Também agradeço muito aos amigos que fiz na graduação, na residência e no vôlei, que são muito importantes para mim e que eu guardarei para sempre no coração.

Por fim, agradeço à Universidade Federal de Santa Maria, instituição que me forneceu sete anos de educação pública, gratuita e de qualidade, educação pela qual lutamos todos os dias por um acesso universal para todos os jovens sonhadores brasileiros e estrangeiros. Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (PPGMV/UFSM), ao Laboratório de Patologia Veterinária (LPV/UFSM), ao Laboratório de Doenças Parasitárias (Ladopar/UFSM), à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo financiamento de bolsa de estudos e pela possibilidade do desenvolvimento dessa pesquisa. A todos que, direta ou indiretamente, participaram dessa produção, meus sinceros agradecimentos.

A luta pela valorização da ciência e dos pesquisadores brasileiros é coletiva e diária.

“A verdadeira felicidade só será restaurada pela capacidade de sonhar. E sonhos são feitos da mesma fina poeira que recobre a realidade e dá forma às trevas. Esta sutil matéria chamada felicidade é feita de pessoas, qualidade de experiência e tempo. Pequenos sonhos, mas cultivados com carinho e continuidade, no tempo longo em que as coisas começam de novo.”

(DUNKER, 2021)

## RESUMO

### ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM GATOS-DOMÉSTICOS

AUTOR: Gabriela Hartmann

ORIENTADOR: Rafael Almeida Figuera

As leishmanioses são um grupo de doenças crônicas, em sua maioria zoonóticas, que estão entre as doenças transmitidas por vetores de maior importância no contexto da saúde pública mundial. Em todos os hospedeiros susceptíveis, são causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*, transmitidos principalmente por meio da picada de vetores invertebrados infectados pertencentes à subfamília Phlebotominae, com as espécies *Lutzomyia* spp. e *Phlebotomus* spp. sendo as de maior relevância na transmissão. Na medicina veterinária, a leishmaniose canina é a mais amplamente estudada devido ao papel do cão como principal reservatório urbano de *L. infantum*, agente etiológico da leishmaniose visceral em humanos, assim como pela importância da leishmaniose na medicina canina. Os gatos sempre foram considerados refratários à infecção. Entretanto, o papel do gato-doméstico no ciclo biológico desses patógenos vem sendo questionado a partir de um aumento do número de casos de leishmaniose felina, assim como de relatos de infecção por *Leishmania* spp. na espécie nos últimos anos. Assim, os objetivos desse trabalho foram a confecção de uma revisão bibliográfica sobre leishmaniose felina, assim como uma triagem soropidemiológica por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) de amostras de soro 389 gatos submetidos à necropsia, a fim de compreender se os gatos estão sendo expostos à *Leishmania* spp., apesar de não haver casos conhecidos de leishmaniose felina na região de estudo, a despeito de ser uma área de transmissão de *L. infantum*. Aspectos epidemiológicos desses gatos foram obtidos, como sexo, estado reprodutivo, faixa etária, raça, comprimento e coloração/padrão de pelagem, infecção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) e/ou vírus da leucemia felina (FeLV) foram coletados e correlacionados com a soropositividade na RIFI. A frequência de detecção de anticorpos anti-*Leishmania* spp. nos gatos testados foi de 11,05% (43/389), com associação estatística positiva entre a soropositividade e a coloração de pelagem dentro do espectro laranja com amplas partes brancas, com  $p=0.044$  e  $OR=2.47$  (1 – 6.13) e negativa em relação à infecção pelo FeLV, com  $p=0.01$  e  $OR=0.38$  (0.18 – 0.79). Não foram encontradas outras correlações. Com isso, conclui-se que os gatos estão sendo expostos à *Leishmania* spp., de maneira que estudo moleculares complementares serão úteis futuramente na diferenciação entre exposição e infecção ativa nesses gatos. Adicionalmente, espera-se que as informações descritas auxiliem na rotina diagnóstica de clínicos e patologistas veterinários, a fim de que conheçam a doença, sua patogênese e lesões/manifestações clínicas associadas, assim como o diagnóstico, tratamento e prevenção, devido à leishmaniose felina ser uma doença emergente no mundo todo.

**Palavras-chave:** Leishmaniose felina. Leishmanioses. Doenças transmitidas por vetores. Reação de imunofluorescência indireta (RIFI).



## ABSTRACT

### EPIDEMIOLOGICAL ASPECTS OF *Leishmania* spp. INFECTION IN DOMESTIC CATS

AUTHOR: Gabriela Hartmann  
ADVISOR: Rafael Almeida Figuera

Leishmaniasis are a group of chronic diseases, mostly zoonotic, which are among the vector-borne diseases of greatest importance in the global public health context. In all susceptible hosts, these diseases are caused by flagellated protozoa of the genus *Leishmania*, transmitted mainly through the bite of invertebrate vectors belonging to the subfamily Phlebotominae, with *Lutzomyia* spp. and *Phlebotomus* spp. being the most relevant species in the transmission. In veterinary medicine, canine leishmaniasis is the most widely studied due to the dog's role as the main urban reservoir host of *L. infantum*, the etiological agent of human visceral leishmaniasis, as well as for the importance of leishmaniasis in canine medicine. Cats have always been considered refractory to infection. However, the role of the domestic cat in these pathogens' biological cycle has been questioned due to an increase in feline leishmaniasis case numbers, as well as the published reports of *Leishmania* spp. infection in this species in the last few years. Thus, the scope of this work was to make a review of feline leishmaniasis and a seroepidemiological screening study using the indirect immunofluorescence antibody test (IFAT) of 389 serum samples from cats submitted to necropsy, to understand whether the cats are being exposed to *Leishmania* spp., despite that no cases of feline leishmaniasis are known in the study region, regardless of being an area of *L. infantum* transmission. Epidemiological data of these cats, such as gender, reproductive status, age group, breed, length and coat color/pattern, feline immunodeficiency virus (FIV), and/or feline leukemia virus (FeLV) infection were collected and correlated with IFAT seropositivity. The frequency of anti-*Leishmania* spp. antibody detection in the tested cats was 11.05% (43/389), with a positive statistical association between seropositivity and coat color within the orange spectrum with wide white parts cats, with  $p=0.044$  and  $OR=2.47$  (1 – 6.13) and a negative association was found concerning FeLV infection, with  $p=0.01$  and  $OR=0.38$  (0.18 – 0.79). No other correlations were found. Therefore, it is possible to conclude that cats are being exposed to *Leishmania* spp.. Complementary molecular studies will be useful in the future for differentiating between exposure and active infection in these cats. Additionally, it is expected that the described data will be helpful in the diagnostic routine of veterinary clinicians and pathologists, promoting awareness regarding the disease, its pathogenesis and associated lesions/clinical manifestations, as well as the diagnostic pathways, treatment, and prevention, due to feline leishmaniasis being an emerging disease worldwide.

**Keywords:** Feline leishmaniasis. Leishmaniasis. Vector-borne diseases. Indirect immunofluorescence antibody test (IFAT).

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	11
<b>2</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	13
2.1	LEISHMANIOSE FELINA .....	13
2.1.1	Interação agente e vetor .....	14
2.1.2	A resposta imune .....	17
2.1.3	Sinais clínicos .....	19
2.1.4	Diagnóstico .....	24
2.1.4.1	Anormalidades clinicopatológicas.....	27
2.1.4.2	Achados citológicos e anatomopatológicos.....	28
2.1.5	Tratamento e prevenção .....	33
<b>3</b>	<b>ARTIGO</b> .....	36
<b>4</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	64
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	65

## 1 INTRODUÇÃO

No contexto da saúde pública mundial, as leishmanioses estão entre as doenças transmitidas por vetores com maior número de casos no mundo, atrás apenas da malária e da filariose linfática (elefantíase) (PENNISI et al., 2013). A maioria dos casos de leishmanioses, tanto em humanos quanto em animais, são observados em regiões de vulnerabilidade social, com condições de moradia e saneamento básico precárias (esgotos a céu aberto e ausência de manejo de resíduos). Dietas pobres, desmatamento e mudanças nas condições ambientais relacionadas às mudanças climáticas também são apontados como fatores de risco para a infecção por *Leishmania* spp. (WHO, 2023). Apesar de serem consideradas endêmicas em 88 países localizados em quatro continentes (LANGONI, 2016), a maioria dos casos em humanos, em todas as suas formas – visceral, tegumentar e mucocutânea –, são registrados nas Américas (principalmente Brasil, Bolívia e Peru), na Bacia do Mediterrâneo, no Norte, Leste e Sudeste do continente Africano (com a maioria dos casos concentrados na Argélia, Sudão, Etiópia e Somália), no Oriente Médio (principalmente Iraque e Iêmen) e nas regiões Central e Sudeste da Ásia (Índia, Bangladesh e Nepal) (WHO, 2023). A distribuição geográfica da doença é associada à presença do vetor invertebrado: principalmente *Lutzomyia* spp. no Novo Mundo e *Phlebotomus* spp. no Velho Mundo (NASCIMENTO et al., 2021).

Atualmente, os estudos a respeito desse grupo de doenças são de grande interesse na perspectiva da saúde única, devido ao caráter zoonótico da maioria delas (DOS SANTOS et al., 2021), de maneira que dentre as mais de 20 espécies de *Leishmania* já identificadas, apenas *L. donovani* é exclusivamente antroponótica, ou seja, não tem parte de seu ciclo em nenhum hospedeiro não humano (CECILIO; CORDEIRO-DA-SILVA; OLIVEIRA, 2022; WHO, 2023). Dentro dos estudos das leishmanioses na medicina veterinária, a leishmaniose canina é inquestionavelmente a mais estudada, devido ao papel do cão como principal reservatório urbano de *L. infantum*, o agente causador da leishmaniose visceral em humanos, que também é responsável pela maioria dos casos de infecção e doença debilitante grave em animais domésticos (BRIANTI et al., 2019; PENNISI et al., 2013).

Diferentemente, por muitos anos, os gatos-domésticos foram considerados refratários à infecção, de maneira que a possível relevância da espécie foi negligenciada dentro do ciclo da doença em ambientes urbanos endêmicos (ABRAMO et al., 2021). Dessa maneira, a infecção pode passar despercebida e, inclusive, ser subestimada nas populações felinas (NAPOLI et al., 2022). Entretanto, o número de relatos de casos envolvendo a espécie felina vem aumentando em áreas endêmicas de todo o mundo, principalmente na América do Sul, sul da Europa, e Ásia

ocidental (PEREIRA; MAIA, 2021), sendo que a maioria dos relatos são oriundos do continente europeu, principalmente de países mediterrâneos (88,9%) (GARCIA-TORRES et al., 2022). Atualmente, entende-se que os gatos são susceptíveis às mesmas espécies de *Leishmania* que cães e humanos que habitam as mesmas regiões geográficas (PENNISI et al., 2013).

Apesar do cão ser o principal reservatório de *L. infantum*, a maioria dos cães infectados não exibem sinais clínicos ou apresentam apenas após longos períodos infectados, e mesmo assim são fontes de infecção para os flebotomíneos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Da mesma maneira, estudos realizados nos últimos anos demonstram que apesar da doença clínica não ser tão comum em gatos quanto em cães, as taxas de infecções subclínicas são por vezes subestimadas, de maneira que os gatos podem agir como hospedeiros ocultos. Sendo assim, o papel da espécie no ciclo biológico desses patógenos ainda vem sendo investigado, considerando a capacidade de manter a infecção persistente e a capacidade de infecção dos flebotomíneos (PENNISI et al., 2015). Dessa maneira, é provável que gatos possam representar uma fonte de infecção alternativa (MIGLIAZZO et al., 2014).

A leishmaniose felina causada por *L. infantum* é considerada uma doença emergente (PENNISI; PERSICETTI, 2018), portanto, o interesse acerca da infecção de gatos domésticos por *Leishmania* spp., assim como de outras doenças transmitidas por vetores na espécie vem crescendo (NAPOLI et al., 2022). Apesar disso, ainda há escassez no conhecimento a respeito das características clínicas, de resposta imune, da anatomopatologia, manejo e tratamento de gatos infectados, assim como mecanismos de susceptibilidade ou resistência dos gatos perante a infecção quanto em relação aos cães (BRIANTI et al., 2019). Assim, as informações a respeito da leishmaniose felina são baseadas no que se sabe a respeito da leishmaniose em cães, em alguns estudos descritivos e relatos de casos, assim como em experiências pessoais de profissionais renomados de áreas endêmicas (PENNISI et al., 2015).

No Brasil, a infecção por *Leishmania* spp. em gatos domésticos já foi descrita em 14 estados, demonstrando acentuada amplitude regional na frequência de detecção de anticorpos, com resultados que variam de 0 a 54% (COURA et al., 2018; NASCIMENTO et al., 2021). Na região Sul, estudos soropidemiológicos foram conduzidos nos estados de Santa Catarina e Paraná, com frequência de detecção de anticorpos anti-*Leishmania* spp. de 6,6% e 8,5%, respectivamente, nos gatos testados (DE MATOS et al., 2018; PEDRASSANI et al., 2019). No Rio Grande do Sul, apenas um estudo foi realizado em gatos na região da fronteira com a Argentina e Uruguai (Uruguaiana e Barra do Quaraí) utilizando a PCR de sangue e suabes conjuntivais para detecção de material genético de *Leishmania* spp., entretanto, nenhuma das

amostras foram positivas (PRADELLA et al., 2022). Apesar do estudo, a soroprevalência na espécie felina é desconhecida no estado.

Portanto, os objetivos desse trabalho foram a confecção de uma revisão de literatura a respeito da leishmaniose felina, assim como a realização de um inquérito soroepidemiológico por meio da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) para determinar se os gatos de uma região de transmissão recente de *L. infantum* estão sendo expostos a *Leishmania* spp. Na revisão, foram abordados aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos e terapêuticos, a fim de auxiliar os clínicos, anatomopatologistas e patologistas clínicos que atuam na medicina felina, por se tratar de uma doença emergente, apesar de ainda pouco conhecida na espécie.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 LEISHMANIOSE FELINA**

A primeira descrição da infecção natural por *Leishmania* sp. em gatos foi na Argélia, em 1912 (MAIA; NUNES; CAMPINO, 2008). Desde então, infecções clínicas ou subclínicas por *Leishmania* spp. têm sido reportadas por todo o mundo, principalmente em áreas de circulação desses patógenos (BANETH; SOLANO-GALLEGU, 2012; PENNISI et al., 2013). Acredita-se que o número de relatos de casos de infecção por *Leishmania* spp. e leishmaniose na espécie felina venham aumentando nos últimos anos devido aos avanços da medicina felina, ao aperfeiçoamento das técnicas diagnósticas, assim como pela ampla utilização de coleiras repelentes em cães nas regiões endêmicas, fazendo com que, possivelmente, os flebotomíneos diversifiquem mais as espécies em que realizam o repasto sanguíneo (ABRAMO et al., 2021; PENNISI et al., 2015).

A infecção por *Leishmania* spp. é, por vezes, responsável pelo desenvolvimento de doenças crônicas graves e fatais, tanto em cães quanto em gatos. Entretanto, em áreas endêmicas, a maioria dos gatos expostos ao patógeno não desenvolvem a doença clínica, permanecendo com infecções subclínicas e, portanto, agindo como reservatórios silenciosos (BANETH; SOLANO-GALLEGU, 2022). Supostamente, gatos podem ter uma importância maior como reservatórios em localidades em que a população de gatos de rua é significativamente maior do que a de cães (PENNISI et al., 2015). Entretanto, a proporção de gatos infectados é comumente menor do que a de cães em uma mesma região geográfica (BRIANTI et al., 2019). À vista disso, conjectura-se que os gatos servem como uma espécie de reservatório secundário, e que na ausência de cães infectados em uma determinada região

geográfica, não haveria a manutenção do agente apenas com a presença dos gatos (PENNISI et al., 2015).

A infecção ou exposição as *Leishmania* spp. já foi detectada em níveis populacionais em uma série de estudos por todo o mundo por métodos diretos ou indiretos. As prevalências descritas são amplamente variáveis, com valores que vão desde 0 a superiores a 70%. Tais resultados variam de acordo uma série de fatores, como número e qualidade das amostras coletadas, técnicas utilizadas (assim como divergências nos valores de *cut-off* ou gene alvo escolhido), características individuais da população amostral e *status* endêmico da região amostral (PEREIRA; MAIA, 2021; PENNISI et al., 2015).

Assim como em humanos, nos quais as taxas de coinfeção com HIV são altas (WHO, 2023), coinfeções por FIV, FeLV, *Toxoplasma gondii*, *Candidatus Mycoplasma haemominutum* e *Hepatozoon felis*, assim como casos de peritonite infecciosa felina (PIF) concomitante são descritos (ABRAMO et al, 2021; MARCONDES et al., 2018; ORTUÑO, et al., 2023). Comorbidades são observadas em 50 a 66% dos gatos doentes (GARCIA-TORRES et al., 2022; PENNISI, 2015; PENNISI; PERSICHETTI, 2018) e a doença clínica geralmente está associada a coinfeções por agentes imunossupressores, como FIV (coinfeção mais frequente [37,7% dos casos]), ou com outras condições imunossupressivas (56,3% dos casos) (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020), como câncer (PENNISI et al, 2015), corticoterapia prolongada, *diabetes mellitus*, senilidade e prenhez (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020). Entretanto, manifestações clínicas também podem ser observadas em gatos sem doenças de base (BRIANTI et al., 2019). Adicionalmente, a amplitude de idade do diagnóstico da leishmaniose em gatos é de 2-21 anos (PENNISI; PERSICHETTI, 2018), sendo que a média de idade é de 7,9 anos e 77,7% dos gatos infectados têm acesso à rua (GARCIA-TORRES et al., 2022).

A transmissão do parasito ocorre por meio da picada do vetor invertebrado, sendo essa a única forma descrita na espécie. Estudos demonstram que gatos podem estar entre as preferências alimentares dos flebotomíneos e, experimentalmente, podem inclusive servir de fonte de infecção (PENNISI et al., 2015). Outros meios de transmissão não vetoriais já descritos em cães e humanos, principalmente horizontais (transfusão sanguínea, venérea ou por mordida) não foram comprovados para gatos (PENNISI, 2020).

### **2.1.1 Interação agente e vetor**

O gênero *Leishmania* (ordem Kinetoplastida e família Trypanosomatidae) é composto por protozoários digenéticos, de ciclo dixeno, em que as suas formas amastigotas residem no citoplasma das células do sistema monocítico-macrofágico (e outras células de origem mieloide, como neutrófilos) (PENNISI, 2020; TOEPPA; PETERSEN, 2020), do hospedeiro vertebrado, enquanto suas formas flageladas (promastigotas) residem no trato digestivo dos vetores invertebrados (flebotomíneos) (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; PENNISI et al., 2013). As espécies pertencentes ao gênero são agentes etiológicos de um grupo de doenças conhecidas como leishmanioses nos indivíduos susceptíveis, que incluem humanos e animais (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012). Os reservatórios variam de acordo com cada espécie de *Leishmania* e localidade geográfica, englobando animais domésticos, animais selvagens e humanos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012).

O ciclo do agente no vetor invertebrado ocorre dentro do trato digestivo, com locais de multiplicação diferentes para os subgêneros *Leishmania* e *Viannia*, os dois subgêneros de maior relevância nas espécies domésticas e em humanos. O subgênero *Leishmania* multiplica-se na porção anterior e média do trato digestivo (desenvolvimento suprapilórico), enquanto no subgênero *Viannia*, a multiplicação ocorre na porção posterior (desenvolvimento peripilórico) (DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; LANGONI, 2018). Para gatos domésticos, sete espécies de *Leishmania* já foram identificadas (PENNISI; PERSICHETTI, 2018), a maioria pertencentes ao subgênero *Leishmania*, e apenas uma ao subgênero *Viannia*, sendo *L. infantum* aquela com o maior número de relatos, e tendo distribuição mundial. No Brasil, outras espécies relatadas incluem *L. amazonensis* e *L. (V.) braziliensis*, a última também já descrita acometendo gatos na Guiana Francesa. Outras espécies identificadas foram *L. venezuelensis* na Venezuela, *L. major* em Portugal e na Turquia, *L. tropica* na Ásia ocidental e *L. mexicana* nos Estados Unidos e Venezuela (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; PEREIRA; MAIA, 2021).

Os vetores invertebrados são os flebotomíneos (Ordem Diptera, Família Psychodidae, e subfamília Phlebotominae), pequenos insetos com cerca de 1,5 a 2 mm de comprimento, raramente excedendo 3 mm. No Brasil, são conhecidos popularmente como “mosquitos-palha”, “tatuquira” ou “birigui”, encontrados principalmente em regiões tropicais e subtropicais (BRASIL, 2014; DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012). São insetos com hábitos crepusculares e noturnos, mais ativos nas estações quentes, mas que em diversas localidades da América Latina podem ser ativos durante o ano todo. Adicionalmente, não são espécies de voos longos, de maneira que raramente excedem 1 km de distância do criatório. Alguns flebotomíneos também são transmissores de outros patógenos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2012). Mais de 30 espécies de flebotomíneos são envolvidas na transmissão das leishmanioses (MONDOLFI et

al., 2019), sendo que os dois gêneros de maior relevância na transmissão das leishmanioses são *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo (BANETH; SOLANO-GALLEG0, 2012). *Brumptomyia* spp., *Micropygomyia* spp., *Pintomyia* spp., e *Psathyromyia* spp. também são apontadas como vetores (MONDOLFI et al., 2019).

No Brasil, *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi* são apontadas como vetores no ciclo da leishmaniose visceral (BRASIL, 2014) e *Lu. (Nyssomyia) flaviscutellata*, *Lu. (Nyssomyia) whitmani*, *Lu. umbratilis*, *Lu. (Nyssomyia) intermedia*, *Lu. wellcomei* e *Lu. (Migonemyia) migonei* da leishmaniose tegumentar americana (LTA). O papel de *Lu. (Nyssomyia) neivai* e *Lu. (Pintomyia) fischeri* como possíveis vetores competentes têm sido questionado devido às espécies serem frequentemente encontradas em ambientes peridomiciliares nas áreas de transmissão de LTA (BRASIL, 2017). Experimentalmente, *Lu. (Nyssomyia) neivai* demonstrou capacidade vetorial na transmissão de *L. braziliensis* (LAVITSCHKA, 2017). A capacidade vetorial das espécies de flebotomíneos está diretamente associada à habilidade das formas promastigotas de *Leishmania* spp. de se ligarem a receptores específicos em seu trato gastrointestinal (BANETH; SOLANO-GALLEG0, 2012).

Ao realizarem o repasto sanguíneo em hospedeiros infectados, as fêmeas dos flebotomíneos ingerem sangue com macrófagos contendo as formas amastigotas do parasito. Amastigotas são formas redondas a ovaladas, com 2,5 a 5 µm de comprimento e 1,2 a 2 µm de largura. Na microscopia, ao serem corados com corantes de rotina, possuem um núcleo basofílico e uma estrutura em formato de bastão que cora mais intensamente (quinetoplasto) (BANETH; SOLANO-GALLEG0, 2012), uma massa condensada de DNA mitocondrial, diretamente conectada ao corpo basal, de onde o flagelo se estende quando ocorre a diferenciação nas formas flageladas. Na amastigota, o flagelo é rudimentar e envolvido pela bolsa flagelar (SUNTER; GULL, 2017). Essas formas se multiplicam por fissão binária até romperem o macrófago e então infectarem novas células (BANETH; SOLANO-GALLEG0, 2012).

Dentro do trato digestivo do vetor, sob a influência de fatores como a diferença de temperatura e pH, as formas amastigotas sofrem mudanças em sua morfologia, transformando-se em promastigotas procíclicas, formas flageladas, mas com baixa motilidade, que iniciam a replicação. Essas formas são separadas do trato digestivo do vetor por uma estrutura chamada matriz peritrófica que envolve o sangue obtido no repasto sanguíneo. Após 48-72 horas, as promastigotas procíclicas tornam-se nectomonas, que por terem flagelos bem desenvolvidos, são altamente móveis. As promastigotas nectomonas então rompem a matriz peritrófica e adentram a porção média do trato digestivo do flebotomíneo, onde se aderem para evitar que



sejam eliminadas pela defecação juntamente ao conteúdo do repasto. Posteriormente, migram para a porção anterior do trato digestivo, onde se diferenciam em leptomonas, que iniciam um novo ciclo de replicação. Por fim, as leptomonas migram e colonizam a valva estomodeal e se diferenciam em promastigotas metacíclicas (metaciclogênese), a forma infectante, a qual é inoculada no hospedeiro vertebrado (CECILIO; CORDEIRO-DA-SILVA; OLIVEIRA, 2022; DOSTÁLOVÁ; VOLF, 2012; SUNTER; GULL, 2017).

### 2.1.2 A resposta imune

A relação entre a resposta imune e desenvolvimento de sinais clínicos ainda não é bem elucidada na espécie felina, mas diferenças espécie-específicas nas respostas imunes inata e adaptativa podem ser responsáveis pela menor prevalência da infecção por *Leishmania* spp. e leishmaniose na espécie quando em comparação aos cães (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020). Se o hospedeiro irá resistir ou sucumbir à infecção depende de uma série de fatores como dose do inóculo e virulência do parasito (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Entretanto, a habilidade de arquitetar uma resposta imune adequada ou inadequada é o fator mais importante no desenvolvimento da doença clínica ou no controle da infecção por *Leishmania* spp. em todas as espécies susceptíveis, sendo que as células T, por meio da expressão de citocinas, têm um papel fundamental no processo de destruição dos parasitos pelos macrófagos (PRIOLO et al., 2019). Apesar do padrão da resposta imunológica em relação à severidade da doença ainda não ser completamente compreendido na espécie felina, gatos expostos a *L. infantum* montam uma resposta imune celular protetiva que não é proporcional à produção de anticorpos, assim como ocorre nas outras espécies (PENNISI, 2020).

Os neutrófilos são a primeira linha de defesa frente à infecção por *Leishmania* spp., com papel importante na resposta imune inata, de maneira que após a inoculação, essas células podem destruir os parasitos por meio da fagocitose e “burst” oxidativo, assim como recrutar e ativar macrófagos por meio da expressão de fator de necrose tumoral-alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon-gama (IFN- $\gamma$ ). Apesar dessa importância inicial dos neutrófilos, os macrófagos são os principais hospedeiros de *Leishmania* spp. no organismo do hospedeiro susceptível (TOEPPA; PETERSEN, 2020). Ao serem inoculadas por meio do repasto sanguíneo no hospedeiro susceptível, as formas promastigotas metacíclicas são fagocitadas pelos macrófagos teciduais residentes na pele, transformam-se em amastigotas e se multiplicam no interior de vacúolos parasitóforos no citoplasma dessas células. Em seguida, os macrófagos infectados migram para os linfonodos regionais e a partir daí são disseminados sistemicamente, principalmente para o

baço e medula óssea. Após um período de incubação, macrófagos teciduais parasitados ficam disponíveis na pele e o indivíduo torna-se fonte de infecção para flebotomíneos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

Em cães, espécie em que a resposta imune é bem conhecida, os macrófagos e células dendríticas apresentam antígenos de *Leishmania* spp. para as células T CD4+, que modularão a resposta imune. Se a resposta imune predominante for por células T auxiliares do tipo 1 (Th1), baseada na produção de IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e interleucina-2 (IL-2), os macrófagos serão ativados em células efectoras, permitindo a produção de óxido nítrico e espécies reativas de oxigênio (ROS) e, conseqüentemente, as formas amastigotas serão destruídas dentro dos vacúolos parasitóforos e a infecção será debelada (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Entretanto, o protozoário é capaz de inibir a formação de ROS e, conseqüentemente, sua destruição. O reconhecimento do parasito por meio de receptores específicos, como receptores do tipo Toll (TLR) (expressados na superfície de macrófagos, células dendríticas e monócitos) e outros receptores de padrão molecular associado a patógenos (PAMPs) sinaliza para vias que regulam negativamente a produção de IL-12, citocina necessária para o desenvolvimento de uma resposta de Th1 CD4+ efetiva, com expressão de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ , além de IL-2, que induzirá a proliferação de mais Th1 CD4+. Essa seqüência de eventos é contrariada pela produção de antioxidantes (superóxido dismutase) pelo parasito, que ameniza a destruição intracelular e promove o seu crescimento, assim como pela redução na transcrição de TLR ao longo do curso da doença (TOEPPA; PETERSEN, 2020).

Se a resposta arquitetada for predominantemente Th2, a produção de IL-4, IL-10, IL-13 e fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) diminui a resposta imune celular ao passo em que aumenta a produção de anticorpos, permitindo a susceptibilidade à infecção e a progressão da doença com a disseminação de *L. infantum* (PRIOLO et al., 2019). Conforme a doença progride, a resposta, que antes era baseada em células T, se transforma em uma resposta regulatória, com expressão de citocinas regulatórias como IL-10, que diminui a produção de células T CD4+, desregulando o equilíbrio entre a resposta protetiva e o desenvolvimento da doença clínica. Essa troca da resposta se deve à expressão de citocinas (principalmente IL-10) e exposição prolongada ao antígeno, que leva à exaustão de células T (aumento da expressão de proteína da morte celular programada-1 [PD-1]), reduzindo a secreção de INF- $\gamma$  e proliferação de linfócitos (TOEPPA; PETERSEN, 2020).

Com a diminuição da produção de células T CD4+, ocorre a predominância de uma resposta imune humoral pela diferenciação de linfócitos B em plasmócitos, permitindo a sobrevivência e replicação do agente. A superprodução de IgG faz com que essas moléculas de

imunoglobulinas se ligem a antígenos de *Leishmania* spp., de maneira que esses imunocomplexos se depositam nos tecidos e induzem a produção de IL-10 (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; TOEPPA; PETERSEN, 2020). Nas infecções subclínicas em cães, também há um aumento na proliferação de células T citotóxicas CD8+, que levarão à destruição dos macrófagos parasitados por *Leishmania* spp. (TOEPPA; PETERSEN, 2020).

Em gatos, poucos estudos já foram realizados para uma melhor compreensão da resposta imune. Em uma área endêmica, após estímulo com antígenos de *L. infantum*, Priolo et al. (2019) demonstraram que gatos que habitavam áreas endêmicas produziram IFN- $\gamma$ . Em cães, a produção dessa citocina é associada às formas mais brandas da doença e a não produção à doença severa (PRIOLO et al., 2019). Em outro estudo realizado pelo mesmo autor, foi detectada uma frequência de anticorpos de 24,3% em gatos e 27,1% em cães e, nessa mesma população, 20% dos cães e 16% dos gatos produziram IFN- $\gamma$  após estimulação com antígenos de *L. infantum*, mas a concentração média do IFN- $\gamma$  produzido pelos cães foi até quatro vezes maior que em gatos. Todos os cães e gatos que produziram IFN- $\gamma$  não apresentavam parasitemia e a titulação de anticorpos era zero ou baixa, enquanto os pacientes com alta carga parasitária e titulação de anticorpos não produziram após a estimulação, indicando que na espécie felina também possa haver um predomínio da resposta imune humoral quando a infecção é bem-sucedida (PRIOLO et al., 2022).

### **2.1.3 Sinais clínicos**

A leishmaniose felina geralmente se manifesta principalmente sob a forma de uma doença cutânea, não pruriginosa, por vezes com envolvimento visceral, que acomete gatos de todas as idades, sem predileção por sexo (MAULDIN; PETERS-KENNEDY, 2016; PENNISI et al., 2013). A maioria dos gatos que desenvolvem a doença possuem outra condição debilitante de base, como infecção pelo FIV ou FeLV, carcinomas de células escamosas (CCE) cutâneo, *diabetes mellitus*, pênfigo foliáceo, demodicose, estão sob corticoterapia prolongada ou terapia com outros fármacos imunossupressores (PIMENTA et al., 2015). Sinais dermatológicos são observados em 69,8% a 75% dos gatos doentes (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022; PEREIRA; MAIA, 2021), sendo que 31,3% a 62,1% desses gatos apresentam manifestações exclusivamente dermatológicas, ao passo que 37,9% apresentam sinais sistêmicos concomitantemente (ABRAMO et al., 2021; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022; PENNISI, 2015).

A forma visceral ocorre quando há o envolvimento de outros tecidos e órgãos além da pele, como medula óssea, baço, linfonodos, fígado, rins e olhos (PIMENTA et al., 2015). Linfadenomegalia, acometimento oftalmológico e de cavidade nasal são as anormalidades sistêmicas mais frequentemente associadas à infecção por *Leishmania* spp. na espécie felina (ABRAMO et al., 2021; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022; PENNISI, 2015). Gengivoestomatite crônica ou úlceras/nódulos na mucosa oral, assim como em junções mucocutâneas, também são frequentemente relatados (PENNISI, 2015).

Pela leishmaniose felina não ser uma doença muito conhecida, as dermatites causadas pela infecção por *Leishmania* spp. podem passar despercebidas, sem uma suspeita diagnóstica e, portanto, necessitam de uma investigação completa (NAVARRO et al., 2010). Dentre as lesões dermatológicas, dermatites nodulares ou papulares, com nódulos/pápulas geralmente alopecícos, intactos, ulcerados ou crostosos, frequentemente pequenos, não pruriginosos e não dolorosos, variavelmente macios, únicos ou múltiplos, são observadas em 38% a 72,7% dos gatos com infecções cutâneas (ABRAMO et al., 2021; MAULDIN; PENNISI et al., 2015; PETERS-KENNEDY, 2016; PEREIRA; MAIA, 2021). Dermatites ulcerativas/erosivas ocorrem em 21% a 36,4% dos casos, sendo que as úlceras podem ser multifocais ou focais, superficiais ou profundas, e comumente complicadas por infecções bacterianas, de maneira que pode haver crostas hemáticas ou acúmulo de material purulento na superfície (ABRAMO et al., 2021; PENNISI et al., 2015).

As dermatites descamativas/crostosas não são a manifestação mais comum em gatos (21% dos casos), em oposição ao que é observado nos cães, haja vista que essa é a manifestação cutânea mais comum na espécie. As lesões cutâneas sob a forma de alopecia são ainda menos frequentemente reportadas, ocorrendo em cerca de 12% dos casos. Outros sinais dermatológicos menos comumente descritos são onicogribose, cistos hemorrágicos, despigmentação, prurido, pápulas/pústulas, hiperqueratose dos coxins e má condição da cobertura pilosa (ABRAMO et al., 2021; DOS SANTOS et al., 2021; HEADLEY et al., 2019; NAPOLI et al., 2022; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015; PEREIRA; MAIA, 2021). Esses sinais incomuns geralmente são associados a outras doenças cutâneas concomitantes, como demodicose, dermatite alérgica à picada de pulga, pênfigo foliáceo ou câncer de pele, basicamente CCE (PENNISI et al., 2015). Lesões verrucosas vegetantes também já foram descritas (MONDOLFI et al., 2019).

Em relação à distribuição das lesões dermatológicas, 55,5% a 90,9% ocorrem na cabeça, principalmente na região auricular, nasal (espelho, ponte e plano nasal, assim como a transição mucocutânea das narinas), labial (incluindo filtro) e palpebral. Lesões nos membros são

observadas em 22,2% a 30,3% dos casos, geralmente na porção distal, região interdigital e coxins (ABRAMO et al., 2021; MONDOLFI et al., 2019; PENNISI, 2015; PENNISI et al., 2015; RIVAS et al., 2018; RÜFENACHT et al., 2005; TRAINOR et al., 2010; VIDES et al., 2011). Mais comumente, lesões sob a forma de nódulos afetam apenas a face, a face e as extremidades e/ou os coxins e as ulcerações acometem o plano nasal, porção distal dos membros, regiões periorcárias e áreas de apoio, ou são generalizadas. A dermatite esfoliativa geralmente é generalizada (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020). Também são descritas lesões acometendo a cauda, dorso, pescoço, regiões interescapular e abdominal, entretanto, não são locais frequentes (ABRAMO et al., 2021). Os sinais cutâneos podem se manifestar concomitantemente às lesões mucocutâneas (PENNISI et al., 2015).

Figura 1 – Dermatites nodulares e ulcerativas em gatos infectados por *Leishmania* sp.



Fonte: A, C e D – Dr. Robério Gomes Olinda; B – Dr. Rafael Almeida Figuera.

Na forma cutânea nodular, os principais diagnósticos diferenciais incluem: sarcoide felino, mastocitoma, fibrossarcoma, tumores de células basais, carcinoma bowenoide, linfoma, criptococose, esporotricose, histoplasmose, micobacterioses, granuloma nodular estéril e

granuloma eosinofílico (PENNISI et al., 2015; TRAINOR et al., 2010). Quando os nódulos acometem as pálpebras, cistadenomas apócrinos, melanoma e xantoma também devem ser incluídos nos diferenciais (PEREIRA et al., 2019). Na forma ulcerativa, CCE, esporotricose, úlcera indolente, dermatite ulcerativa idiopática, dermatite por picada de mosquito, micobacteriose atípica, lepra felina, vasculite cutânea e eritema multiforme também devem ser considerados diferenciais. Por fim, nos casos de dermatite esfoliativa/crostosa, deve-se descartar dermatofitose, pêfigo foliáceo, dermatite herpética, lúpus eritematoso, dermatite esfoliativa associada ao timoma, complexo adenite sebácea/foliculite mural e alopecia paraneoplásica (PENNISI et al., 2015; RÜFENACHT et al., 2005; TRAINOR et al., 2010).

Acometimento oftalmológico ocorre em 30% a 37,5% dos casos. Nesses casos, a lesão mais comumente associada à infecção por *Leishmania* spp. em gatos é a uveíte, unilateral ou bilateral. Conjuntivite (proliferativa ou não) e blefarite (nodular, ulcerativa, crostosa ou alopecica) também são comuns e frequentemente associadas à quemose. Outras alterações descritas são opacidade e edema de córnea, panuveíte, uveíte e iridociclite pseudotumorais, glaucoma, úlcera de córnea, incluindo “úlceras em *melting*” com perfuração total da córnea e coriorretinite com ou sem exoftalmia. Frequentemente, muitos desses sinais ocorrem concomitantemente (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022; NAPOLI et al., 2022; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015; PEREIRA; MAIA, 2021; PIMENTA et al., 2015). Clinicamente, gatos com essas lesões costumam apresentar epífora, fotofobia, blefaroespasma, hiperemia conjuntival e descarga ocular serosa, mucosa ou mucopurulenta (MADRUGA et al., 2018; PIMENTA et al., 2015; VIDES et al., 2011). Na presença de uveíte, deve-se descartar outras causas infecciosas, como FIV, FeLV, coronavírus felino (FCoV) associado à PIF, *T. gondii*, *Bartonella* spp., doenças fúngicas, neoplásicas ou síndrome paraneoplásica, assim como uveítes idiopáticas (PENNISI et al., 2015).

Manifestações orais também são frequentemente associadas à infecção por *Leishmania* spp. em gatos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; PENNISI et al., 2013), geralmente sob a forma de gengivoestomatites crônicas (25% dos casos), estomatites proliferativas, nodulares ou ulcerativas (18,8% a 21% dos casos) focais, multifocais ou difusas e/ou glossites (4% a 12,5% dos casos) (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; MESTRINHO; TRAVANCINHA; SOBRAL, 2022; MIGLIAZZO et al., 2014; PENNISI et al., 2015; PEREIRA; MAIA, 2021; VIDES et al., 2011). Essas lesões podem ser dolorosas e facilmente sangrantes à manipulação. Adicionalmente, gatos com lesões de cavidade oral podem apresentar halitose e disfagia (MESTRINHO; TRAVANCINHA; SOBRAL, 2022). Quando há envolvimento oral, o

principal diagnóstico diferencial é o complexo gengivoestomatite crônica felina (PENNISI et al., 2015).

Sinais respiratórios crônicos como esforço respiratório, estertores de trato respiratório superior, espirros, descarga nasal unilateral ou bilateral, sibilos, dispneia e taquipneia são observados em 12,7% dos casos (GARCIA-TORRES et al., 2022; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015; PEREIRA; MAIA, 2021; VIDES et al., 2011). Também pode haver aumento de volume difuso da região nasal. Esses sinais clínicos podem estar associados a rinites granulomatosas induzidas pela infecção por *Leishmania* spp. (ALTUZARRA et al., 2018; ARENALES et al., 2018; BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; LEAL et al., 2018; MIGLIAZZO et al., 2014). Nesses casos, linfoma, adenocarcinoma, osteossarcoma, fibrossarcoma, sarcoma histiocítico, plasmocitoma e hamartomas vasculares de cavidade nasal devem ser levados em consideração como diagnósticos diferenciais, além de rinites granulomatosas por outros agentes como *Cryptococcus* spp., *Sporothrix* spp., *Aspergillus* spp. e *Nocardia* spp. (ALTUZARRA et al., 2018; ARENALES et al., 2018).

Alterações sistêmicas podem ser observadas em 55,5% a 70,4% dos gatos (GARCIA-TORRES et al., 2022; VIDES et al., 2011). O aumento dos linfonodos é um dos sinais clínicos não cutâneos mais frequentemente relatados (ABRAMO et al., 2021; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015), descrito em 27% a 52,6% dos casos (PEREIRA; MAIA, 2021; VIDES et al., 2011). A linfadenomegalia pode ser em um único linfonodo ou multicêntrica. Quando o único sinal observado é linfadenomegalia, tanto solitária quanto generalizada, os principais diagnósticos diferenciais são linfoma, metástases de leucemia ou de outras neoplasias, infecção pelo FIV, PIF, bartonelose, micobacteriose, toxoplasmose, criptococose ou outras micoses sistêmicas (PENNISI et al., 2015).

Outros sinais sistêmicos inespecífico como desidratação (presente em 52,6% dos casos), letargia (25% dos casos), perda de peso (21% a 36,8% dos casos), anorexia ou inapetência (21% dos casos) são frequentes (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015; PEREIRA; MAIA, 2021; VIDES et al., 2011). Adicionalmente, pode haver hipertermia em 12% dos casos, palidez de mucosa em 10%, hepatomegalia em 4% a 12,5%, esplenomegalia em 4 a 6,3%, nefromegalia em 6,3%, icterícia e vômitos em 4%, diarreia, atrofia muscular e distensão abdominal em 2% dos casos (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PENNISI, 2015; PEREIRA; MAIA, 2021). Diarreia crônica pode estar associada à doença renal crônica (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022) ou, incomum à raramente, à síndrome da má absorção (PENNISI, 2015) ou gastroenterite granulomatosa induzida por

*Leishmania* spp. (TABAR et al., 2022). Esporadicamente, pode haver caquexia, hipotermia, poliúria e polidipsia, porém, são incomuns (PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015).

Alguns sinais clínicos por vezes considerados inespecíficos como poliúria e polidipsia, vômitos e desidratação podem estar relacionados à doença renal crônica que em alguns casos pode ser desenvolvida decorrente de uma glomerulonefrite por imunocomplexos secundária à infecção por *Leishmania* spp. em gatos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; PENNISI et al., 2013; PENNISI, 2015). Além de azotemia e anormalidades na urinálise, uma hipoalbuminemia pode ser detectada nos exames bioquímicos nesses casos, tendo em vista que a insuficiência glomerular pode levar à proteinúria. Ademais, a resposta inflamatória em si também diminui a produção de albumina pelo fígado (BANETH; SOLANO-GALLEGO; 2022). Outros sinais incomuns a raros já descritos são ataxia, sangramento vaginal (PEREIRA; MAIA, 2021), abortos (PENNISI et al., 2013; PENNISI et al., 2015), edema de face associado à paniculite granulomatosa (MATRALIS et al., 2023) e secreção e aumento de volume da glândula mamária secundária à mastite granulomatosa responsiva ao antimoniato de meglumina (PEREIRA et al., 2019).

#### **2.1.4 Diagnóstico**

O diagnóstico da leishmaniose felina pode ser desafiador, principalmente em áreas endêmicas (PIMENTA et al., 2015), entretanto, algumas questões são essenciais para que se suspeite de leishmaniose em gatos-domésticos. Uma anamnese completa deve levar em consideração a localização geográfica em que o paciente habita, a endemicidade, o histórico de viagens em regiões não endêmicas, o risco de exposição aos flebotomíneos, o possível uso de repelentes e o convívio com cães ou outros animais domésticos (GARCIA-TORRES et al. 2022; NASCIMENTO et al., 2021). Além disso, o gato deve apresentar sinais clínicos e anormalidades clinicopatológicas consistentes (GARCIA-TORRES et al. 2022).

A confirmação da suspeita pode ser feita por meio de técnicas diretas, como citologia, histopatologia, imuno-histoquímica (IHQ), cultura e reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando para isso amostras de pele, conjuntiva, linfonodos, baço, sangue e medula óssea (PENNISI et al., 2013; PEREIRA; MAIA, 2021; PIMENTA et al., 2015). O humor aquoso também pode ser utilizado quando há lesões oculares (MADRUGA et al., 2018). Métodos de detecção de anticorpos também podem ser utilizados, como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA). Menos comumente, o *western blotting* e a aglutinação direta e indireta também são utilizados (PEREIRA; MAIA, 2021).



Frequentemente, múltiplas técnicas são utilizadas concomitantemente para o diagnóstico definitivo (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022).

O exame citológico é utilizado como primeira linha no diagnóstico em 44,4% dos casos (GARCIA-TORRES et al., 2022), devido à eficácia, simplicidade de execução e baixo custo do exame, de maneira que as formas amastigotas de *Leishmania* spp. são visualizadas em 93,9% dos casos (ABRAMO et al., 2021). Para isso, pode-se utilizar da punção por agulha fina (PAF), aspirativa (PAAF) ou não aspirativa, impressão ou raspagem das lesões cutâneas e conjuntivais, ou PAF de outros órgãos acometidos, como linfonodos, medula óssea, baço e fígado (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PEREIRA; MAIA, 2021). A biópsia pode ser guiada pelo ultrassom no caso de PAF de órgãos abdominais parenquimatosos (NAPOLI et al., 2022). Geralmente, as lâminas preparadas a partir das amostras obtidas são coradas pelo Giemsa ou outros kits de corantes rápidos de rotina (panóticos) que permitam a visualização dos amastigotas sob microscopia de luz (NASCIMENTO et al., 2021; PENNISI, 2020). Na maioria dos casos em que não é possível visualizar o parasito na citologia, são utilizados a histopatologia, com ou sem a realização da técnica de IHQ, e/ou a PCR convencional ou quantitativa em tempo real (qPCR) de amostras teciduais variadas (ABRAMO et al., 2021).

Assim como em cães, amostras de biópsia de lesões cutâneas ou mucocutâneas, linfonodos e medula óssea de gatos sintomáticos geralmente apresentam alta carga parasitária na histopatologia, IHQ e qPCR (PENNISI; PERSICHETTI, 2018). O exame histopatológico é utilizado em 31,7% dos casos, geralmente com o intuito de confirmar os achados citológicos (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022). Após a fixação dos espécimes de biópsia no formol tamponado a 10%, as amostras são processadas e embebidas em parafina para posterior emblocamento. Para a confecção das lâminas são seccionadas fitas de 2-4  $\mu\text{m}$  a partir dos blocos de parafinas utilizando um micrótomo rotativo e, por fim, esses fragmentos são corados por meio da técnica de rotina de hematoxilina e eosina (HE). Na microscopia de luz, além do infiltrado inflamatório associado ao agente, os amastigotas também podem ser visualizados (NASCIMENTO et al., 2021; NAVARRO et al., 2010). O diagnóstico definitivo nesses casos pode ser confirmado por meio da IHQ, que evidencia os amastigotas nos tecidos por meio da utilização de anticorpos monoclonais ou soro hiperimune heterólogo de cão ou coelho como anticorpo primário (PENNISI; PERSICHETTI, 2018), sendo útil principalmente em amostras contendo poucas formas parasitárias visíveis (NASCIMENTO et al., 2021).

Adicionalmente, como métodos diretos (parasitológicos) há relatos da utilização da cultura parasitológica, em que fragmentos das lesões ou de amostras de linfonodos e medula

óssea são cultivados em meio bifásico Novy-MacNeal-Nicolle (NNN), com o intuito de demonstrar formas promastigotas. Entretanto, essa técnica não é muito utilizada rotineiramente no diagnóstico por ser pouco sensível e devido ao crescimento lento (NASCIMENTO et al., 2021). Mais comumente, os métodos moleculares são utilizados para confirmação do diagnóstico parasitológico. Esses métodos incluem principalmente as diferentes técnicas de PCR, sendo a convencional e a qPCR as mais utilizadas. Utilizando a PCR, o material genético do parasito pode ser amplificado a partir de amostras de pele, linfonodos, baço, sangue e medula óssea (PEREIRA; MAIA, 2021). Os principais alvos para isso incluem o gene da glicose-6-fosfato-desidrogenase (G6PD), o DNA ribossômico (rDNA) e, especialmente, o DNA do quinetoplasto (kDNA) (NASCIMENTO et al., 2021). Apesar de amplamente utilizada, a positividade na PCR é menor na espécie felina em comparação com os cães, portanto, não deve ser utilizada como único método diagnóstico (PENNISI et al., 2015).

A sorologia é utilizada como método diagnóstico em 76,2% dos casos (GARCIA-TORRES et al., 2022). As técnicas mais utilizadas na rotina são a RIFI e o ELISA, sendo a RIFI mais sensível na detecção das formas subclínicas e infecções recentes e o ELISA altamente sensível na detecção de anticorpos em pacientes clinicamente doentes (NASCIMENTO et al., 2021; PENNISI; PERSICHETTI, 2018). A frequência de detecção de anticorpos pelo ELISA frequentemente é mais alta do que pela RIFI e os resultados podem ser influenciados por alguns fatores envolvendo a metodologia adotada, como o antígeno utilizado no teste (NASCIMENTO et al., 2021).

Os resultados de sorologia são altamente variáveis por não existir uma padronização para a espécie, tanto em relação às diluições quanto aos pontos de corte utilizados. Por exemplo, os valores de *cut-off* para RIFI variam de 1:2 a 1:100 nas publicações, por isso, os resultados de estudos sorológicos podem nem sempre equiparáveis. Da mesma maneira, sabe-se que quando as amostras de soro são pouco diluídas, há chance de ocorrerem reações cruzadas (principalmente entre as espécies de *Leishmania* e *Trypanosoma*) (PENNISI, 2015). Por isso, o LeishVet, uma associação científica de pesquisadores da leishmaniose na medicina veterinária, preconiza o uso de um valor de *cut-off* de 1:80 na RIFI, baseado em controles positivos e negativos (PENNISI, 2015; PENNISI et al., 2015; PENNISI; PERSICHETTI, 2018). É recomendado que o resultado da sorologia seja associado às técnicas de diagnóstico diretas, visto que dependendo do momento da coleta, o resultado pode ser falso-negativo, com a ausência de anticorpos ou titulação abaixo do ponto de corte (PIMENTA et al., 2015).

#### 2.1.4.1 Anormalidades clinicopatológicas

Assim como nos cães, anemia e hiperproteinemia por hipergamaglobulinemia são achados frequentes na leishmaniose felina (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; NAPOLI et al., 2022), assim como resultados laboratoriais associados à insuficiência renal, como proteinúria e azotemia (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Os achados mais frequentes divergem nos trabalhos, de maneira que Pennisi et al. (2015) e Pennisi (2015) descrevem a anemia normocítica normocrômica como anormalidade mais comumente observada. Apesar de não ser a alteração mais comum em outras descrições, a anemia não regenerativa é um dos achados mais consistentes da doença, de maneira que Fernandez-Gallego et al. (2020) observaram anemia normocítica normocrômica em 37,5% dos casos e Garcia-Torres et al. (2022) e Pereira e Maia (2021) descreveram anemia (geralmente normocítica normocrômica) em 33,3% e 31% dos casos, respectivamente.

Quando há suspeita de leishmaniose felina, o proteinograma, realizado através da eletroforese das proteínas, é um dos exames mais importantes no diagnóstico (URBANI et al., 2020), visto que a hiperproteinemia é descrita por muitos autores como a anormalidade clinicopatológica mais frequente, geralmente associada à hiperglobulinemia (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; GARCIA-TORRES et al., 2022; PEREIRA; MAIA 2021). A frequência da hiperproteinemia varia de 36% (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PEREIRA; MAIA, 2021) a 46,3% (GARCIA-TORRES et al., 2022), com hiperglobulinemia descrita em 31% dos casos (PEREIRA; MAIA, 2021), sendo a hipergamaglobulinemia responsável por esse aumento em 71% (GARCIA-TORRES et al., 2022) a 84% (PEREIRA; MAIA, 2021) dos casos. Pennisi (2015) também descreve a hipergamaglobulinemia como um dos dois achados mais frequentes na leishmaniose felina. Essa gamopatia é policlonal em 85,7% a 100% dos casos, semelhante ao que é observado em cães (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; SAVIOLI et al., 2021), mas com descrições pontuais de gamopatia monoclonal (MESTRINHO; TRAVANCINHA; SOBRAL, 2022). Uma diminuição da relação albumina:globulina também é descrita (URBANI et al., 2020).

Assim como em cães, em que a hiperglobulinemia e gamopatia são observados na maioria dos casos (PENNISI et al., 2013), a leishmaniose felina sempre deve ser levada em consideração quando há hipergamaglobulinemia (NAPOLI et al., 2022). Alguns autores inclusive consideram esse achado como um marcador de leishmaniose na espécie (PEREIRA; MAIA, 2021). Entretanto, essa gamopatia geralmente é mais sutil do que em cães, devido à menor produção de anticorpos dos gatos frente ao agente (MARCOS et al., 2009). Além disso,

deve-se levar em consideração que os resultados de exames podem ser influenciados por enfermidades concomitantes. Hiperglobulinemia com gamopatia também pode ser observada em infecções virais crônicas, principalmente na PIF, assim como em bacterioses ou micoses sistêmicas, complexo gengivoestomatite crônica felina, doença inflamatória intestinal e neoplasias como linfoma ou mieloma múltiplo (PENNISI et al., 2015).

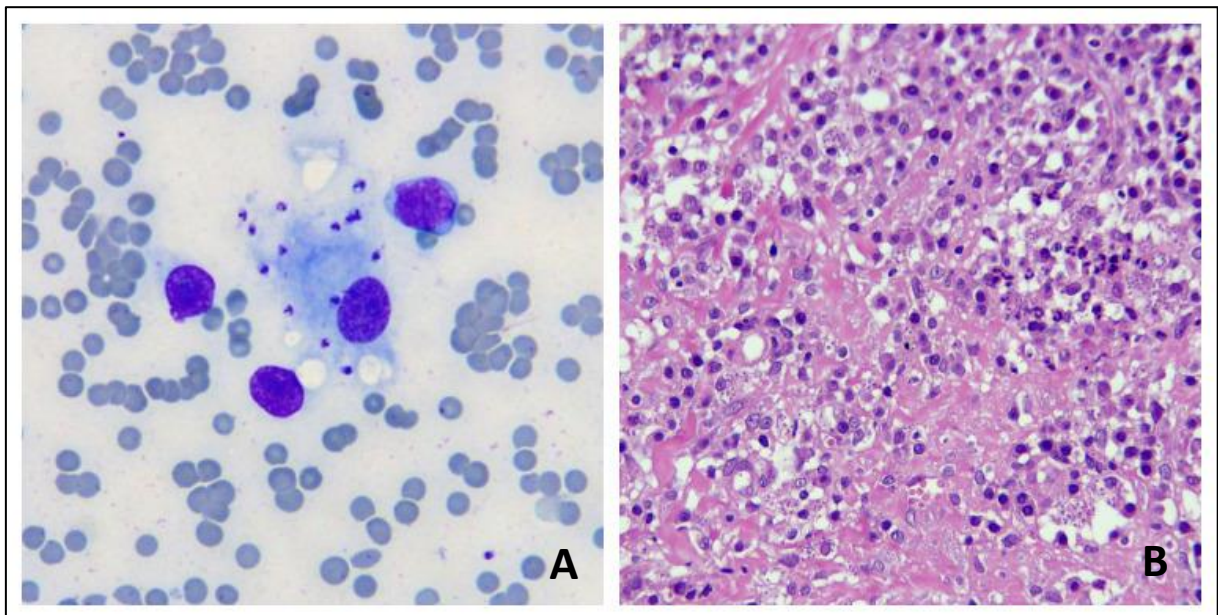
Outros achados também descritos incluem proteinúria em 15,2% a 25% dos casos, azotemia (14,9% a 21%), hipoalbuminemia (6,3% a 19,1%), neutrofilia (12,5% a 19%), aumento de  $\alpha$ -2-globulina (18,8%), trombocitopenia (16,6% a 17%), hiperproteinemia (5% a 12,5%), hiperbilirrubinemia (5% a 12,5%), leucocitose (10%), leucopenia (10%), neutropenia (3% a 8,3%), hiperglicemia (6,3% a 8%), eosinofilia (6,25% a 7%), hipofosfatemia (3% a 6,3%), hiperfosfatemia (3% a 6,3%), elevação dos níveis de ALT (3% a 6,3%) e de CK (3% a 6,3%), bilirrubinúria (4%), glicosúria (4%), elevação dos níveis de AST (3%) e linfopenia (2%) e monocitose (2%) (GARCIA-TORRES et al., 2022; FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020; PEREIRA; MAIA, 2021). Pancitopenia pode ser vista incomumente (GARCIA-TORRES et al., 2022; MARCOS et al., 2009; PENNISI, 2015).

#### 2.1.4.2 Achados citológicos e anatomopatológicos

Em gatos, as informações disponíveis na literatura relacionadas aos achados histopatológicos da leishmaniose são escassas quando em comparação ao que se sabe das lesões induzidas por *Leishmania* spp. em cães, sendo baseadas principalmente em relatos de casos esporádicos com a descrição histopatológica das lesões encontradas. Apenas um estudo descritivo voltado aos achados histopatológicos de uma série de casos foi realizado até hoje por Navarro et al. (2010). Histologicamente, na maioria das vezes, as lesões encontradas na espécie felina consistem em dermatites granulomatosas nodulares a difusas com numerosas formas amastigotas intra-histiocíticas e variável quantidade de linfócitos e plasmócitos (figura 2 A) (MAULDIN; PETERS-KENNEDY, 2016). Frequentemente também há acantose, hiperqueratose, necrose e ulceração da epiderme (NAVARRO et al. 2010; PENNISI et al., 2015; RIVAS et al., 2018; TRAINOR et al., 2010). Entretanto, outros padrões inflamatórios já foram descritos. Na citologia, as lesões geralmente são compostas por um denso acúmulo de macrófagos contendo numerosas formas amastigotas, as quais caracterizam-se como estruturas intracitoplasmáticas arredondadas, com 2-4  $\mu$ m de diâmetro, com núcleo evidente e perpendicular a uma estrutura em formato de bastão (quinetoplasto) (HEADLEY et al., 2019; MIGLIAZZO et al., 2014; RIVAS et al., 2018).

Navarro et al. (2010) descreve lesões oculares (conjuntivite, blefarite e ceratite), cutâneas e mucocutâneas compostas principalmente por um infiltrado granulomatoso difuso. Os anexos cutâneos podem ser circundados pelo mesmo infiltrado inflamatório. Esse infiltrado perianexial, assim como perivascular, também já foi observado por outros autores em um caso de blefarite nodular linfoplasmocítica e granulomatosa (PIMENTA et al., 2015). O padrão difuso de dermatite granulomatosa também já foi descrito associado a numerosas estruturas intracitoplasmáticas com morfologia consistente com formas amastigotas de *Leishmania* spp., etiologia confirmada posteriormente por IHQ. As formas amastigotas também podem ser observadas livres na derme (RIVAS et al., 2018). Em alguns casos semelhantes de perifoliculite granulomatosa também havia hiperplasia sebácea e dilatação de ductos sebáceos e infundíbulo. Por vezes, a junção dermoepidérmica é preservada (zona Grenz) (NAVARRO et al. 2010). Geralmente, linfócitos, plasmócitos, neutrófilos, mastócitos e eosinófilos podem ser observados entremeados no infiltrado em maior ou menor grau (NAVARRO et al., 2010; PIMENTA et al., 2015; RIVAS et al., 2018).

Figura 2 – (A) Exame citológico – punção por agulha fina de linfonodo em gato com leishmaniose – formas amastigotas de *Leishmania* sp. no citoplasma de macrófagos. Giemsa. Obj. 40x. (B) Exame histopatológico – espécime de biópsia de pele de gato com leishmaniose – dermatite granulomatosa e linfoplasmocítica associada a estruturas com morfologia consistente com amastigotas de *Leishmania* sp. HE. Obj. 20x.



Fonte: Dr. Robério Gomes Olinda.

Lesões ulcerativas nas orelhas, região nasal e periorbital induzidas por *L. mexicana* já foram descritas em gatos no Texas. Histologicamente as lesões eram difusas ou nodulares e

compostas por macrófagos espalhados pela derme entremeados por neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e mastócitos. Semelhante ao que foi descrito por Navarro et al. (2010) e Pimenta et al. (2015), acúmulos de linfócitos, plasmócitos e, em menor grau, eosinófilos circundavam vasos sanguíneos. As formas amastigotas, com 2-4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, eram numerosas e localizavam-se no citoplasma de macrófagos, dentro de espaços arredondados e vazios (vacúolos parasitóforos), e por vezes livres na derme, como descrito por Rivas et al. (2018). Essas formas não coravam por GMS (*Grocott-Gomori's methenamine silver*) ou por PAS (ácido periódico de Schiff), mas coravam pelo Giemsa na maioria dos casos (TRAINOR et al., 2010). Lesões histopatológicas semelhantes foram encontradas por Rüfenacht et al. (2005) em um gato com um nódulo cutâneo ulcerado na região do tarso.

Um infiltrado linfoplasmocítico na junção dermoepidérmica e circundando os anexos cutâneos (dermatite de interface liquenoide), entremeado por alguns neutrófilos e, em menor número, macrófagos contendo poucas formas amastigotas em seu citoplasma já foi descrito, mas é um padrão incomum associado à infecção por *Leishmania* spp. na espécie felina, em que geralmente prevalece a inflamação granulomatosa. Outro padrão já descrito consistia em um infiltrado granulomatoso difuso com numerosos eosinófilos, hiperplasia da epiderme, espongirose, microvesículas contendo eosinófilos e figuras em chama (achados consistentes com complexo granuloma eosinofílico felino), o que pode ser sugestivo de uma reação de hipersensibilidade. Entretanto, um padrão incomum de lesão associado à infecção por *Leishmania* spp. não pode ser descartado (NAVARRO et al. 2010).

Rüfenacht et al. (2005) relatou o caso de um gato com lesões crostosas, ulcerativas e eritematosas nas orelhas e no plano nasal com evolução de três anos. A histopatologia revelou que as lesões consistiam em pústulas intraepidérmicas contendo neutrófilos intactos e queratinócitos acantolíticos, assim como um infiltrado perivascular de linfócitos, achados indicativos de pênfigo foliáceo. Entretanto, o gato apresentava sorologia alta para *Leishmania* spp., assim como DNA do parasito detectado pela PCR, sendo o primeiro relato de um gato com pênfigo foliáceo e infecção por *Leishmania* spp. concomitantes (RÜFENACHT et al., 2005). Uma dermatite pustular focal intraepidérmica também já foi descrita associada à infecção por *Leishmania* spp. por outros autores (PIMENTA et al., 2015).

Ocasionalmente, a lesão cutânea pode ser uma dermatite granulomatosa, com macrófagos espumosos e células gigantes multinucleadas contendo numerosas formas amastigotas em seu citoplasma, entremeados por infiltrado linfocítico leve ou ausente. Esse padrão de inflamação com células gigantes multinucleadas também pode ocorrer em lesões oftalmológicas. Entretanto, mais comumente, as lesões oftalmológicas são compostas por uma

inflamação granulomatosa e linfoplasmocítica nodular ou difusa, acometendo apenas a conjuntiva (conjuntivite), podendo se estender do limbo ao estroma corneano (ceratite/ceratonjuntivite) ou até o estroma da íris, corpo ciliar e coróide (panuveíte) (NAVARRO et al., 2010; PIMENTA et al., 2015).

Quando as lesões são oftalmológicas, as formas amastigotas podem ser visualizadas pela citologia de conjuntiva, córnea e humor aquoso. Após enucleação ou numa avaliação pós-mortal, as lesões associadas ao parasito podem ser visualizadas por meio da histopatologia (PENNISI et al., 2015). A citologia é mais utilizada rotineiramente na rotina oftalmológica, e normalmente revela inflamação granulomatosa contendo numerosas formas amastigotas de *Leishmania* spp. intra e extracelulares (MADRUGA et al., 2018; PIMENTA et al., 2015). Em todas as lesões oculares no estudo realizado por Navarro et al. (2010) havia alta densidade parasitária (acima de 50 amastigotas em cinco campos de grande aumento – CGA) detectada por meio da IHQ. Nas lesões de mucosa e mucocutâneas o infiltrado linfocítico era sempre mais leve do que nas lesões cutâneas, entretanto, as formas amastigotas no interior de macrófagos eram mais numerosas. Dessa maneira, a alta carga parasitária encontrada na maioria das lesões em gatos sugere que a espécie possa agir como um reservatório importante de *Leishmania* spp. na presença de doença clínica (NAVARRO et al. 2010).

Apesar das lesões de cavidade oral serem comuns na leishmaniose felina, presentes em cerca de 25% dos gatos (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020), há poucas descrições dos achados histopatológicos. Uma gengivite úlcero-hemorrágica piogranulomatosa e linfoplasmocítica associada a bactérias e numerosas formas amastigotas de *Leishmania* spp. intralesionais, que regrediu um mês após o início do tratamento com alopurinol já foi descrita (MESTRINHO; TRAVANCINHA; SOBRAL, 2022). Em outro relato, havia uma estomatite granulomatosa difusa e acentuada, composta principalmente de macrófagos contendo numerosos organismos com morfologia consistente com protozoários intracitoplasmáticos. Na sorologia para *Leishmania* spp., o gato apresentava titulação de 1:320 (MIGLIAZZO et al., 2014).

Rinite granulomatosa pode ser observada em alguns casos de leishmaniose felina (ALTUZARRA et al., 2018; ARENALES et al., 2018; LEAL et al., 2018; MIGLIAZZO et al., 2014). Microscopicamente, observa-se um acúmulo de macrófagos, assim como linfócitos e plasmócitos que pode infiltrar a submucosa e se expandir até os turbinados nasais. No interior dos macrófagos visualiza-se amastigotas intracitoplasmáticas redondas a ovais, com aproximadamente 2-4  $\mu\text{m}$  de diâmetro, contendo núcleo oval de aproximadamente 1  $\mu\text{m}$  de diâmetro com quinetoplasto adjacente (ALTUZARRA et al., 2018; ARENALES et al., 2018;



LEAL et al., 2018). Adicionalmente, pode haver células gigantes multinucleadas (ALTUZARRA et al., 2018), hiperplasia osteoblástica e hipertrofia do periósteo das conchas nasais (ARENALES et al., 2018). A citologia de cavidade nasal pode ser feita com escova ginecológica, e normalmente revela numerosas estruturas com morfologia consistentes com amastigotas de *Leishmania* spp. (ARENALES et al., 2018; MIGLIAZZO et al., 2014).

Em exames pós-mortais, o diagnóstico também pode ser feito a partir de amostras de baço, linfonodos, fígado, medula óssea, rins, pâncreas e sistema gastrointestinal por meio da histopatologia (PENNISI et al., 2013). Frequentemente, encontra-se um infiltrado granulomatoso a piogranulomatoso associado às formas amastigotas de *Leishmania* spp. Nos órgãos linfoides pode haver hiperplasia linfoide concomitantemente (PENNISI et al., 2015). Nos linfonodos, além da hiperplasia linfoide, geralmente há com expansão dos cordões de Billroth por plasmócitos e macrófagos, também presentes no paracórtex, com ou sem a visualização das amastigotas (ARENALES et al., 2018; MARCOS et al., 2009; TABAR et al., 2022). Também já foi descrita atrofia folicular, com perda de folículos secundários e atrofia de centros germinativos (MARCOS et al., 2009).

Esplenomegalia difusa decorrente de hiperplasia linfoide com infiltrado histiocítico abundante é bem descrita na leishmaniose felina. Nesses casos, numerosas formas amastigotas intracitoplasmáticas e livres estão presentes na zona marginal, folículos linfoides e ao redor das arteríolas (NAVARRO et al., 2010; TABAR et al., 2022). Outros achados incluem atrofia da polpa branca e expansão da polpa vermelha por macrófagos exercendo atividade eritrofágica. Megacariócitos podem estar presentes na polpa vermelha demonstrando hematopoiese extramedular (MARCOS et al., 2009). No parênquima hepático pode ser observado necrose centrolobular multifocal com fibrose secundária e acúmulo de macrófagos contendo hemossiderina. Também pode haver colangite linfoplasmocítica ou pericolangite granulomatosa com numerosas amastigotas, sendo que alguns desses macrófagos podem ser observados em meio ao parênquima (MARCOS et al., 2009; NAVARRO et al., 2010).

Na medula óssea geralmente há plasmocitose e numerosos macrófagos espumosos contendo formas amastigotas de *Leishmania* spp. intra e extracitoplasmáticas esparsas e escassas (PIMENTA et al., 2015; TABAR et al., 2022). Entretanto, uma medula óssea hipocelular, com fibrose, alguns linfócitos e plasmócitos maduros, com áreas residuais de hematopoiese contendo grandes blastos com ausência de maturação eritroide e mieloide já foi descrita. Esses blastos eram grandes (20–25 µm de diâmetro), com alta relação núcleo-citoplasmática, citoplasma moderado, núcleos redondos centrais a paracentrais, nucléolos centrais grandes e visíveis. Em algumas áreas, os megacariócitos eram displásicos



(hipolobulados) (MARCOS et al., 2009). Nos rins, descreve-se glomerulonefrite membranosa com infiltrado intersticial linfoplasmocítico e histiocítico, assim como fibrose intersticial e proteinose tubular (MARCOS et al., 2009; NAVARRO et al., 2010; PIMENTA et al., 2015). Nos pulmões pode haver edema, enfisema e hiperplasia difusa da musculatura brônquica (MARCOS et al., 2009; PIMENTA et al., 2015).

Apresentações incomuns já descritas são paniculite, mastite e gastroenterite granulomatosa e linfoplasmocítica associadas às formas amastigotas de *Leishmania* spp. (MATRALIS et al., 2023; PEREIRA et al., 2019; TABAR et al., 2022). No caso de mastite, o parasito também era visualizado na citologia da secreção mamária (PEREIRA et al., 2019). Microscopicamente, os principais diagnósticos diferenciais das lesões induzidas por *Leishmania* spp. devem incluir infecção por *Toxoplasma gondii*, *Histoplasma capsulatum*, *Trypanosoma cruzi*, *Neospora caninum*, *Cryptococcus neoformans*, *Blastomyces dermatitidis* e *Sporothrix schenckii*. Técnicas de colorações especiais podem auxiliar na diferenciação, entretanto, a PCR é mais específica (TRAINOR et al., 2010).

### **2.1.5 Tratamento e prevenção**

Estudos controlados a respeito da eficácia e segurança de cada medicamento utilizado no tratamento da leishmaniose não foram realizados na espécie felina (NAPOLI et al., 2022). O tratamento medicamentoso é o mais comumente utilizado, sendo o alopurinol o fármaco de eleição na maioria dos casos, podendo ser associado a outros antiprotozoários, como o antimoniato de meglumina e a miltefosina, também utilizados individualmente em alguns pacientes (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Em uma série de casos não publicados da infecção por *Leishmania* spp. em gatos na Itália, também se relata o uso da domperidona (ABRAMO et al., 2021). O tratamento, além de reduzir a carga parasitária, promove um aumento no grau de bem-estar do paciente infectado e a remissão dos sinais clínicos, entretanto, os dados disponíveis na literatura a respeito de tratamento e acompanhamento a longo prazo são escassos (NAPOLI et al., 2022).

A monoterapia com alopurinol tem sido descrita como o tratamento mais utilizado na leishmaniose felina, administrado em 74,4% dos casos (GARCIA-TORRES et al., 2022), e se demonstra eficiente. Contudo, alguns efeitos colaterais como prurido cutâneo intenso, principalmente na região do tronco, já foram reportados após seu uso (BRIANTI et al., 2019). Leal et al. (2018) também descreveu um caso grave de farmacodermia associada ao tratamento com alopurinol. Coprostase também já foi descrita como um efeito colateral durante essa terapia

(NAPOLI et al., 2022). Adicionalmente, o uso do medicamento a longo prazo pode causar elevação das enzimas hepáticas (ALT e AST) e nefrotoxicidade (BRIANTI et al., 2019; PENNISI, 2015). Tanto em gatos tratados quanto em não tratados, pode haver aumento de ureia e creatinina, mas esse aumento pode ser devido ao desenvolvimento de glomerulonefrite por deposição de imunocomplexos (PENNISI, 2015). Descreve-se também o desenvolvimento de xantínúria e formação de urólitos induzidos pelo alopurinol em alguns gatos (GARCIA-TORRES et al., 2022). Portanto, o acompanhamento dos níveis séricos dos compostos nitrogenados, assim como urinálise periódica devem ser adotados quando se utiliza o alopurinol como fármaco de eleição.

Em relação às doses, é descrita principalmente a administração a longo prazo (por pelo menos seis meses) de alopurinol 10-20 mg/kg,BID ou SID, ou 20 mg/kg SID por pelo menos seis meses, associado ou não a antimoniato de meglumina, que também pode ser administrada individualmente, sob a dose de 5-50 mg/kg ou 375 mg/gato SID pela via subcutânea ou intramuscular por 30 dias (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Nas poucas descrições em que se relata o uso da miltefosina, as doses descritas são de 2 mg/kg, SID, por via oral, por 28 dias (GARCIA-TORRES et al., 2022; LEAL et al., 2018). Apesar de ser utilizada em alguns casos, o Milteforan™ (Virbac) tem o propilenoglicol presente no excipiente, composto que pode ocasionar a formação de corpúsculos de Heinz, levando ao encurtamento do tempo de vida das hemácias em gatos. Essas alterações não foram descritas nos casos em que o medicamento foi a terapia de escolha (GARCIA-TORRES et al., 2022; PENNISI; PERSICHETTI, 2018).

A sobrevida dos felinos com leishmaniose geralmente é de meses, tanto para pacientes tratados quanto não tratados (PENNISI; PERSICHETTI, 2018). O tempo de sobrevida varia de 0 a 2.700 dias (média 432 dias), sendo que a expectativa é muito maior em gatos tratados (520 dias) do que não tratados (210 dias), demonstrando a importância do fornecimento da terapia medicamentosa na espécie (GARCIA-TORRES et al., 2022). Há descrições em que pacientes tratados para leishmaniose especificamente apresentaram sobrevida de 17 meses, sendo de 13 meses para aqueles tratados para outras doenças concomitantes e 41 meses para aqueles sem doenças concomitantes (FERNANDEZ-GALLEGO et al., 2020).

A excisão cirúrgica das lesões cutâneas sem tratamento medicamentoso concomitante resulta na recidiva das lesões (PENNISI et al., 2013). Da mesma maneira, além do tratamento clínico, gatos infectados devem utilizar coleiras repelentes para evitar que ocorra reinfecção durante o tratamento, que pode causar uma recidiva dos sinais clínicos (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022). Compostos químicos piretroides são comumente utilizados em coleiras

repelentes, contudo, substâncias como permetrina e deltametrina são tóxicas para a espécie felina. A flumetrina é bem tolerada (PENNISI et al., 2015) assim como as coleiras impregnadas por imidacloprida (BRIANTI et al., 2019), ambos compostos presentes na composição da coleira Seresto Cat® (Bayer), que comprovadamente diminui o risco de infecção por *Leishmania* spp. em gatos, auxiliando na prevenção e controle da doença em áreas endêmicas, sem causar dermatites cervicais importantes (BRIANTI et al., 2017).

Adicionalmente, apesar de não haver relatos de casos de infecção por *Leishmania* spp. a partir de transfusão sanguínea descritos na espécie, gatos doadores de sangue devem ser testados, pois essa via de transmissão já foi descrita em humanos e cães (BANETH; SOLANO-GALLEGO, 2022; PENNISI et al., 2015). Ainda, gatos podem ser positivos na PCR de sangue (MADRUGA et al., 2018; PENNISI; PERSICHETTI, 2018; PIMENTA et al., 2015), o que agrega relevância à hipótese da transfusão sanguínea como possível meio de infecção.

### 3 ARTIGO

1 Original Paper

2

3 **Anti-*Leishmania* spp. antibody detection in domestic cats from a visceral leishmaniasis**  
4 **transmission area**

5

6 Gabriela Hartmann<sup>1\*</sup>; Isac Junior Roman<sup>2</sup>; Douglas Miotto Lorenzetti<sup>3</sup>; Alana Pivoto  
7 Herbichi<sup>4</sup>; Renata Dalcol Mazaro<sup>5</sup>; Matheus Yuri dos Santos<sup>6</sup>; Alexandre Alberto Tonin<sup>7</sup>;  
8 Fernanda Silveira Flôres Vogel<sup>8</sup>; Rafael Almeida Fighera<sup>9</sup>

9

10 Acknowledgments

11

12 This work was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de  
13 Nível Superior – Brasil (CAPES) – Finance Code 001.

14

15 <sup>1</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
16 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
17 RS, 97105-900, Brazil. E-mail: gabrielahartmann96@gmail.com. <https://orcid.org/0000-0001-8740-3053>

18 <sup>2</sup>Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP),  
19 Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building  
20 63C, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-1974-4769>

21 <sup>3</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
22 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
23 RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-8515-513X>

24 <sup>4</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
25 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
26 RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-5910-8444>

27 <sup>5</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
28 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
29 RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-4475-4862>

30 <sup>6</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
31 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
32 RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0001-6142-0445>

33 <sup>7</sup>Colégio Politécnico da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Bairro Camobi, Santa  
34 Maria, RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0002-4236-8976>

35 <sup>8</sup>Laboratório de Doenças Parasitárias (LADOPAR), Departamento de Medicina Veterinária Preventiva (DMVP),  
36 Centro de Ciências Rurais (CCR), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building  
37 63C, Bairro Camobi, Santa Maria, RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-1351-9912>

38 <sup>9</sup>Laboratório de Patologia Veterinária (LPV), Departamento de Patologia, Centro de Ciências da Saúde (CCS),  
39 Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Av. Roraima, 1000, Building 97B, Bairro Camobi, Santa Maria,  
40 RS, 97105-900, Brazil. <https://orcid.org/0000-0003-3391-5955>

41

42 Abstract

43

44 Feline leishmanial infection is reported worldwide, but the epidemiological role of domestic  
45 cats in the leishmaniasis cycle remains unclear, and cats might act as cryptic reservoir hosts in  
46 endemic areas with no feline leishmaniosis cases. Considering that, a serological screening for  
47 anti-*Leishmania* spp. antibodies was performed by indirect immunofluorescence antibody test  
48 (IFAT) in 389 necropsied cats' serum samples from a new visceral leishmaniasis transmission  
49 area with no feline leishmanial infection reported to unveil if the cats are being exposed to the  
50 parasite. The overall seroprevalence for *Leishmania* spp. was 11,05% (43/389). Statistical

51 significance was not found between sex, neutering status, age group, breed, coat length, feline  
52 immunodeficiency virus (FIV) infection, and *Leishmania* spp. antibody detection. A positive  
53 association was found with coat color (cats within the orange spectrum with white [particolor])  
54 with  $p=0.044$  and  $OR=2.47$  (1 – 6.13) and a negative association, with  $p=0.01$  and  $OR=0.38$   
55 (0.18 – 0.79), between feline leukemia virus (FeLV) infection and IFAT positivity for  
56 *Leishmania* spp. Henceforth, parasite DNA detection by molecular studies is required to  
57 determine if it's exposition or infection.

58

59 Keywords: feline leishmaniosis, indirect immunofluorescence antibody test (IFAT), feline  
60 leukemia virus (FeLV), coat color.

61

62

63 Introduction

64

65 Leishmaniasis is a spectrum of chronic, infectious diseases caused by flagellated  
66 kinetoplastid protozoa of the genus *Leishmania* that affect a wide range of animal species,  
67 including humans (Solano-Gallego and Baneth 2012). The disease is prevalent in tropical and  
68 subtropical countries around the world (Cardoso et al. 2021), particularly in the Mediterranean  
69 Basin, Middle East, Americas, and Northern Africa (Solano-Gallego and Baneth 2012). The  
70 reservoir hosts of the parasite include wild and domestic animals, with the domestic dog (*Canis*  
71 *familiaris*) being the most important host for *L. infantum*, especially in urban areas (Lainson  
72 and Rangel 2005). However, recently, the role of the domestic cat (*Felis catus*) in the  
73 epidemiology of the disease has been investigated, as cats may act as cryptic reservoirs in  
74 endemic regions (Asfaram et al. 2019).

75 Domestic cats are susceptible to the same *Leishmania* species as dogs and humans from  
76 similar geographic areas, as the already identified species include *L. infantum*, *L. mexicana*, *L.*  
77 *venezuelensis*, *L. amazonensis*, *L. braziliensis* (Solano-Gallego and Baneth 2012; Pennisi et al.  
78 2015; Pennisi and Persichetti 2018), *L. major* and *L. tropica* (Paşa et al. 2015). In Brazil, three  
79 species of *Leishmania* have already been identified: *L. infantum* (Savani et al. 2004), *L.*  
80 *braziliensis* (Schubach et al. 2004), and *L. amazonensis* (Carneiro et al. 2020). Among these,  
81 *L. infantum* is responsible for the majority of the cases in the country (Nascimento et al. 2022),  
82 as has been reported worldwide, where 63% of the infections are caused by this species  
83 (Asfaram et al. 2019).

84 As in all susceptible vertebrates, infected phlebotomine sandfly bites are the main form  
85 of infection for cats. Other transmission forms haven't been described yet for this species. Thus,  
86 in endemic areas for canine leishmaniosis, cats are potentially susceptible to *L. infantum*  
87 infection (Pennisi et al. 2015). In Brazil, the most epidemiologically relevant vector for *L.*  
88 *infantum* belongs to the genus *Lutzomyia* (Diptera, Psychodidae), with *Lutzomyia longipalpis*  
89 being the main vector (Lainson and Rangel 2005) and *Lu. cruzi* an important vector in some  
90 transmission foci (Oliveira et al. 2018). In addition to being among the species that sandflies  
91 blood-feed on (Rêgo and Soares 2021), infected cats can transmit the parasite to the vector  
92 (Mendonça et al. 2020; Vioti et al. 2021), which, in experimental conditions, can later infect  
93 dogs after feeding on the infected cat (Batista et al. 2020).

94 Currently, the region where this study was conducted is considered a transmission area  
95 for visceral leishmaniasis (VL). In 2018, when the samples were first collected, nine dogs were  
96 necropsied with leishmaniosis as the cause of death or the reason for euthanasia. In comparison,  
97 in 2021, 41 cases were registered, representing an increase of over 300% in the number of fatal  
98 cases (Souza et al. 2022), demonstrating the increasing expansion of the canine disease.

99 Additionally, the municipality also registered two cases of human visceral leishmaniasis in  
100 2020 and 2021 (CEVS 2021), and one of the cases resulted in the death of a man with a history  
101 of comorbidities and a situation of social vulnerability.

102 Despite the area's current status, no cases of feline leishmaniosis are registered. In  
103 contrast, autochthonous cases of feline leishmaniosis have been reported for years in other  
104 endemic and non-endemic regions of Brazil, mostly in areas where canine leishmaniosis and  
105 VL are endemic for years. The disease was first diagnosed and reported in 2004, in São Paulo  
106 State, Southeastern Brazil (Savani et al. 2004). Thenceforth, 14 states of the country reported  
107 feline leishmanial infection (Mendonça et al. 2017; Nascimento et al. 2022; Oliveira et al.  
108 2020). It is of great importance to know if cats are possible leishmanial reservoirs in  
109 transmission areas, since they are the second most frequent pet in the world (Ahuir-Baraja et  
110 al. 2021). Therefore, a serological screening became a necessity to determine if the cats in new  
111 VL transmission areas are being exposed to *Leishmania* spp.

112

## 113 Material and methods

114

### 115 1 Study area, feline population, and sampling

116

117 All 389 samples were obtained by blood collection of all the cats necropsied between  
118 April 2018 and May 2022 in a veterinary pathology laboratory from an enzootic area for canine  
119 leishmaniosis (Santa Maria, Rio Grande do Sul State, Southern Brazil). The blood samples were  
120 centrifuged, and the sera were separated and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the serological analysis. Data  
121 concerning sex (male or female), neutering status (neutered or intact), breed (mixed-breed or  
122 purebred), coat length (short, semi-long, or long), coat pattern and color, and cause of death or



123 reason for euthanasia were recorded for each individual. Regarding the age group, the cats were  
124 classified as kittens (up to 1 year), adults (1 to 10 years), or seniors (over 10 years old) (Quimby  
125 et al. 2021).

126 None of the necropsied cats had a previous clinical history of leishmaniosis or gross  
127 lesions resembling the disease. Therefore, all the cadavers underwent a thorough gross  
128 examination during necropsy to verify the presence of any of those lesions, and the tissues were  
129 further analyzed by histopathology.

130 The cats were divided into 9 groups considering the coat color within the visible  
131 spectrum. Group 1 (n=58) was represented by cats that were black solid only. Cats within the  
132 blue spectrum (solid blue, black smoke, blue mackerel [striped] tabby, blue mackerel tabby  
133 with white [particolor], blue *tortie*, and blue *torbie*) composed Group 2 (n=55). Group 3 (n=45)  
134 included dark-pointed cats such as seal point, seal *tortie* point, seal *torbie* point, seal lynx, blue  
135 point, and blue lynx. Group 4 (n=38) comprised cats within the orange spectrum (red mackerel  
136 tabby, red classic tabby, cream mackerel tabby, and solid cream), and Group 5 (n=32) included  
137 the orange spectrum cats with wide white parts, like red mackerel tabby with white, black *tortie*  
138 with white (calico), red point, and cream lynx. The red spectrum cats (brown mackerel tabby,  
139 brown classic tabby, brown *torbie*, and black *tortie*) composed Group 6 (n=45) and the red  
140 spectrum cats with wide white parts (brown mackerel tabby with white, brown classic tabby  
141 with white, and brown *torbie* with white), Group 7 (n=32). Groups 8 (n=46) and 9 (n=25) were  
142 the bicolor cats (black and white or blue and white), and the predominantly white cats (white  
143 solid, blue and white van, black and white van, red mackerel tabby van, and brown mackerel  
144 tabby van), respectively. Information on the haircoat color and pattern of 13 cats was not  
145 available.

146

## 147 2 Serological analyses

148

### 149 2.1 Detection of anti-*Leishmania* spp. antibodies by indirect immunofluorescence antibody test 150 (IFAT)

151

152 All sera were tested by IFAT for *Leishmania* spp. antibodies. Immunofluorescence  
153 slides were sensitized with *L. infantum* promastigotes maintained in cell culture and fixed on  
154 the slide with acetone. After the preparation of the slides, the samples were diluted in  
155 phosphate-buffered saline (PBS) at 1:80, which is the cut-off value recommended by the current  
156 LeishVet guideline (Pennisi et al. 2015). Following dilution, the samples were added to the  
157 slides and incubated in a humidity chamber at 37°C for 40 minutes. Next, the slides were rinsed  
158 in distilled water and PBS and dried. Then, the commercial fluorescein-labeled anti-Cat IgG©  
159 (Goat Anti-Cat IgG FITC®, F4262, Sigma-Aldrich, San Luis, Missouri, USA) was added to  
160 the slides as the secondary antibody, diluted in 1:100, as recommended by the manufacturer.  
161 The slides were incubated in a humidity chamber at 37°C for 40 minutes, rinsed in distilled  
162 water and PBS, submerged in Evans blue for 2 minutes, and then set up for evaluation. The  
163 fluorescence of each sample was evaluated using a fluorescent microscope (Optiphase  
164 INV403F) at 400x magnification. A serum sample of a cat that previously tested positive and a  
165 sample of a cat from a non-endemic area for VL were used as a positive and negative control,  
166 respectively. The samples that showed complete cytoplasmatic or membrane fluorescence were  
167 considered positive (Figure 1). Positive sera were serially diluted in two-fold dilutions to  
168 determine the endpoint titer.

169

170 2.2 Detection of feline immunodeficiency virus (FIV) antibodies and feline leukemia virus  
171 (FeLV) antigen

172

173           Concerning the retroviral status of the studied cats, the sera of 189/389, including all the  
174 *Leishmania spp.* seropositive cats, were tested using a commercial rapid assay kit (SNAP® FIV  
175 Antibody/FeLV Antigen Combo Test: IDEXX Laboratories, Westbrook, ME, USA) for the  
176 detection of p27 FeLV antigen and FIV antibodies.

177

178 3 Statistical analyses

179

180           The chi-square was performed to identify possible associations between the studied  
181 variables and the presence of antibodies for *Leishmania spp.* Results were considered  
182 significant when the *p-value* was <0.05. Odds ratios (OR) and 95% confidence intervals (95%  
183 CI) of *L. infantum* antibodies and the variables were also calculated. Statistical analyses were  
184 performed by SPSS (IBM SPSS Statistics® version 28), a commercially available software  
185 program (IBM Corp. 2021).

186

187 Results

188

189           Among the total 389 serum samples of cats tested by IFAT, 11,05% (43/389) were  
190 seropositive for *Leishmania spp.* The antibody titer ranged from 1:80 to 1:640 among those  
191 cats, with 46,51% (20/43) presenting an antibody titer of 1:80, 46,51% (20/43) presenting an  
192 antibody titer of 1:160, 4,65% (2/43) presenting an antibody titer of 1:320 and 2,33% (1/43)  
193 presenting an antibody titer of 1:640.

194 Of those cats, 53,49% (23/43) were male, and 46,51% (20/43) were female. 95,35%  
195 (41/43) were mixed breed and 4,65% (2/43) were purebred, both Persians. Regarding the age  
196 group of the cats, 6,98% (3/43) were kittens, 76,74% (33/43) were adults and 16,28% (7/43)  
197 were seniors. Considering coat length, 78,04% (32/41) of them were short-haired, 17,07%  
198 (7/41) were semi-longhaired and 4,87% (2/41) were long-haired. The coat length of two cats  
199 was not available. Seropositivity for *Leishmania* spp. was not significantly related to sex,  
200 neutering status, breed, or age group ( $p>0.05$ ).

201 In addition, 16,6% (8/43) of them were FIV positive and 27,91% (12/43) were FeLV  
202 positive. A negative correlation was found between FeLV infection and IFAT positivity for  
203 *Leishmania* spp., with  $p=0.008$  and  $OR=0.38$  (0.18-0.79). All the epidemiological data,  
204 titration, as well as the causes of death or reason for euthanasia from each seropositive cat are  
205 listed in Table 1, and none of them had gross or microscopic lesions compatible with feline  
206 leishmaniosis. A positive association between group 5 (orange spectrum cats with wide white  
207 parts) and *Leishmania* spp. seropositivity was found, with  $p=0.044$  and  $OR=2.47$  (1.00 – 6.13).  
208 Statistical analyses from all epidemiological data and the coat color groups are described in  
209 Tables 2 and 3, respectively.

210

## 211 Discussion

212

213 Similar to what has been described for dogs, the prevalence of *Leishmania* spp. infection  
214 on feline populations has been commonly estimated by specific antibody detection, more  
215 frequently by IFAT and enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). ELISA is described as  
216 a proper method for diagnosing clinical leishmaniosis, while IFAT has a higher sensitivity,  
217 hence being more useful in detecting the subclinical forms and populations screenings

218 (Persichetti et al. 2017). In VL transmission areas, the feline seroprevalence demonstrates  
219 highly variable results, ranging from 0 to 68.5% (Pennisi et al. 2015). In Brazil, some  
220 serological studies had already been performed, demonstrating the same inconsistency, ranging  
221 from 0 to 54% for *L. infantum* (Nascimento et al. 2022). That inconsistency may be due to the  
222 different endemicity status and the use of different diagnostic methods and cut-off values, as  
223 there are no standardized protocols nor a gold-standard method for diagnosing *Leishmania*  
224 spp. infection in cats (Iatta et al. 2019). Our findings were similar to the overall prevalence of  
225 feline leishmanial infection in other parts of the world, estimated to be 10% (Asfaram et al.  
226 2019).

227         Some comparative studies have demonstrated that cats may have greater seroprevalence  
228 than dogs exposed to the same environmental conditions, although infected dogs had a higher  
229 parasite load than infected cats, emphasizing the role of the dog as the main reservoir and most  
230 efficient spreader of *L. infantum* (Baneth et al. 2020). However, cats more often present lower  
231 seroprevalence than dogs in the same areas (Pennisi et al. 2015). That is the case in this VL  
232 transmission area, where in 2021, anti-*Leishmania* spp. antibodies were detected in 23%  
233 (250/1087) of canine serum samples (Souza et al., 2022), while 11,05% (43/389) of the cats in  
234 our study were seropositive. A cross-reaction between *L. infantum* and other dermatropic  
235 *Leishmania* strains and *Trypanosoma* spp. is possible by serology methods, but the IFAT 1:80  
236 cut-off point reduces those reactions (Pennisi and Persichetti 2018).

237         We found out that the cats of this new VL transmission area are being exposed  
238 to *Leishmania* spp., but further studies are necessary to differentiate if the cats are being truly  
239 infected or just exposed, as the definition of infection in leishmaniasis is based on the  
240 combination of the detection of specific antibodies and parasite DNA (Cardoso et al. 2021).  
241 Since no cases of feline leishmaniosis have been registered in our region, cats may be acting as

242 cryptic reservoir hosts. Although leishmanial infection is usually detected in  
243 immunocompromised cats because of overt disease, asymptomatic infection may occur in  
244 immunocompetent individuals (Asfaram et al. 2019). Therefore, molecular studies are required  
245 to confirm it, considering that cats may not show signs of overt disease even when truly infected  
246 (Cardoso et al. 2021).

247         As far as it's known, cats probably have a natural resistance to disease development  
248 since clinical signs are usually associated with immunosuppression (Pennisi et al. 2015). In  
249 dogs, clinical progressive disease is associated with the inability to architect an effective cell-  
250 mediated immune response, characterized by the expression of interleukin-2 (IL-2), tumor  
251 necrosis factor-alpha (TNF- $\alpha$ ), and interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ), which induces intracellular  
252 amastigote destruction by macrophages (Day 2016; Pereira and Maia 2021). In most cats, it  
253 seems that *Leishmania* spp. induce a cell-mediated protective immune response (Pereira and  
254 Maia 2021). Additionally, *L. infantum* infection and clinical disease in cats are associated with  
255 individual susceptibility, sandfly alimentary preferences, inoculum size during blood-feeding,  
256 the number of infected sandfly bites, and co-infections with immunosuppressive agents (Baneth  
257 et al. 2020) such as FIV, that impairs the cell-mediated immune response, increasing the risk of  
258 disease development (Iatta et al. 2019).

259         Dermatologic signs, such as alopecia and dermatitis (nodular, ulcerative, crusting,  
260 exfoliative, or a combination of them), especially in the head and limbs, are the most common  
261 lesions reported in sick cats. Additionally, mucocutaneous ulcerative or nodular lesions are  
262 frequently reported, as well as ocular signs, such as blepharitis, chemosis, keratitis,  
263 conjunctivitis, and/or uveitis. Systemic lesions such as lymph node enlargement, hepatomegaly,  
264 and nephromegaly, have also been described (Fernandez-Gallego et al. 2020; Pennisi et al.  
265 2015; Rocha et al. 2019). Unusual to rare manifestations of *L. infantum*-induced granulomatous

266 rhinitis (Arenales et al. 2018; Leal et al. 2020) and granulomatous enteritis (Tabar et al. 2022),  
267 have also been reported. None of the seropositive cats in this study had similar lesions.

268 A positive association between FIV (Akhtardanesh et al. 2020; Alcover et al. 2021; Iatta  
269 et al. 2019; Priolo et al. 2022; Sobrinho et al. 2012), FeLV (Akhtardanesh et al. 2020; Sherry  
270 et al. 2011), and *L. infantum* infection is described and even pointed as a major risk factor,  
271 considering that FIV-positive cats might be 2.8 (Priolo et al. 2022) to 6.8 (Akhtardanesh et al.  
272 2020) times more likely to be infected by *L. infantum* than immunocompetent cats, whereas  
273 FeLV-positive cats might be 2.2 times more likely (Akhtardanesh et al. 2020). Notwithstanding,  
274 we did not find a significant association between *Leishmania* spp. seropositivity by IFAT and  
275 FIV infection. However, we found a negative association between *Leishmania*  
276 spp. seropositivity and FeLV infection. This can be explained because the population of our  
277 study comprises necropsied cats, and most FeLV-positive cats die in their young adult years (1-  
278 6 years) from FeLV-related diseases, with 3 years as the median death age (Lorenzetti 2021).  
279 Considering that leishmanial infection mostly occurs in mature adults to elderly cats  
280 (Akhtardanesh et al. 2020; Solano-Gallego et al. 2007; Pennisi et al. 2012), maybe those FeLV-  
281 positive cats who died at a young age from FeLV-related diseases weren't exposed enough to  
282 the vector before death.

283 Although cats are considered a relatively resistant host to *Leishmania* spp. infection in  
284 experimental studies and case reports (Pennisi et al. 2015), there are some risk factors associated  
285 with infection, seropositivity, or clinical disease other than retroviral coinfections, such as  
286 overcrowding (Matos et al. 2018), cohabitation with dogs (Morelli et al. 2020), a rural  
287 environment (Cardoso et al. 2010), immunosuppressive therapy (Pennisi et al. 2015), free  
288 access to the streets (Rocha et al. 2019), male sex (Solano-Gallego et al. 2007), non-neutered  
289 status (Otranto et al. 2017), adult and elderly age (Akhtardanesh et al. 2020; Pennisi et al. 2012;

290 Solano-Gallego et al. 2007). External factors such as altitude (Nasereddin et al. 2008) and  
291 seasonality (Pennisi et al. 2012) also seem to play a role in seropositivity.

292 As for the coat color groups, the positive association between group 5 (orange spectrum  
293 cats with wide white parts) and *Leishmania* spp. seropositivity was intriguing since groups 4  
294 (orange spectrum cats) and 9 (predominantly white cats) did not show significant results.  
295 Previous studies that included coat colors as associated variables with *L. infantum* infection  
296 were conducted on dogs but have considered only the shade of the coat as bright/light, dark, or  
297 mixed (Maia et al. 2020; Mazeris et al. 2010), demonstrating that *L. infantum* DNA was  
298 significantly higher in light and dark color dogs (Maia et al. 2020). Although the reason for  
299 group 5 cats' positive association with *Leishmania* spp. seropositivity is unclear, this was the  
300 first study to correlate coat color with the presence of antibodies for a vector-borne disease in  
301 cats. It is known that other variables are related to attraction, such as carbon dioxide and water  
302 vapor emission from the skin, but further studies on phlebotomine color preferences considering  
303 the whole visible spectrum, as has already been performed with other arthropods (San Alberto  
304 et al. 2022), may be useful for understanding this finding.

305 The level of awareness toward canine leishmaniosis and, consequently, the use of  
306 sandfly repellents has been hypothesized as a possible cause for an increase in the feline-  
307 phlebotomine interaction, as the sandflies must look for other blood sources in the urban  
308 environment (Ahuir-Baraja et al. 2021). Perhaps the absence of feline leishmaniosis cases in  
309 new transmission areas may be due to the lack of awareness among dog owners regarding  
310 canine leishmaniosis itself, with most dogs not wearing repellent collars. Despite being  
311 considered a *L. infantum* transmission area, infections are relatively recent, with a significant  
312 increase in the number of cases since 2018 (Souza et al. 2022). Furthermore, in Brazil, the  
313 Ministry of Health estimates that for each human case of visceral leishmaniasis, 200 dogs have



314 to be infected by *L. infantum* (SES 2020). A similar ratio between feline and canine  
315 leishmaniosis might exist, but there are still scant data on the epidemiology of infection in cats  
316 from new transmission areas, as most cases of clinical disease are seen where canine  
317 leishmaniosis has been enzootic for decades (Nascimento et al. 2022).

318

### 319 Conclusion

320

321 Our data provide substantial evidence that, besides no cases of feline leishmanial  
322 infection have been detected in this new VL transmission area, cats are being exposed to  
323 *Leishmania* spp. Moreover, the negative FeLV association suggests that necropsied individuals  
324 are less likely to be *Leishmania* spp. positive by IFAT for dying at a young age. A positive  
325 association between cats with coat color within the orange spectrum with white (particolor) and  
326 *Leishmania* spp. seropositivity was also found. From now on, further molecular investigations  
327 are required to determine if cats are really infected or just being exposed since the identification  
328 of potential reservoirs of zoonotic diseases is essential to control programs. Also, a better  
329 understanding of phlebotomine whole visible color spectrum attraction would be elucidating  
330 for understanding blood meal preferences according to coat colors.

331

### 332 Ethics declarations

333

334 Ethical approval was waived by the local Ethics Committee of Universidade Federal de  
335 Santa Maria given the retrospective nature of the study.

336

### 337 Conflict of interest

338  
339  
340  
341  
342  
343  
344  
345  
346  
347  
348  
349  
350  
351  
352  
353  
354  
355  
356  
357  
358  
359  
360

The authors declare no competing interests.

## References

Metzdorf IP, Lima Jr MSC, Matos MFC, Souza Filho AF, Tsujisaki RAS, Franco KG, Shapiro JT, Borges FA (2017) Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis.

Acta Trop 166:121-125. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2016.11.013>

Ahuir-Baraja AE, Ruiz MP, Garijo MM, Llobat L (2021) Feline Leishmaniosis: An Emerging Public Health Problem. Vet Sci 8: 1-11. <https://doi.org/10.3390/vetsci8090173>

Akhtardanesh B, Moeini E, Sharifi I, Saberi M, Sadeghi B, Ebrahimi M et al (2020) *Leishmania* infection in cats positive for immunodeficiency virus and feline leukemia virus in an endemic region of Iran. Vet Parasitol Reg Stud Reports 20:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100387>

Alcover MM, Basurco A, Fernandez A, Riera C, Fisa R, Gonzalez A et al (2021) A cross-sectional study of *Leishmania infantum* infection in stray cats in the city of Zaragoza (Spain) using serology and PCR. Parasit Vectors 14:1-14. <https://doi.org/10.1186/s13071-021-04682->

w

- 361 Arenales A, Azevedo J, Reginaldo GMS, Lima VMF, Rozza DB, Santos RL (2018)  
362 Granulomatous rhinitis in a case of feline leishmaniasis. *Braz J Vet Pathol* 11:7-11.  
363 <http://dx.doi.org/10.24070/bjvp.1983-0246.v11i1p07-11>  
364
- 365 Asfaram S, Fakhar M, Teshnizi SH (2019) Is the cat an important reservoir host for visceral  
366 leishmaniasis? A systematic review with meta-analysis. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*  
367 25:1-10. <https://doi.org/10.1590/1678-9199-JVATITD-2019-0012>  
368
- 369 Baneth G, Nachum-Biala Y, Zuberi A, Zipori-Barki N, Orshan L, Kleinerman G et al (2020)  
370 *Leishmania* infection in cats and dogs housed together in an animal shelter reveals a higher  
371 parasite load in infected dogs despite a greater seroprevalence among cats. *Parasit Vectors*  
372 13:1-8. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3989-3>  
373
- 374 Batista JF, Magalhães Neto FCR, Lopes KSPP, Sato MO, Costa CHN, Mendonça IL (2020)  
375 Transmission of *Leishmania infantum* from cats to dogs. *Rev Bras Parasitol Vet* 29:1-11.  
376 <https://doi.org/10.1590/S1984-29612020099>  
377
- 378 Cardoso L, Lopes AP, Sherry K, Schallig H, Solano-Gallego L (2010) Low seroprevalence of  
379 *Leishmania infantum* infection in cats from northern Portugal based on DAT and ELISA. *Vet*  
380 *Parasitol* 174:37-42. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.08.022>  
381
- 382 Cardoso L, Schallig H, Persichetti MF, Pennisi MG (2021) New Epidemiological Aspects of  
383 Animal Leishmaniosis in Europe: The Role of Vertebrate Hosts Other Than Dogs. *Pathogens*  
384 10:1-44. <https://doi.org/10.3390/pathogens10030307>

385  
386 Carneiro LA, Santos TV, Lima LVRR, Ramos PKS, Campos MB, Silveira FT (2020) First  
387 report on feline leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Amazonian  
388 Brazil. Vet Parasitol Reg Stud Reports 19:1-3. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2019.100360>

389  
390 Centro Estadual de Vigilância em Saúde. Leishmaniose Visceral Humana – Situação  
391 Epidemiológica/Dados [online]. 2021 [cited 2022 June 23]. Available from:  
392 <https://www.cevs.rs.gov.br/lvh-situacao-epidemiologica-dados>.

393  
394 Day MJ (2016) Cats are not small dogs: is there an immunological explanation for why cats are  
395 less affected by arthropod-borne disease than dogs? Parasit Vectors 9:1-9. doi: 10.1186/s13071-  
396 016-1798-5

397  
398 Fernandez-Gallego A, Bernabe LF, Dalmau A, Esteban-Saltiveri D, Font A, Leiva M et al  
399 (2020) Feline leishmaniosis: diagnosis, treatment and outcome in 16 cats. J Feline Med Surg  
400 22:993-1007. <https://doi.org/10.1177/1098612X20902865>

401  
402 Iatta R, Furlanello T, Collela V, Tarallo VD, Latrofa MS, Brianti E et al (2019) A nationwide  
403 survey of *Leishmania infantum* infection in cats and associated risk factors in Italy. PLoS Negl  
404 Trop Dis 13:1-11. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0007594>

405  
406 IBM Corp. Released 2021. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 28.0. Armonk, NY:  
407 IBM Corp.

408

409 Lainson R, Rangel EF (2005) *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American  
410 visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz  
411 100:811-827. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762005000800001>

412

413 Leal RO, Pereira H, Cartaxeiro C, Delgado E, Peleteiro MC, Fonseca IP (2018) Granulomatous  
414 rhinitis secondary to feline leishmaniosis: report of an unusual presentation and therapeutic  
415 complications. J Feline Med Surg Open Rep 4:1-7. <https://doi.org/10.1177/2055116918811374>

416

417 Lorenzetti DM (2021) Aspectos epidemiológicos e doenças associadas à infecção retroviral em  
418 gatos submetidos à necropsia. Dissertation, Universidade Federal de Santa Maria.

419

420 Maia C, Cristóvão J, Pereira A, Kostalova T, Lestnova T, Sumova P et al (2020) Monitoring  
421 *Leishmania* infection and exposure to *Phlebotomus perniciosus* using minimal and non-  
422 invasive canine samples. Parasit Vectors 13:1-12. <https://doi.org/10.1186/s13071-020-3993-7>

423

424 Matos AMRN, Caldart ET, Ferreira FP, Monteiro KC, Souza M, Brunieri DTSC et al (2018)  
425 Antibodies anti-trypanosomatides in domestic cats in Paraná: who is at highest risk of infection?  
426 Rev Bras Parasitol Vet 27:232-236. <https://doi.org/10.1590/S1984-296120180033>

427

428 Mazeris A, Soteriadou K, Dedet JP, Haralambous C, Tsatsaris A, Moschandreas J et al (2010)  
429 Leishmaniasis and the Cyprus Paradox. Am J Trop Med Hyg 82:441-448. doi:  
430 10.4269/ajtmh.2010.09-0282

431

432 Mendonça IL, Batista JF, Ribeiro JMM, Rocha FSB, Silva SO, Melo MN (2017) *Leishmania*  
433 *infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. *Parasitol*  
434 *Open* 3:1-8. <https://doi.org/10.1017/pao.2017.1>

435

436 Mendonça IL, Batista JF, Lopes KSPP, Neto FCRM, Alcântara DS, Merigueti YFFB et al  
437 (2020) Infection of *Lutzomyia longipalpis* in cats infected with *Leishmania infantum*. *Vet*  
438 *Parasitol* 280:1-4. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109058>

439

440 Morelli S, Colombo M, Dimzas D, Barlaam A, Traversa D, Di Cesare A et al (2020) *Leishmania*  
441 *infantum* Seroprevalence in Cats From Touristic Areas of Italy and Greece. *Front Vet Sci* 7:1-  
442 6. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.616566>

443

444 Nascimento LFJ, Cirilo TM, Gomes DS, Gomes ACA, Lima VFS, Scher R et al (2022)  
445 Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a  
446 narrative review. *Parasitol Res* 121:21-34. <https://doi.org/10.1007/s00436-021-07372-9>

447

448 Nasereddin A, Salant H, Abdeen Z (2008) Feline leishmaniasis in Jerusalem: serological  
449 investigation. *Vet Parasitol* 158:364-369. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2008.09.022>

450

451 Oliveira GC, Paiz LM, Menozzi BD, Lima MS, Moraes CCG, Langoni H (2015) Antibodies to  
452 *Leishmania* spp. in domestic felines. *Rev Bras Parasitol Vet* 24:464-470.  
453 <http://dx.doi.org/10.1590/S1984-29612015071>

454

455 Oliveira EF, Galati EAB, Oliveira AG, Rangel EF, Carvalho BM (2018) Ecological niche  
456 modelling and predicted geographic distribution of *Lutzomyia cruzi*, vector of *Leishmania*  
457 *infantum* in South America. PLoS Negl Trop Dis 12:1-16.  
458 <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0006684>

459

460 Oliveira TMFS, Leonel JAF, Silva DT, Alves ML, Vioti G, Soares RM et al (2020)  
461 Leishmaniose Felina no Brasil. In: Melchior LAK, Malavazi PFNS, Camargo LMA, Oliveira  
462 J, Meneguetti DUO (eds). Atualidades em Medicina Tropical no Brasil: Veterinária 1st edn.  
463 Stricto Senso: Rio Branco, pp 126-144

464

465 Otranto D, Napoli E, Latrofa MS, Annoscia G, Tarallo VD, Greco G et al (2017) Feline and  
466 canine leishmaniosis and other vector-borne diseases in the Aeolian Islands: Pathogen and  
467 vector circulation in a confined environment. Vet Parasitol 236:144-151.  
468 <http://dx.doi.org/10.1016/j.vetpar.2017.01.019>

469

470 Paşa S, Vardarlı AT, Erol N, Karakuş M, Töz S, Atasoy A et al (2015) Detection of *Leishmania*  
471 *major* and *Leishmania tropica* in domestic cats in the Ege Region of Turkey. Vet Parasitol  
472 212:389-392. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2015.07.042>

473

474 Pennisi MG, Lupo T, Malara D, Masucci M, Migliazzo A, Lombardo G (2012) Serological and  
475 molecular prevalence of *Leishmania infantum* infection in cats from Southern Italy. J Feline  
476 Med Surg 14:656-657. <https://doi.org/10.1177/1098612X12455302>

477

478 Pennisi MG, Cardoso L, Baneth G, Bordeau P, Koutinas A, Miró G et al (2015) LeishVet update  
479 and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit Vectors* 8:1-18. doi: 10.1186/s13071-  
480 015-0909-z

481

482 Pennisi MG, Persichetti MF (2018) Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? *Vet Parasitol*  
483 251:131-137. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2018.01.012>

484

485 Pereira A, Maia C (2021) *Leishmania* infection in cats and feline leishmaniosis: An updated  
486 review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines. *Curr Res Parasitol*  
487 *Vector Borne Dis* 1:1-21. <https://doi.org/10.1016/j.crpvbd.2021.100035>

488

489 Persichetti MF, Sollano-Gallego L, Vullo A, Masucci M, Marty P, Delaunay P et al (2017)  
490 Diagnostic performance of ELISA, IFAT and Western blot for the detection of anti-*Leishmania*  
491 *infantum* antibodies in cats using a Bayesian analysis without a gold standard. *Parasit Vectors*  
492 10:1-8. doi: 10.1186/s13071-017-2046-3

493

494 Priolo V, Masucci M, Donato G, Solano-Gallego L, Martínez-Orellana P, Persichetti MF et al  
495 (2022) Association between feline immunodeficiency virus and *Leishmania infantum* infections  
496 in cats: a retrospective matched case-control study. *Parasit Vectors* 15:1-10.  
497 <https://doi.org/10.1186/s13071-022-05230-w>

498

499 Quimby J, Gowland S, Carney HC, DePorter T, Plummer P, Westropp J (2021) 2021  
500 AAHA/AAFP Feline Life Stage Guidelines. *J Feline Med Surg* 23:2011-233.  
501 <https://doi.org/10.1177/1098612X21993657>



502  
503 Rêgo FD, Soares RP (2021) *Lutzomyia longipalpis*: an update on this sand fly vector. An Acad  
504 Bras Ciênc 93:1-29. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202120200254>

505  
506 Rocha AVVO, Moreno BFS, Cabral AD, Louzeiro NM, Miranda LM, Santos VMB et al (2019)  
507 Diagnosis and epidemiology of *Leishmania infantum* in domestic cats in an endemic area of the  
508 Amazon region, Brazil. Vet Parasitol 273:80-85. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2019.08.007>

509  
510 San Alberto DA, Rusch C, Zhan Y, Straw AD, Montell C, Riffel JA (2022) The olfactory gating  
511 of visual preferences to human skin and visible spectra in mosquitoes. *Nat Commun* 13:1-14.  
512 <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28195-x>

513  
514 Savani ESMM, Camargo MCGO, Carvalho MRC, Zampieri RA, Santos MG, D'Auria SRN et  
515 al (2004) The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania* (*Leishmania*)  
516 *infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil.  
517 Vet Parasitol 120:229-233. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.01.008>

518  
519 Schubach TMP, Figueiredo FB, Pereira SA, Madeira MF, Santos IB, Andrade MV et al (2004)  
520 American cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural  
521 infection with *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*. Trans R Soc of Trop Med Hyg 98:165-167.  
522 [https://doi.org/10.1016/S0035-9203\(03\)00040-3](https://doi.org/10.1016/S0035-9203(03)00040-3).

523

524 Secretaria de Estado de Saúde. Boletim Epidemiológico – Leishmaniose visceral [online].  
525 2020. [cited 2022 June 23]. Available from: [https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-](https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2020/08/Boletim-Epidemiol%C3%B3gico-Leishmaniose-SE-32.pdf)  
526 [content/uploads/2020/08/Boletim-Epidemiol%  
527 C3%B3gico-Leishmaniose-SE-32.pdf](https://www.vs.saude.ms.gov.br/wp-content/uploads/2020/08/Boletim-Epidemiol%C3%B3gico-Leishmaniose-SE-32.pdf).

528 Sherry K, Miró G, Trotta M, Miranda C, Montoya A, Espinosa C et al (2011) A serological and  
529 molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain).  
530 Vector Borne Zoonotic Dis 11:239-245. <https://doi.org/10.1089/vbz.2009.0251>.

531  
532 Silva RCN, Ramos RAN, Pimentel DS, Oliveira GMA, Carvalho GA, Santana MA et al (2014)  
533 Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the state of  
534 Pernambuco, Brazil. Rev Soc Bras Med Trop 47:1-2. [https://doi.org/10.1590/0037-8682-0005-](https://doi.org/10.1590/0037-8682-0005-2012)  
535 2012.

536  
537 Sobrinho LSV, Rossi CN, Vides JP, Braga ET, Gomes AAD, Lima VMF et al (2012)  
538 Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus  
539 (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral  
540 leishmaniasis. Vet Parasitol 187:302-306. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2012.01.010>.

541  
542 Solano-Gallego L, Rodríguez-Cortés A, Iniesta L, Quintana J, Pastor J, Espada Y et al (2007)  
543 Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern  
544 Mediterranean. Am J Trop Med Hyg 76:676-680. <https://doi.org/10.4269/ajtmh.2007.76.676>.

545  
546 Solano-Gallego L, Baneth G (2012) Leishmaniasis. In: Greene CE (ed). Infectious diseases of  
547 the dog and cat. 4th edn. Elsevier: St. Louis, pp. 734-749.

548  
549 Souza ML, Roman IJ, Mortari APG, Ratzlaff FR, Mazaro RD, Cargnelutti JF et al (2022)  
550 Dynamics of *Leishmania* spp. infection in dogs from an unaffected region in transition to a  
551 visceral leishmaniasis transmission area, Rio Grande dos Sul, Brazil. Parasitol Res 121:3269-  
552 3273. <https://doi.org/10.1007/s00436-022-07654-w>.

553  
554 Tabar MD, Naranjo C, Dehesa A, Rodríguez MC (2022) Leishmaniosis in a cat with chronic  
555 diarrhea as the only clinical manifestation. J Vet Intern Med 36:753-757.  
556 <https://doi.org/10.1111/jvim.16347>.

557  
558 Vioti G, Silva MD, Galvis-Ovallos F, Alves ML, Silva DT, Leonel JAF et al (2021)  
559 Xenodiagnosis in four domestic cats naturally infected by *Leishmania infantum*. Transbound  
560 Emerg Dis 69:1-9. <https://doi.org/10.1111/tbed.14216>.

561

562

563 Captions

564

565 **Fig 1** Complete cytoplasmatic fluorescence of *Leishmania infantum* promastigotes in a feline  
566 positive sample. Indirect immunofluorescence antibody test.

**Table 1** Epidemiological aspects, coat pattern, color and length, cause of death or reason for euthanasia, IFAT titration, and retroviral status from each *Leishmania spp.* seropositive cat (NI: not informed. IFAT: indirect immunofluorescence antibody test. Tit: titration. FIV: feline immunodeficiency virus. FeLV: feline leukemia virus. NM: neutered male. IM: intact male. NF: neutered female. IF: intact female. MB: mixed breed. PB: purebred. SH: shorthair. SLH: semi-longhair. LH: longhair. cSCC: cutaneous squamous cell carcinoma. FLUTD: feline lower urinary tract disease. FCGS: feline chronic gingivostomatitis. CRD: chronic renal disease. FIHL: feline idiopathic hepatic lipidosis. ARD: acute renal disease. FMFH: feline mammary fibroepithelial hyperplasia. FIP: feline infectious peritonitis. FCCHS: feline cholangitis/cholangiohepatitis syndrome)

Cats	Sex	Breed	Age group	Coat pattern, color, and length	Cause of death/reason for euthanasia	IFAT Tit.	FIV	FeLV
1	NM	MB	Adult	Cream mackerel tabby/SH	Periodontal disease	1:80	-	-
2	NF	MB	Adult	Black and white bicolor/SH	cSCC	1:160	-	-
3	IM	MB	Adult	Blue and white bicolor /SH	FLUTD	1:80	+	-
4	NM	MB	Adult	Brown mackerel tabby/SH	Pulmonary carcinoma	1:160	-	-
5	NF	MB	Senior	Brown mackerel tabby with white/SLH	Gastrointestinal lymphoma	1:160	-	-
6	NM	MB	Adult	White solid/SH	FCGS	1:320	+	-
7	NM	MB	Adult	Brown mackerel tabby/SLH	Facial ulcerative dermatitis	1:80	+	-
8	NM	MB	Adult	Blue and white bicolor/SH	CRD	1:80	-	-
9	NM	MB	Senior	Seal point/SH	Subcutaneous cryptococcosis	1:640	-	-
10	NF	MB	Adult	Black <i>tortie</i> with white (calico)/SH	cSCC	1:80	-	-
11	NM	MB	Adult	Black smoke/SH	Myelodysplastic syndrome	1:160	+	-
12	NF	MB	Adult	Black solid/SH	FIHL	1:160	-	-
13	NF	MB	Adult	Seal point/SH	ARD	1:160	-	+
14	NM	MB	Senior	Red mackerel tabby/SH	FIHL	1:80	-	-
15	IF	MB	Kitten	NI	FMFH	1:180	-	-
16	NM	MB	Adult	Black solid/SH	Inconclusive	1:80	-	-
17	NF	MB	Adult	Black <i>tortie</i> /SH	Bacterial pneumonia	1:160	+	+
18	NF	PB	Adult	Cream solid/LH	Intestinal adenocarcinoma	1:160	-	-
19	NM	MB	Adult	Brown mackerel tabby/SH	FLUTD	1:80	-	-
20	NM	MB	Adult	Black and white bicolor/SH	Bacterial pneumonia	1:80	-	-
21	NM	MB	Adult	White solid/SLH	Bacterial pneumonia	1:80	-	-
22	IM	MB	Adult	Blue solid/SLH	FLUTD	1:80	-	+
23	NF	MB	Adult	Brown mackerel tabby with white /SH	Mediastinal lymphoma	1:160	-	+
24	NM	MB	Senior	Red mackerel tabby with white /SH	Inconclusive	1:160	-	-
25	NF	MB	Adult	Black <i>tortie</i> and white (calico)/SH	Chronic ulcerative faucitis	1:160	-	-
26	NF	MB	Adult	Black and white van/SH	Acute leucemia	1:160	-	-
27	NF	MB	Senior	Brown mackerel tabby/SH	Intestinal adenocarcinoma	1:160	-	-
28	NF	PB	Adult	Cream solid/LH	FCCHS	1:160	-	-
29	NM	MB	Senior	Black solid/SLH	CRD	1:160	+	-
30	IM	MB	Kitten	Red mackerel tabby/SH	FIP	1:80	-	+
31	NF	MB	Kitten	Black solid/SH	Iatrogenic death	1:160	-	-
32	IM	MB	Adult	Red mackerel tabby with white/SH	Bacterial peritonitis	1:80	-	+
33	NM	MB	Adult	Red mackerel tabby with white /SH	Trauma	1:80	-	-
34	NF	MB	Adult	Black and white bicolor/SH	Iatrogenic hemoperitoneum	1:160	-	+
35	IM	MB	Adult	Brown mackerel tabby/SH	FLUTD	1:80	-	-
36	NM	MB	Adult	Brown classic tabby/SH	Tuberculosis	1:160	-	-
37	NF	MB	Adult	White solid/SH	Multicentric hemangiosarcoma	1:160	-	+
38	NF	MB	Adult	Black <i>tortie</i> with white (calico)/SLH	Convenience eutanásia	1:160	-	+
39	IM	MB	Adult	Cream mackerel tabby/SLH	Bacterial Peritonitis	1:80	-	-
40	NF	MB	Adult	Seal point/SH	Intestinal adenocarcinoma	1:80	-	+
41	NF	MB	Senior	Black <i>tortie</i> with white (calico)/SH	Gastrointestinal lymphoma	1:320	+	+
42	IM	MB	Kitten	Black and white bicolor /SH	Convenience eutanásia	1:80	-	-
43	IF	MB	Adult	Blue and white van/NI	FIP	1:160	-	+

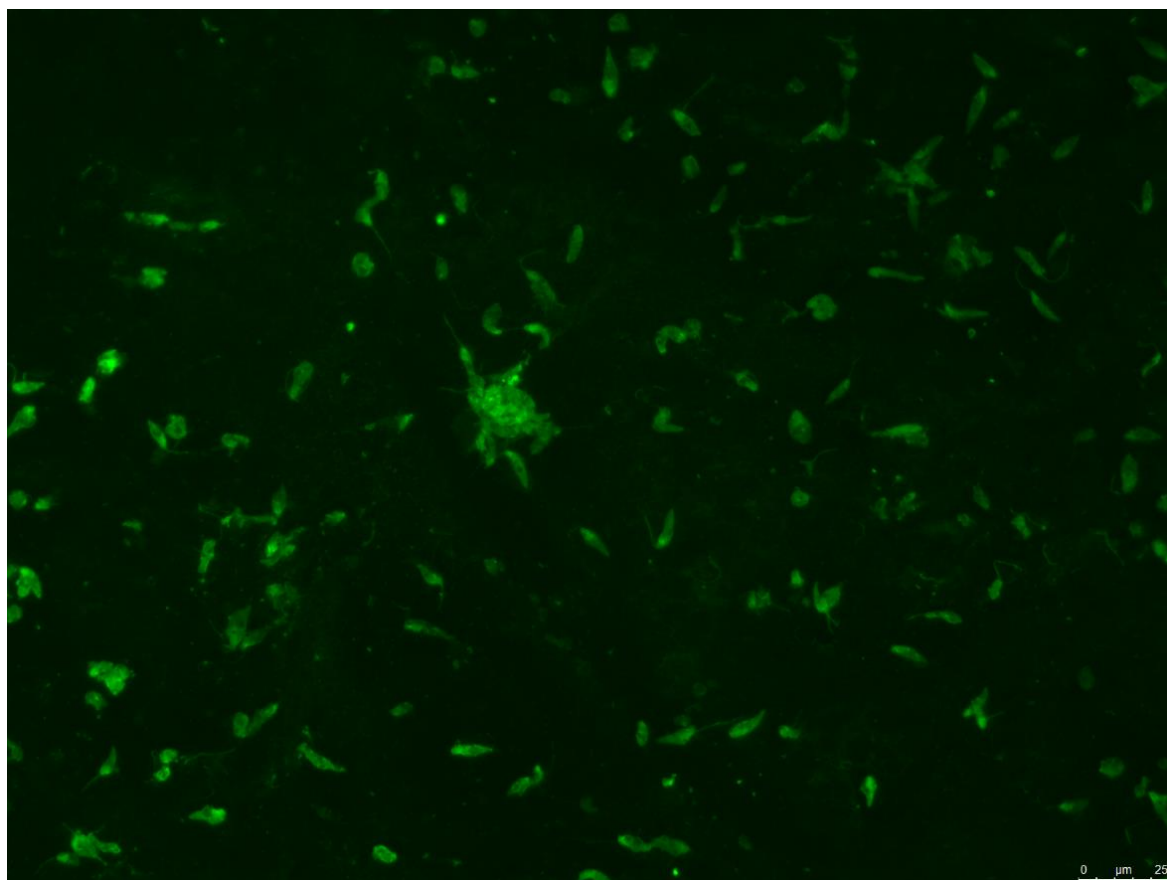
**Table 2** Associations between the covariates and *Leishmania* spp. seropositivity by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT, indirect immunofluorescence antibody test; OR, odds ratio; CI, confidence interval)

IFAT for <i>Leishmania</i> spp. associate covariates					
Variables	IFAT positive	IFAT negative	p-value	OR (CI 95%)	
<b>Sex</b> (n=389)	Male (n=209)	23 (5,91%)	186 (47,81%)	0.973	0.99 (0.52 – 1.87)
	Female (n=180)	20 (5,14%)	160 (41,13%)		
<b>Neutering status</b> (n=389)	Neutered (n=299)	36 (9,25%)	263 (67,61%)	0.258	1.62 (0.7 – 3.78)
	Intact (n=90)	7 (1,80%)	83 (21,34%)		
<b>Breed</b> (n=389)	Mixed-breed (n=376)	41 (10,54%)	335 (86,12%)	0.613	0.67 (0.14 – 3.14)
	Purebreed (n=13)	2 (0,51%)	11 (14,40%)		
<b>FIV</b> (n=189)	Positive (n=23)	8 (4,23%)	15 (7,94%)	0.142	2 (0.78 – 5.09)
	Negative (n=166)	35 (18,52%)	131 (69,31%)		
<b>FeLV</b> (n=189)	Positive (n=86)	12 (6,35%)	74 (39,15%)	0.008	0.38 (0.18 – 0.79)
	Negative (n=103)	31 (16,40%)	72 (38,10%)		
<b>Age group</b> (n=389)	Kitten (n=43)	3 (0,77%)	40 (10,28%)	0.366	0.57 (0.17 – 1.94)
	Adult (n=283)	33 (8,49%)	250 (64,27%)		
	Senior (n=63)	7 (1,80%)	56 (14,40%)		
<b>Coat length</b> (n=375)	<b>Short</b> (n=295)	32 (8,53%)	263 (70,13%)	0.918	0.96 (0.44 – 2.1)
	<b>Semi-long</b> (n=68)	7 (1,87%)	61 (16,27%)		
	<b>Long</b> (n=12)	2 (0,53%)	10 (2,67%)		

**Table 3.** Associations between the coat color groups and *Leishmania* spp. seropositivity by indirect immunofluorescence antibody test (IFAT, indirect immunofluorescence antibody test; OR, odds ratio; CI, confidence interval)

<b>IFAT for <i>Leishmania</i> spp. and coat color groups association</b>				
	<b>IFAT positive (n=42)</b>	<b>IFAT negative (n=334)</b>	<b><i>p</i>-value</b>	<b>OR (95% CI)</b>
<b>Group 1</b> (n=58)	4/376 (1,06%)	54/376 (14,36%)	0.261	0.55 (0.19 – 1.59)
<b>Group 2</b> (n=55)	2/376 (0,53%)	53/376 (14,10%)	0.054	0.27 (0.06 – 1.13)
<b>Group 3</b> (n=45)	3/376 (0,79%)	42/376 (11,17%)	0.307	0.53 (0.16 – 1.81)
<b>Group 4</b> (n=38)	6/376 (1,60%)	32/376 (8,51%)	0.340	1.57 (0.62 – 4.02)
<b>Group 5</b> (n=32)	7/376 (1,86%)	25/376 (6,65%)	0.044	2.47 (1 – 6.13)
<b>Group 6</b> (n=45)	7/376 (1,86%)	38/376 (10,11%)	0.320	1.56 (0.65 – 3.75)
<b>Group 7</b> (n=32)	2/376 (0,53%)	30/376 (7,98%)	0.356	0.51 (0.12 – 2.2)
<b>Group 8</b> (n=46)	6/376 (1,60%)	40/376 (10,64%)	0.667	1.23 (0.49 – 3.09)
<b>Group 9</b> (n=25)	5/376 (1,33%)	20/376 (5,32%)	0.147	2.12 (0.75 – 5.99)

\*Group 1: black solid cats. Group 2: solid blue, black smoke, blue mackerel (striped) tabby, blue mackerel tabby with white (particolor), blue *tortie*, and blue *torbie* cats. Group 3: seal point, seal *tortie* point, seal *torbie* point, seal lynx, blue point, and blue lynx cats. Group 4: red mackerel tabby, red classic tabby, cream mackerel tabby, and solid cream cats. Group 5: red mackerel tabby with white, black *tortie* with white (calico), red point, and cream lynx cats. Group 6: brown mackerel tabby, brown classic tabby, brown *torbie*, and black *tortie* cats. Group 7: brown mackerel tabby with white, brown classic tabby with white, brown *torbie* with white cats. Group 8: black and white bicolor or blue and white bicolor cats. Group 9: white solid, blue and white van, black and white van, red mackerel tabby van, and brown mackerel tabby van cats

**Figure 1**

#### 4 CONCLUSÃO

Os resultados descritos fornecem evidências substanciais de que durante o período e na região estudada, apesar de nenhum caso clínico de leishmaniose felina ter sido encontrado, os gatos-domésticos estão sendo expostos a *Leishmania* spp. Além disso, uma associação negativa para com a infecção pelo FeLV sugere que os indivíduos permanentemente infectados por esse vírus, os quais tendem a morrer jovens, são muito menos expostos. Uma associação positiva para com gatos com pelagem dentro do espectro laranja com branco sugere que indivíduos com essa coloração mais clara de pelagem possam ser mais atrativos aos flebotomíneos. Investigações moleculares são necessárias para determinar se os gatos estão realmente infectados por *Leishmania* spp. ou têm sido apenas expostos, pois a identificação de potenciais reservatórios para zoonoses é essencial aos programas de controle.



## REFERÊNCIAS

- ABRAMO, Francesca *et al.* Skin Lesions in Feline Leishmaniosis: A Systematic Review. **Pathogens**, v. 10, n. 4, p. 1-17, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8070508/>>. Acesso em: 08 ago. 2022.
- ALTUZARRA, Raul *et al.* Computed tomographic features of destructive granulomatous rhinitis with intracranial extension secondary to leishmaniasis in a cat. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 61, n. 6, p. 64-68, 2018. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/vru.12666>>. Acesso em: 15 dez. 2022.
- ARENALES, Alexandre *et al.* Granulomatous rhinitis in a case of feline leishmaniasis. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 11, n. 1, p. 7-11, 2018. Disponível em: <<https://bjvp.org.br/wp-content/uploads/2018/03/v11-n1-2.pdf>>. Acesso em 09 jun. 2022.
- BANETH, Gad; SOLANO-GALLEGU, Laia. Leishmaniasis. *In*: GREENE, Craig E. (ed.) **Infectious Diseases of the Dog and Cat**. 4 ed. St. Louis: Elsevier, 2012. *E-book*. ISBN: 978-1-4160-6130-4. p. 734-749.
- BANETH, Gad; SOLANO-GALLEGU, Laia. Leishmaniasis. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 52, n. 6, p. 1359-1375, 2022. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36336425/>>. Acesso em: 06 dez. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2014. Disponível em: <[https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_viseral\\_1edicao.pdf](https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viseral_1edicao.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2022.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. **Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar**. 1 ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2017. Disponível em: <[https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_leishmaniose\\_tegumentar.pdf](https://bvsm.sau.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf)>. Acesso em: 15 dez. 2022.
- BRIANTI, Emanuele *et al.* Prevention of feline leishmaniosis with an imidacloprid 10%/flumethrin 4.5% polymer matrix collar. **Parasites & Vectors**, v. 10, n. 334, p. 1-8, 2017. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-017-2258-6>>. Acesso em: 20 jan. 2022.
- BRIANTI, Emanuele *et al.* Treatment and long-term follow-up of a cat with leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 121, p. 1-7, 2019. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-019-3388-9>>. Acesso em 05 dez. 2022.
- CECILIO, Pedro; CORDEIRO-DA-SILVA, Anabela; OLIVEIRA, Fabiano. Sand flies: Basic information on the vectors of leishmaniasis and their interactions with *Leishmania* parasites. **Communications Biology**, v. 5, n. 305, p. 1-12, 2022. Disponível em: <<https://www.nature.com/articles/s42003-022-03240-z>>. Acesso em 05 jan. 2023.

- COURA, Fernanda Morcatti *et al.* Serological, molecular, and microscopic detection of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 4, p. 570-574, 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/5yxZh4cwn3TDPPrj8bKynr8B/?lang=en>>. Acesso em 05 abr. 2023.
- DE MATOS, Andressa Maria Rorato Nascimento *et al.* Antibodies anti-trypanosomatides in domestic cats in Paraná: who is at highest risk of infection? **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 27, n. 2, p. 232-236, 2018. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/rbNXFTYQ7tXVqcRLCc7Jpvy/?lang=en>>. Acesso em: 05 abr. 2023.
- DOS SANTOS, Nara Santos *et al.* Feline Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*: Parasite Sequencing, Seropositivity, and Clinical Characterization in an Endemic Area From Brazil. **Frontiers in Veterinary Sciences**, v. 8, n. 34916, p. 1-12, 2021. Disponível em <<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2021.734916/full>>. Acesso em 16 jun. 2022.
- DOSTÁLOVÁ, Anna; VOLF, Petr. *Leishmania* development in sand flies: parasite-vector interactions overview. **Parasites & Vectors**, v. 5, n. 276, p. 1-12, 2012. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/1756-3305-5-276>>. Acesso em: 19 dez. 2022.
- FERNANDEZ-GALLEGO, Ana *et al.* Feline leishmaniosis: diagnosis, treatment and outcome of 16 cats. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 22, n. 10, p. 993-1007, 2020. Disponível em: <<https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/1098612X20902865>>. Acesso em: 15 jun. 2022.
- GARCIA-TORREZ, Maria *et al.* Review and statistical analysis of clinical management of feline leishmaniosis caused by *Leishmania infantum*. **Parasites & Vectors**, v. 15, n. 253, p. 1-13, 2022. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-022-05369-6>>. Acesso em: 05 jan. 2022.
- HEADLEY, Selwyn Arlington *et al.* Immunohistochemical characterization of cutaneous leishmaniasis in cats from Central-west Brazil. **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 17, n. 100290, p. 1-4, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31303238/>>. Acesso em 20 jun. 2022.
- LANGONI, Hélio. Leishmanioses. In: MEGID, Jane; RIBEIRO, Márcio Garcia; PAES, Antônio Carlos (eds.). **Doenças Infecciosas em Animais de Produção e de Companhia**. Rio de Janeiro: Roca, 2016. ISBN 978-85-277-2789-1. p. 1013-1024.
- LAVITSCHKA, Cecília de Oliveira. **Competência vetora de *Nyssomyia intermedia* e *Nyssomyia neivai* (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) para *Leishmania (Viannia) braziliensis***. 2017. 55 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, 2017.
- LEAL, Rodolfo Oliveira *et al.* Granulomatous rhinitis secondary to feline leishmaniosis: report of an unusual presentation and therapeutic complications. **Journal of Feline Medicine**

and **Surgery Open Reports**, v. 4, n. 2, p. 1-7, 2018. Disponível em:  
<<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30450219/>>. Acesso em: 15 dez. 2022.

MADRUGA, G. *et al.* Ocular manifestations of leishmaniasis in a cat: first case report from Brazil. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 5, p. 1514-1520, 2018. Disponível em:  
<<https://www.scielo.br/j/abmvz/a/p8KVqpGS5GP3hyQ8bZRgBNs/?lang=en>>. Acesso em 05 jan. 2022

MAIA, Carla; NUNES, Mónica, CAMPINO, Lenea. Importance of cats in zoonotic leishmaniasis in Portugal. **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 8, n. 4, p. 555-559, 2008. Disponível em: <[https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2007.0247?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub++0pubmed](https://www.liebertpub.com/doi/10.1089/vbz.2007.0247?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori%3Arid%3Acrossref.org&rfr_dat=cr_pub++0pubmed)>. Acesso em 29 dez. 2022.

MARCONDES, Mary *et al.* Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 131, p. 1-8, 2018. Disponível em:  
<<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2716-9>>. Acesso em: 02 jul. 2022.

MARCOS, Ricardo *et al.* Pancytopenia in a cat with visceral leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 38, n. 2, p. 201-205, 2009. Disponível em:  
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/j.1939-165X.2009.00111.x>>. Acesso em: 20 jan. 2023.

MATRALIS, Dimitrios *et al.* A Case of Feline Leishmaniosis with Panniculitis. **Case Reports in Veterinary Medicine**, v. 2023, n. 8864790, p. 1-4, 2023. Disponível em:  
<<https://www.hindawi.com/journals/crivem/2023/8864790/>>. Acesso em 25 jan. 2023.

MAULDIN, Elizabeth A.; PETERS-KENNEDY, Jeanine. Integumentary System. *In*: MAXIE, M. Grant (ed.). **Jubb, Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals volume 1**. 6 ed. St. Louis: Elsevier, 2016. ISBN: 978-0-7020-5317-7. p. 511-736.

MESTRINHO, Lisa A.; TRAVANCINHA, Joana; SOBRAL, Cristina. A case report of leishmaniosis with primary oral manifestation in a cat. **Frontiers in Veterinary Sciences**, v. 9, n. 1059803, p. 1-5, 2022. Disponível em:  
<<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fvets.2022.1059803/full>>. Acesso em 20 jan. 2023.

MIGLIAZZO, Antonella *et al.* Feline leishmaniosis: a case with a high parasitic burden. **Veterinary Dermatology**, v. 26, n. 1, p. 69-70, 2014. Disponível em:  
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/vde.12180>>. Acesso em: 01 jan. 2023.

MONDOLFI, A. E. Paniz *et al.* Autochthonous cutaneous leishmaniasis in urban domestic animals (*Felis catus* /*Canis lupus familiaris*) from central-western Venezuela. **Acta Tropica**, v. 191, p. 252-260, 2019. Disponível em:  
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X18312592?via%3Dihub>>. Acesso em: 25 jan. 2022.

NAPOLI, Ettore *et al.* Clinical Case of Feline Leishmaniosis: Therapeutic Approach and Long-Term Follow-Up. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 8, p. 1-11, 2022. Disponível em: <<https://www.mdpi.com/2306-7381/9/8/400>>. Acesso em 16 dez. 2022.

NASCIMENTO, Luiz F. J. *et al.* Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. **Parasitology Research**, v. 121, n. 1, p. 21-34, 2021. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34761278/>>. Acesso em: 05 mai. 2022.

NAVARRO, J. A. *et al.* Histopathological lesions in 15 cats with leishmaniosis. **Journal of Comparative Pathology**, v. 143, n. 4, p. 297-302, 2010. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0021997510000460?via%3Dihub>>. Acesso em: 05 fev. 2022.

ORTUÑO, María *et al.* Clinical, diagnostic and epidemiological implications of *Hepatozoon* spp., *Babesia* spp. and *Leishmania infantum* infection in cats and dogs in a Mediterranean periurban setting. **Parasitology Research**, v. 122, p. 35-47, 2022. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/s00436-022-07705-2>>. Acesso em: 05 jan. 2023.

PEDRASSANI, Daniela *et al.* Molecular detection of vector-borne agents in cats in Southern Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 28, n. 4, 2019. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/7Lbcy69cTRnhfn9Q6Xwx64d/?lang=en>>. Acesso em: 05 abr. 2023.

PENNISI, Maria Grazia *et al.* Leishmaniosis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 15, n. 7, p. 638-642, 2013. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23813831/>>. Acesso em 05 mai. 2022.

PENNISI, Maria Grazia. Leishmaniosis of companion animals in Europe: an update. **Veterinary Parasitology**, v. 208, n. 1-2, p. 35-47, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25573248/>>. Acesso em 16 dez. 2022.

PENNISI, Maria Grazia *et al.* LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 8, n. 302, p. 1-18, 2015. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0909-z>>. Acesso em 15 mai. 2022.

PENNISI, Maria Grazia; PERSICHETTI, Maria Flaminia. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 131-137, 2018. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29426470/>>. Acesso em: 15 mai. 2022.

PENNISI, Maria Grazia. Leishmaniosis. In: NOLI, Chiara; COLOMBO, Silvia (eds.). **Feline Dermatology**. 1 ed. Cham: Saunders, 2020. *E-book*. ISBN 978-3-030-29836-4. p. 387-403.

PEREIRA, André *et al.* An Unusual Case of Feline Leishmaniosis With Involvement of the Mammary Glands. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 37, n. 100356, p. 1-4, 2019. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31837752/>>. Acesso em: 25 jan. 2022.

PEREIRA, André; MAIA, Carla. *Leishmania* infection in cats and feline leishmaniosis: An updated review with a proposal of a diagnosis algorithm and prevention guidelines. **Current**

**Research in Parasitology & Vector-Borne Diseases**, v. 1, n. 100035, p. 1-21, 2021. Disponível em: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2667114X21000297>>. Acesso em 21 jun. 2022.

PIMENTA, Paulo *et al.* Feline leishmaniosis in Portugal: 3 cases (year 2014). **Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports**, v. 1-2, p. 65-69, 2015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31018412/>>. Acesso em: 15 jan. 2022.

PRADELLA, Gabriel Döwich *et al.* PCR-RLFP characterization of *Leishmania* spp. in domestic animals from the south-western border of Brazil. **Brazilian Journal of Veterinary Parasitology**, v. 31, n. 3, p. 1-13, 2022. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbpv/a/Zy6zD9phMpbGTzCvmmCvgMq/?lang=en>>. Acesso em: 05 abr. 2023.

PRIOLO, Vito *et al.* *Leishmania infantum*-specific IFN- $\gamma$  production in stimulated blood from cats living in areas where canine leishmaniosis is endemic. **Parasites & Vectors**, v. 12, n. 133, p. 1-9, 2019. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-019-3386-y>>. Acesso em: 31 mai. 2022.

PRIOLO, Vito *et al.* *Leishmania infantum* Specific Humoral and Cellular Immune Responses in Cats and Dogs: A Comparative Cross-Sectional Study. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 482, p. 1-14, 2022. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9505219/>>. Acesso em 15 jun. 2022.

RIVAS, Aruanai Kalú *et al.* Clinical and diagnostic aspects of feline cutaneous leishmaniosis in Venezuela. **Parasites & Vectors**, v. 11, n. 141, p. 1-14, 2018. Disponível em: <<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-018-2747-2>>. Acesso em 03 jan. 2023.

RÜFENACHT, S. *et al.* Two cases of feline leishmaniosis in Switzerland. **The Veterinary Record**, v. 156, n. 17, p. 542-545. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15849344/>>. Acesso em 10 jan. 2023.

SAVIOLI, Giulia *et al.* Serum amyloid A levels and alpha 2 and gamma globulins on serum protein electrophoresis in cats exposed to and infected with *Leishmania infantum*. **Parasites & Vectors**, v. 14, n. 17, p. 1-7, 2021. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8059178/>>. Acesso em 20 jan. 2023.

SUNTER, Jack; GULL, Keith. Shape, form, function and *Leishmania* pathogenicity: from textbook descriptions to biological understanding. **Open Biology**, v. 7, n. 170165, p. 1-13, 2017. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5627057/>>. Acesso em 10 jan. 2023.

TABAR, María-Dolores *et al.* Leishmaniosis in a cat with chronic diarrhea as the Only clinical manifestation. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 36, n. 2, p. 753-757, 2022. Disponível em: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jvim.16347>>. Acesso em: 19 dez. 2022.

TOEPP, Angela J.; PETERSEN, Christine A. The balancing act: Immunology of leishmaniosis. **Research in Veterinary Science**, v. 130, n. 19-25, p. 1-17, 2020. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32109759/>>. Acesso em 05 jan. 2022.

TRAINOR, K. E. *et al.* Eight Cases of Feline Cutaneous Leishmaniasis in Texas. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 6, p. 1076-1081, 2010. Disponível em: <[https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810382094?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0300985810382094?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)>. Acesso em: 10 jun. 2022.

URBANI, Lorenza *et al.* Serological, molecular and clinicopathological findings associated with *Leishmania infantum* infection in cats in Northern Italy. **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 22, n. 10, p. 935-943, 2020. Disponível em: <[https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1098612X19895067?url\\_ver=Z39.88-2003&rfr\\_id=ori:rid:crossref.org&rfr\\_dat=cr\\_pub%20%20pubmed](https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1098612X19895067?url_ver=Z39.88-2003&rfr_id=ori:rid:crossref.org&rfr_dat=cr_pub%20%20pubmed)>. Acesso em 10 jan. 2023.

VIDES, Juliana Peloi *et al.* *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 178, n. 1-2, p. 22-28, 2011. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21282011/>>. Acesso em 12 jun. 2022.

WHO. World Health Organization. **Leishmaniasis**. Genebra: WHO, 2023. Disponível em: <<https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em 09 jan. 2023.