

<https://doi.org/10.31533/pubvet.v17n11e1485>

Avaliação clínica e o resultado falso-negativo para leishmaniose visceral canina: Revisão

Djonathan Adamante^{1*}, Débora Andreolla Lazzari², Luís Gustavo Barbieri Kehl¹

¹Discente do Curso de Medicina Veterinária na Faculdade Uniguaçu, São Miguel do Iguaçu, Paraná, Brasil.

²Médica Veterinária, Departamento de Vigilância e Atenção Básica em Saúde, São Miguel do Iguaçu, Paraná, Brasil.

*Autor para correspondência. e-mail: adamante@live.com

Resumo. A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma das formas da doença causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* spp., sendo classificada como uma das principais zoonoses de interesse da saúde pública no Brasil. Por ainda apresentarmos métodos de diagnóstico com baixa sensibilidade ao agente causador da LVC, este trabalho de revisão de literatura teve como objetivo, identificar exames laboratoriais e métodos que contribuam para um diagnóstico correto, diminuindo as chances de falsos negativos ou falsos positivos na rotina do Médico Veterinário. Nesta revisão de literatura foi possível observar como consideração que o exame de PCR se mostrou com cem por cento de confiabilidade nos estudos avaliados, já a técnica parasitológica classificada como padrão ouro, irá depender de alguns fatores como a precisão, sujeita à intensidade do parasitismo, à natureza do material biológico obtido, à duração da análise da lâmina e à perícia dos especialistas envolvidos, para o diagnóstico da LVC.

Palavras chave: Diagnóstico clínico, reação em cadeia da polimerase, saúde pública veterinária, zoonose

Clinical evaluation and false-negative results for canine visceral leishmaniasis: Review

Abstract. Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) is one of the forms of the disease caused by the protozoan of the genus *Leishmania* spp., being classified as one of the main zoonoses of public health interest. As we still present diagnostic methods with low sensitivity to the causative agent of CVL, this literature review aimed to identify laboratory tests and methods that contribute to a correct diagnosis, reducing the chances of false negatives or false positives in the Veterinarian's routine. Through this literature review, it was possible to observe that the PCR test proved to be 100% reliable in the evaluated studies, whereas the parasitological technique, classified as the gold standard, will depend on certain factors, such as precision, the intensity of the parasitism, the nature of the biological material obtained, the duration of the slide analysis and the expertise of the specialists involved, for the diagnosis of CVL.

Keywords: Clinical diagnosis, polymerase chain reaction, veterinary public health, zoonosis

Evaluación clínica y resultados falsos negativos para leishmaniasis visceral canina: Revisión

Resumen. La Leishmaniasis Visceral Canina (LVV) es una de las formas de la enfermedad causada por el protozoario del género *Leishmania* spp., siendo catalogada como una de las principales zoonosis de interés en salud pública en Brasil. Como aún presentamos métodos diagnósticos con baja sensibilidad al agente causal de LVC, esta revisión bibliográfica tuvo

como objetivo identificar pruebas y métodos de laboratorio que contribuyan a un diagnóstico correcto, reduciendo las posibilidades de falsos negativos o falsos positivos en la rutina del Médico Veterinario. A través de esta revisión bibliográfica se pudo observar cómo consideración que la prueba PCR demostró ser 100% confiable en los estudios evaluados, mientras que la técnica parasitológica catalogada como patrón oro dependerá de algunos factores como la precisión, supeditada a la intensidad del parasitismo, la naturaleza del material biológico obtenido, la duración del análisis de láminas y la experiencia de los especialistas involucrados, para el diagnóstico de LVC.

Palabras clave: Diagnóstico clínico, reacción en cadena de la polimerasa, salud pública veterinaria, zoonosis

Introdução

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma das formas da doença causada pelo protozoário do gênero *Leishmania* spp. (Fonseca Júnior et al., 2021; Freitas et al., 2022; Leal-Lima et al., 2021; Schimming & Silva, 2012; Silva & Winck, 2018). Esta doença é classificada como uma das principais zoonoses de interesse da saúde pública, em especial no Brasil, em razão de seu clima tropical, que facilita a proliferação do vetor flebotômico (*Lutzomyia longipalpis*), transmissor desta doença (Abbiati et al., 2019; Dias et al., 2007; Faria et al., 2019; Sevá et al., 2021; Souza et al., 2009).

Esta realidade, nem sempre esteve presente no Brasil, somente após os anos de 1990 que esta zoonose começou a ser identificada nas áreas urbanas. A partir deste período, se alastrou por todo o território, em especial em regiões de fronteira ou com alto índice de vulnerabilidade social (Azevedo et al., 2008; Barbosa et al., 2010; Hirschmann et al., 2015; Silva & Braga, 2010; Soccol et al., 2017; Souza et al., 2009).

Tendo em vista a importância desta zoonose e sua transmissibilidade aos seres humanos, para reverter esta condição em regiões endêmicas para LVC é fundamental a implementação de práticas de educação em saúde permanentes com medidas sanitárias e ambientais, que valorizem o conceito *One Health*, viabilizando assim, a redução ou eliminação de possíveis localidades que possibilitem a proliferação deste vetor (Abrantes et al., 2018; Collignon & McEwen, 2019; Kahn, 2017; Leal-Lima et al., 2021).

A transmissão é efetuada por meio da picada da fêmea do vetor (Fonseca Júnior et al., 2021; Freitas et al., 2022; Lima et al., 2013; Silva & Winck, 2018). Os canídeos são os principais reservatórios desta doença (Alves & Bevilacqua, 2004; D'Andrea & Guimarães, 2018; Fonseca Júnior et al., 2021). As ações de controle podem reduzir exponencialmente os riscos de desenvolvimento da doença (Dias et al., 2018; Ribeiro, 2007).

Partindo da perspectiva que ainda apresentamos métodos de diagnóstico com baixa sensibilidade ao agente causador da LVC, esta revisão teve como objetivo de identificar exames laboratoriais e métodos que contribuam para um diagnóstico correto, diminuindo as chances de falsos negativos ou falsos positivos na rotina do médico veterinário.

Características epidemiológicas e ambientais

A LVC é uma zoonose, o que significa que pode ser transmitida dos cães para os seres humanos, sendo que a infecção em humanos geralmente ocorre da mesma forma que em cães, pela picada do mosquito-palha infectado (D'Andrea & Guimarães, 2018; Dias et al., 2018; Fonseca Júnior et al., 2021; Freitas et al., 2022; Silva & Winck, 2018).

Devido à complexidade da transmissão da LVC e a sua natureza zoonótica, o controle efetivo da doença envolve abordagens integradas, como medidas de prevenção e controle do vetor, tratamento de cães infectados e educação pública para conscientização sobre os riscos da doença (Leal-Lima et al., 2021; Lima et al., 2013). Nesta perspectiva, é notório que cães que vivem em áreas endêmicas têm maior risco de contrair a LVC, especialmente se não forem adotadas medidas de prevenção, como o uso de repelentes ou coleiras específicas. Outro fator condicionante, é a proximidade com reservatórios naturais do parasita e vetores que aumentam significativamente o risco de transmissibilidade (Soccol et al., 2017). Além disso, outros fatores de riscos podem ser agravantes para o desenvolvimento deste vetor, e poderá ser influenciado por diversos fatores como a presença de reservatórios (cães e outros animais),

vetores (mosquito flebotomíneos) e a proximidade entre eles e os seres humanos. Como também ambientes com condições favoráveis para a proliferação dos vetores, como áreas rurais e periurbanas com matéria orgânica em decomposição, tendem a ter maior incidência da doença ([Abrantes et al., 2018](#); [Leal-Lima et al., 2021](#)).

A atividade do vetor (mosquito-palha) pode variar de acordo com a região e o clima, dado que em áreas onde os mosquitos são mais abundantes, a transmissão da doença pode ocorrer ao longo do ano, e, em outras regiões, onde a transmissão pode ser sazonal, com maior incidência em épocas de maior umidade e temperaturas mais elevadas ([Rennó et al., 2019](#); [Silva et al., 2009](#)). Neste contexto, a atividade dos vetores pode variar ao longo do ano, onde o período de transmissão da doença pode ser variável, podendo ocorrer durante todo o ano ou ser sazonal, dependendo de cada região e das condições climáticas ([Fonseca Júnior et al., 2021](#)). Neste sentido, o controle da LVC deve envolver estratégias que visam reduzir a população de vetores, evitando o contato destes com os cães e os humanos, sendo realizado o tratamento de cães infectados e melhorando as condições sanitárias e ambientais dos territórios característicos e sensíveis a esta doença ([Freitas et al., 2022](#)).

Manifestações clínicas

A LVC pode ser uma doença crônica e progressiva, levando o cão a óbito se não tratado adequadamente. A precocidade de um diagnóstico adequado e o início do tratamento são essenciais, na obtenção de um prognóstico favorável ([Fonseca Júnior et al., 2021](#); [Menezes et al., 2016](#); [Pelissari et al., 2011](#); [Silva & Winck, 2018](#); [Sousa et al., 2015](#)).

É importante destacar que os sintomas podem ser variáveis e alguns cães podem não apresentar sinais clínicos aparentes, tornando o diagnóstico precoce mais difícil. Ainda podem se desenvolver lentamente ao longo do tempo, e alguns cães podem apresentar apenas alguns dos sinais isoladamente, além de que podem ser semelhantes a outras doenças, o que torna o diagnóstico definitivo essencial para um tratamento adequado ([Freitas et al., 2022](#)). A infecção pode permanecer assintomática por um longo período, mas quando os sintomas se manifestam, eles podem ser variados e inespecíficos, podendo ainda progredir rapidamente e causar graves danos ao fígado, baço e outros órgãos, levando à morte do animal se não for tratada adequadamente ([Gomes et al., 2008](#); [Lira et al., 2006](#); [Motta et al., 2021](#); [Sousa et al., 2015](#)).

As manifestações clínicas da LVC podem incluir diversos agravantes como a perda de peso, onde o cão pode apresentar emagrecimento progressivo e diminuição do interesse pela comida; fraqueza e apatia, demonstrando cansaço excessivo, tornando-se letárgicos e desanimados; pelos opacos, ficando sem brilho, com queda de pelo em várias partes do corpo; feridas na pele, causando lesões de pele que podem aparecer, especialmente ao redor do focinho, olhos, cauda e unhas ([Rodrigues et al., 2018](#); [Slimane et al., 2014](#)). Em continuidade também é possível ser observado o crescimento anormal das unhas, onde o cão pode ficar com as unhas mais longas e espessas, um sinal conhecido como sinal da unha longa, e o aumento do tamanho dos linfonodos, especialmente na região do pescoço, virilha e axilas. Problemas nas articulações, como inchaço, manqueira e dificuldade de locomoção podem ocorrer ([Freitas et al., 2022](#); [Silva, 2023](#)).

Outra manifestação clínica que pode ocorrer é o sangramento nasal (epistaxe), porém pode ser um sintoma raro, que pode vir a ocorrer em casos avançados. Em algumas situações, a doença pode afetar os rins, levando a problemas urinários e alterações nos exames laboratoriais relacionados à função renal ([Abbiati et al., 2019](#); [Freitas et al., 2022](#)).

Diagnóstico e exames laboratoriais

O diagnóstico preciso da LVC é essencial para a implementação de medidas de controle e prevenção. Em algumas regiões, a doença é de notificação obrigatória, o que significa que casos suspeitos ou confirmados devem ser reportados às autoridades de saúde para o monitoramento e controle adequado ([Assis et al., 2010](#); [Montalvo et al., 2012](#); [Queiroz et al., 2010](#); [Silva, 2023](#); [Souza et al., 2013](#)). Os métodos de diagnósticos mais utilizados são testes sorológicos ou análise de amostras de tecido. Todavia, nenhum desses exames é completamente seguro, e a combinação de múltiplos exames é muitas vezes necessária para alcançar um diagnóstico mais confiável. Além disso, o diagnóstico da LVC deve

ser interpretado em conjunto com os sinais clínicos e a história do animal ([Assis et al., 2010](#); [Montalvo et al., 2012](#); [Queiroz et al., 2010](#); [Silva, 2023](#); [Souza et al., 2013](#)).

O diagnóstico parasitológico é uma abordagem utilizada para identificar parasitas que envolve a observação microscópica das formas amastigotas do organismo causador. O material de origem biológica a ser examinado abrange uma variedade de fontes, incluindo esfregaços sanguíneos, amostras obtidas por citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) ou punção aspirativa por agulha fina (PAAF) da medula óssea, linfonodos, baço ou fígado ([Assis et al., 2010](#); [Dietze, 2005](#); [Fonseca Júnior et al., 2021](#); [Montalvo et al., 2012](#); [Souza et al., 2017](#)). Uma alternativa viável que se destaca é a análise do líquido sinovial (LS), o qual apresenta a vantagem de ser facilmente obtido e consideravelmente menos invasivo em comparação aos demais tipos de amostras frequentemente empregados ([Rennó et al., 2019](#)). Esta técnica é considerada o padrão ouro de detecção de Leishmaniose, no entanto a precisão está sujeita à intensidade do parasitismo, à natureza do material biológico obtido, à duração da análise da lâmina e à perícia dos especialistas envolvidos, apresentando uma taxa de aproximadamente 80% em cães com sintomas e menor em casos assintomáticos ([Freitas et al., 2022](#)).

O teste com a técnica de ELISA é um método sorológico, amplamente utilizado para o diagnóstico de LVC que consiste em uma reação de anticorpos presentes nos soros com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* que são obtidos a partir de cultura *in vitro* ([Dias et al., 2018](#); [Fonseca Júnior et al., 2021](#)). O antígeno é fixado às microplacas por adsorção e, em seguida, os soros diluídos são introduzidos ([Barroso-Freitas et al., 2009](#); [Motta et al., 2021](#); [Queiroz et al., 2010](#)). Assim, quando há a presença de anticorpos específicos no soro, eles irão se ligar aos antígenos ([Dias et al., 2018](#); [Fonseca Júnior et al., 2021](#)). A detecção da resposta ocorre ao introduzir uma anti-imunoglobulina de cão, que foi marcada com enzima peroxidase ([Freitas et al., 2022](#); [Motta et al., 2021](#)). Com isso, essa substância se liga aos anticorpos específicos, caso estejam presentes, resultando na formação de um produto colorido. Esse produto pode ser quantificado utilizando a técnica de espectrofotometria. O resultado classificado como soro reagente é aquele que exibe uma densidade ótica com valor igual ou superior a três vezes o desvio-padrão do ponto de corte (*Cut-off*) obtido a partir do controle negativo ([Freitas et al., 2022](#); [Motta et al., 2021](#)).

O método de imunofluorescência indireta (RIFI) tem sido extensivamente empregado no diagnóstico de diversas doenças parasitárias ([Fonseca Júnior et al., 2021](#); [Luciano et al., 2009](#)). No entanto, é importante ressaltar que podem ocorrer reações cruzadas, principalmente com leishmaniose tegumentar americana (LTA) e a doença de Chagas ([Luciano et al., 2009](#)). Para considerar um resultado como soro reagente é necessário que o teste apresente um título igual ao ponto de corte, que corresponde à diluição de 1:40 ([Lira et al., 2006](#)).

A partir disso, essas duas técnicas sorológicas são recomendadas pelo Ministério da Saúde e o material indicado é o soro sanguíneo ([Lira et al., 2006](#)). No entanto, vários estudos têm mostrado que a baixa sensibilidade desses métodos tem um impacto negativo na vigilância e controle da LVC ([Lira et al., 2006](#); [Queiroz et al., 2010](#)).

São comuns os relatos de testes do método ELISA realizado a pedido do tutor que suspeitava de leishmaniose e o resultado foi não reagente em um primeiro momento, quando repetido o teste em um segundo momento o resultado é reagente (IgG) para *Leishmania* spp. ([Abbiati et al., 2019](#)). Neste contexto, se explica o fato que a sorologia positiva para leishmaniose está diretamente associada à presença do parasita, bem como o nível de anticorpos, associado à carga parasitária e intensidade dos sintomas, quando possuímos um outro cenário onde a baixa carga parasitária está relacionada aos baixos títulos de anticorpos, resultando em um diagnóstico molecular falso-negativo ([Sevá et al., 2021](#)).

A partir da nota técnica conjunta de nº 01/2011 - CGDT - CGLAB/DEVIT/SVS/MS, o método de detecção de doenças em cães recomendado pelo Ministério da Saúde consiste em um primeiro momento o teste imunocromatográfico chamado “TR DPP® Bio-Manguinhos”, utilizado como uma etapa inicial de triagem. Já o segundo é o ELISA indireto, é empregado para confirmar os resultados obtidos na triagem anterior ([Freitas, 2015](#)). A metodologia do “TR DPP® Bio-Manguinhos” é um teste de diagnóstico rápido e eficiente que emprega tecnologia de imunocromatografia de duplo percurso, fazendo uso de antígenos recombinantes rk9, rk26 e rk39 da *Leishmania infantum*, outra de suas vantagens é que o mesmo pode ser utilizado a campo, dispensando assim uma estrutura laboratorial

(Sevá et al., 2021). Mesmo assim ocorrem desvantagem quanto ao método TR DPP®, há complicações na detecção de cães assintomáticos, e existem reações cruzadas com outros patógenos caninos, assim resultando no relato de falsos positivos, o que contribui para o aumento da prevalência da doença em áreas endêmicas (Sevá et al., 2021).

Um método que se destaca atualmente é a reação em cadeia da polimerase (PCR). Esta metodologia é fundamentada na identificação e multiplicação de uma parte específica do DNA do parasito. Esse procedimento pode ser realizado em diversas amostras, como aspirações da medula óssea, linfonodos e baço, bem como sangue, urina e amostras de pele obtidas por biópsia (Sevá et al., 2021). É um dos testes que apresentou maior positividade com diferentes metodologias de coletas, independentemente dos sinais clínicos dos animais (Queiroz et al., 2010). Porém existem limitações para seu uso epidemiológico, como o alto custo, pouca disponibilidade de reagentes e de equipamento, como também não é comum em diversos laboratórios e não foi oficialmente regulamentada pelo Ministério da Saúde do Brasil (Freitas et al., 2022; Freitas, 2015; Queiroz et al., 2010).

Tratamento

O tratamento para a LVC é complexo e desafiador, podendo envolver medicamentos para uso apenas por médicos veterinários, pois o uso inadequado de medicamentos pode agravar a condição do cão e levar a efeitos colaterais sérios (Freitas et al., 2022; Motta et al., 2021).

O tratamento medicamentoso é restrito a poucos fármacos, sendo o Glucantime (meglumina antimoniate), que é um antiparasitário que tem como objetivo reduzir a quantidade de parasitas no corpo do animal, e pode ser administrado por via intramuscular, o Miltefosina, que atua contra o parasita *Leishmania*, sendo administrado via oral e usado em combinação com outras terapias, e, o Allopurinol é usado geralmente em combinação com outros tratamentos, auxiliando na redução dos sintomas e a progressão da doença (Freitas et al., 2022; Freitas, 2015; Sevá et al., 2021).

Além da terapia medicamentosa, outras medidas são importantes no tratamento da LVC, são o controle dos sinais clínicos, como tratar feridas e lesões de pele; tratamento de outras doenças que possam estar associadas à infecção por *Leishmania*; suporte nutricional adequado para melhor o estado geral do cão; prevenção de pulgas e carrapatos, que podem transmitir outras doenças ou complicar a infecção, e, realizar exames de acompanhamento para monitorar a evolução do tratamento e a resposta do cão à terapia (Rodrigues et al., 2018; Silva, 2023; Slimane et al., 2014).

Considerações finais

Dentre os testes analisados, o diagnóstico parasitológico e a metodologia PCR, são os exames classificados como de maior confiabilidade para a detecção da Leishmaniose Visceral Canina.

O exame de PCR se mostrou com cem por cento de confiabilidade nos estudos avaliados, já a técnica parasitológica classificada como padrão ouro, irá depender de alguns fatores como a precisão, sujeita à intensidade do parasitismo, à natureza do material biológico obtido, à duração da análise da lâmina e à perícia dos especialistas envolvidos. A investigação de métodos que possam otimizar a detecção e o acompanhamento clínico-laboratorial, utilizando-se o tecido medular, em diferentes estágios da LVC, é de grande importância, sendo fundamental a divulgação desta metodologia como padrão ouro para identificação da LVC.

Por fim, é fundamental sempre consultar um médico veterinário se houver suspeita de LVC ou qualquer outra doença em seu cão. O profissional irá realizar um diagnóstico adequado e propor o melhor tratamento e medidas preventivas para a saúde do animal.

Referências bibliográficas

- Abbiati, T. C., Freitas, D. M., Alves, L. C., Freitas, B. G., Rezende, R. S., Barbosa, S. G., Jorge, A. L. T. A., Santos, S. M. & Lopes, M. C. (2019). Leishmaniose visceral canina: Relato de caso. *PUBVET*, 13(4), 1–8. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n4a307.1-8>.
- Abrantes, T. R., Werneck, G. L., Almeida, A. S. & Figueiredo, F. B. (2018). Fatores ambientais associados à ocorrência de leishmaniose visceral canina em uma área de recente introdução da doença

- no Estado do Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, 34, 1–12. <https://doi.org/10.1590/0102-311X00021117>.
- Alves, W. A. & Bevilacqua, P. D. (2004). Reflexão sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológico: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1999. *Caderno de Saúde Pública*, 20, 259–265. <https://doi.org/10.1590/s0102-311x2004000100043>.
- Assis, J., Queiroz, N. M. G. P., Silveira, R. de C. V., Nunes, C. M., Oliveira, T. M. F. S., Noronha Junior, A. C. F., Neves, M. F., Machado, R. Z. & Buzetti, W. A. S. (2010). Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para Leishmaniose Visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(1), 17–25. <https://doi.org/10.4322/rbvp.01901004>.
- Azevedo, M. Á., Dias, A. K., Paula, H. B., Perri, S. H. V. & Nunes, C. M. (2008). Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 17(3), 123–127. <https://doi.org/10.1590/s1984-29612008000300001>.
- Barbosa, D. S., Rocha, A. L., Santana, A. A., Souza, C. S. F., Dias, R. A., Costa-Júnior, L. M. & Abreu-Silva, A. L. (2010). Soroprevalência e variáveis epidemiológicas associadas à leishmaniose visceral canina em área endêmica no município de São Luís, Maranhão, Brasil. *Ciência Animal Brasileira*, 11(3), 653–659.
- Barroso-Freitas, A. P. T., Passos, S. R. L. & Mouta-Confort, E. (2009). Accuracy of an ELISA and indirect immunofluorescence for the laboratory diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 103, 383–389.
- Collignon, P. J. & McEwen, S. A. (2019). One health—its importance in helping to better control antimicrobial resistance. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 4(1), 22. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed4010022>.
- D’Andrea, L. A. Z. & Guimarães, R. B. (2018). A importância da análise de distribuição espacial da leishmaniose visceral humana e canina para as ações de vigilância em saúde. *Hygeia: Revista Brasileira de Geografia Médica e Da Saúde*, 14(28), 121. <https://doi.org/10.14393/hygeia142810>.
- Dias, E. S., Silva, J. C. F., Silva, J. C., Monteiro, É. M., Paula, K. M. de, Gonçalves, C. M. & Barata, R. A. (2007). Flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) de um foco de leishmaniose tegumentar no Estado de Minas Gerais. *Revista Da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 40, 49–52. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822007000100009>.
- Dias, R. C. F., Soccol, V. T., Pasquali, A. K. S., Alban, S. M., Fendrich, R. C., Pozzolo, E. M., Chiyo, L., Bisetto Júnior, A., Ferreira, F. P. & Desto, S. S. (2018). Variables associated with the prevalence of anti-*Leishmania* spp. antibodies in dogs on the tri-border of Foz do Iguaçu, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 27(3), 338–347. <https://doi.org/10.1590/s1984-296120180055>.
- Dietze, R. (2005). Diagnóstico sorológico e parasitológico da leishmaniose visceral. In *Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las Américas*. (pp. 63–65). Organización Panamericana de la Salud.
- Faria, H. G., Regina, L., Magnago, F., Jesus, S., Almeida, V., Poleze, L. S., Madureira, A. P. & Zanini, M. S. (2019). Pesquisa de *Leishmania* spp. em flebotomíneos (Diptera: Psychodidae) do município de Iúna, Espírito Santo. *PUBVET*, 13(6), 4–10. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n6a342.1-7>.
- Fonseca Júnior, J. D., Mazzinghy, C. L., França, E. C., Pinow, A. C. S. & Almeida, K. S. (2021). Leishmaniose visceral canina: Revisão. *PUBVET*, 15(3), 1–8. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n03a779.1-8>.
- Freitas, A. L., Kinoshita, A. S., Pimentel, B. Z., Malheiros, D. A., Oliveira, E. R., Nascimento, G. Y. S., Júlio, J. B., Paes, J. M., Amorim, T. M. S. & Araújo, T. L. (2022). Leishmaniose visceral canina: Revisão. *PUBVET*, 16(10), 1–20. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v16n10a1245.1-20>.
- Freitas, E. (2015). *Manual Técnico de Leishmanioses Caninas-Leishmaniose Tegumentar Americana e Leishmaniose Visceral*. CRMV-PR.

- Gomes, Y. M., Cavalcanti, M. P., Lira, R. A., Abath, F. G. C. & Alves, L. C. (2008). Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. *The Veterinary Journal*, 175(1), 45–52. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2006.10.019>.
- Hirschmann, L. C., Brod, C. S., Radin, J., Simon, C. F. & Recuero, A. L. C. (2015). Leishmaniose visceral canina: comparação de métodos sorológicos em cães de área indene do Rio Grande do Sul no Brasil. *Revista de Patologia Tropical*, 44(1), 33–44. <https://doi.org/10.5216/rpt.v44i1.34799>.
- Kahn, L. H. (2017). Perspective: The one-health way. *Nature*, 543(7647), S47–S47.
- Leal-Lima, A., Ferreira, T. M. V., Leite, L. O., Maciel, B. L. L. & Nunes-Pinheiro, D. C. S. (2021). Tríade canina na Leishmaniose Visceral: Reservatório-vítima-sentinela. *PUBVET*, 15(11), 1–14. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n11a952.1-14>.
- Lima, C. A., Teixeira, K. R., Moreira, J. P. F. F. & Teixeira, K. R. (2013). Diagnóstico da leishmaniose visceral canina: Uma revisão. *PUBVET*, 7, 2565–2677.
- Lira, R. A., Cavalcanti, M. P., Nakazawa, M., Ferreira, A. G. P., Silva, E. D., Abath, F. G. C., Alves, L. C., Souza, W. V. de, & Gomes, Y. M. (2006). Canine visceral leishmaniosis: a comparative analysis of the EIE-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos and the IFI-leishmaniose-visceral-canina-Bio-Manguinhos kits. *Veterinary Parasitology*, 137(1–2), 11–16. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.12.020>.
- Luciano, R. M., Lucheis, S. B., Troncarelli, M. Z., Luciano, D. M. & Langoni, H. (2009). Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI). *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*, 46(3), 181–187. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.bjvras.2009.26765>.
- Menezes, J. A., Luz, T. C. B., Sousa, F. F., Verne, R. N., Lima, F. P. & Margonari, C. (2016). Fatores de risco peridomiciliares e conhecimento sobre leishmaniose visceral da população de Formiga, Minas Gerais. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, 19, 362–374.
- Montalvo, A. M., Fraga, J., Monzote, L., García, M. & Fonseca, L. (2012). Diagnóstico de la leishmaniasis: de la observación microscópica del parásito a la detección del ADN. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 64(2), 108–131.
- Motta, L. M., Ebert, K. G. & Batista, K. Z. S. (2021). Diagnóstico imunológico e molecular da Leishmaniose Visceral Canina: Revisão. *PUBVET*, 15(8), 1–7. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v15n08a886.1-7>.
- Pelissari, D. M., Cechinel, M. P., Sousa-Gomes, M. L. & Lima Júnior, F. E. F. (2011). Tratamento da leishmaniose visceral e leishmaniose tegumentar americana no Brasil. *Epidemiologia e Serviços de Saúde*, 20(1), 107–110. <https://doi.org/10.5123/S1679-49742011000100012>.
- Queiroz, N. M. G. P., Assis, J., Oliveira, T. M. F. S., Machado, R. Z., Nunes, C. M. & Starke-Buzetti, W. A. (2010). Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina pelas técnicas de imunoistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA-teste. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 19(1), 32–38. <https://doi.org/10.4322/rbpv.01901006>.
- Rennó, M. C., Vasconcellos, A. O., Santos, R. R., Silva, R. O. S., Carneiro, R. A. & Paes, P. R. O. (2019). Líquido sinovial como ferramenta diagnóstica auxiliar da leishmaniose visceral canina em diferentes estádios. *Ciência Rural*, 49(5), e20190023. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20190023>.
- Ribeiro, V. M. (2007). Leishmaniose visceral canina: aspectos de tratamento e controle. *Clínica Veterinária*, 71, 86–92.
- Rodrigues, K. S., Silva, A. M., Almeida, A. P. De, Silva, M. C., Viana, D. D. A. & Durans, S. (2018). Leishmaniose canina na cidade de Caucaia, Ceará: Relato de Caso. *PUBVET*, 12(8), 1–6.
- Schimming, B. C. & Silva, J. R. C. P. (2012). Leishmaniose visceral canina – Revisão de literatura. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 10(18), 1–5.
- Sevá, A. P., Brandão, A. P. D., Godoy, S. N., Soares, R. M., Langoni, H., Rodrigues, B. C., Gava, M. Z., Zanotto, P. F. C., Jimenez-Villegas, T. & Hiramoto, R. (2021). Investigation of canine visceral leishmaniasis in a non-endemic area in Brazil and the comparison of serological and molecular

- diagnostic tests. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 54, e0182-2021. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0182-2021>.
- Silva, C. M. H. S. & Winck, C. A. (2018). Leishmaniose visceral canina: revisão de literatura. *Revista da Universidade Vale Do Rio Verde*, 16(1), 1–12.
- Silva, M. A. (2023). Diagnóstico de Leishmaniose canina por exame direto: Relato de caso. *PUBVET*, 17(2), 1–6. <https://doi.org/https://doi.org/10.31533/pubvet.v17n02a1339>.
- Silva, O. A. & Braga, G. M. S. (2010). Leishmaniose visceral canina no município de São Vicente Férrer, Estado de Pernambuco, Brasil. *PUBVET*, 4, 879–885.
- Silva, S. M., Ribeiro, V. M., Ribeiro, R. R., Tafuri, W. L., Melo, M. N. & Michalick, M. S. M. (2009). First report of vertical transmission of *Leishmania (Leishmania) infantum* in a naturally infected bitch from Brazil. *Veterinary Parasitology*, 166(1–2), 159–162. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.08.011>.
- Slimane, T. B., Chouih, E., Ahmed, S. B. H., Chelbi, I., Barhoumi, W., Cherni, S., Zoghlami, Z., Gharbi, M. & Zhioua, E. (2014). An investigation on vertical transmission of *Leishmania infantum* in experimentally infected dogs and assessment of offspring's infectiousness potential by xenodiagnosis. *Veterinary Parasitology*, 206(3–4), 282–286. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2014.10.020>.
- Socol, V. T., Pasquali, A. K. S., Pozzolo, E. M., Leandro, A. de S., Chiyo, L., Baggio, R. A., Michaliszyn, M. S., Silva, C., Cubas, P. H. & Peterlle, R. (2017). More than the eyes can see: the worrying scenario of canine leishmaniasis in the Brazilian side of the triple border. *PLoS One*, 12(12), e0189182. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0189182>.
- Sousa, M. V. C., Szabó, M. P. J., Magalhães, G. M., Queiroz, R. P., Castro, I. P., Gabellini, E. L. A., Medeiros, A. A. & Wilson, T. M. (2017). Sensibilidade do teste parasitológico em imprints de baço, medula óssea e linfonodo para o diagnóstico da leishmaniose de acordo com o número de avaliadores. *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*, 39(3), 176–181. <https://doi.org/10.29374/2527-2179.bjvm027417>.
- Sousa, T. C., Francisco, A. K. P. R. & Santos, I. B. (2015). Leishmaniose canina em Brasília, DF: Uma revisão da literatura. *Tempus-Actas de Saúde Coletiva*, 9(3), 187–202. <https://doi.org/10.18569/tempus.v9i3.1796>.
- Souza, M. B., Carvalho, R. W., Machado, R. N. M. & Wermelinger, E. D. (2009). Flebotômios de áreas com notificações de casos autóctones de leishmaniose visceral canina e leishmaniose tegumentar americana em Angra dos Reis, Rio de Janeiro, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia*, 53(1), 147–150.
- Souza, Y. C. P., Carvalho, A. F. S., Carvalho, L. A. R. & Mansur, V. F. R. (2013). Testes diagnósticos para leishmaniose visceral: atualidade e perspectivas. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*, 11(21), 1–16.

Histórico do artigo:**Recebido:** 17 de outubro de 2023**Aprovado:** 23 de outubro de 2023**Licenciamento:** Este artigo é publicado na modalidade Acesso Aberto sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 (CC-BY 4.0), a qual permite uso irrestrito, distribuição, reprodução em qualquer meio, desde que o autor e a fonte sejam devidamente creditados