



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO SEMI-ÁRIDO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL  
MESTRADO EM CIÊNCIA ANIMAL

JOSÉ ARTUR BRILHANTE BEZERRA

**INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS (*Felis catus*) NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

MOSSORÓ – RN

2019

JOSÉ ARTUR BRILHANTE BEZERRA

**INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS (*Felis catus*) NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, como requisito final para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes - UFERSA

MOSSORÓ – RN

2019

## FICHA CATALOGRÁFICA

©Todos os direitos estão reservados à Universidade Federal Rural do Semi-Árido. O conteúdo desta obra é de inteira responsabilidade do (a) autor (a), sendo o mesmo, passível de sanções administrativas ou penais, caso sejam infringidas as leis que regulamentam a Propriedade Intelectual, respectivamente, Patentes: Lei nº 9.279/1996, e Direitos Autorais: Lei nº 9.610/1998. O conteúdo desta obra tornar-se-á de domínio público após a data de defesa e homologação da sua respectiva ata, exceto as pesquisas que estejam vinculadas ao processo de patenteamento. Esta investigação será base literária para novas pesquisas, desde que a obra e seu (a) respectivo (a) autor (a) seja devidamente citado e mencionado os seus créditos bibliográficos.

B574i Bezerra, José Artur Brilhante.  
INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR Leishmania spp.  
EM FELINOS DOMÉSTICOS (Felis catus) NA CIDADE DE  
MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE / José Artur  
Brilhante Bezerra. - 2019.  
57 f. : il.

Orientador: João Marcelo Azevedo de Paula  
Antunes.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal  
Rural do Semi-árido, Programa de Pós-graduação em  
Ciência Animal, 2019.

1. leishmaniose. 2. retrovíroses felinas. 3.  
zoonose. 4. epidemiologia. 5. RIFI. I. Antunes,  
João Marcelo Azevedo de Paula, orient. II. Título.

JOSÉ ARTUR BRILHANTE BEZERRA

**INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM FELINOS  
DOMÉSTICOS (*Felis catus*) NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE**

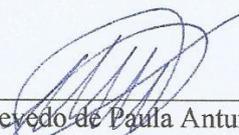
Dissertação apresentada à Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, como requisito final para obtenção do título de Mestre no Curso de Pós-Graduação Ciência Animal.

Linha de Pesquisa: Sanidade Animal

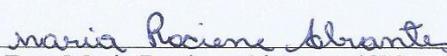
Orientador: Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes - UFERSA

APROVADO EM: 16/05/2019.

**BANCA EXAMINADORA**

  
\_\_\_\_\_  
Prof. Dr. João Marcelo Azevedo de Paula Antunes (UFERSA)  
(Orientador e Presidente)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Ana Carla Diógenes Suassuna Bezerra (UFERSA)  
(Primeiro membro)

  
\_\_\_\_\_  
Profa. Dra. Maria Rociene Abrantes (CISNE Faculdade de Quixadá)  
(Segundo membro)

## **DADOS CURRICULARES DO AUTOR**

**JOSÉ ARTUR BRILHANTE BEZERRA** – Nascido no município de Mossoró, RN, no dia 20 de dezembro de 1990, filho de Antônia Alves Brilhante e José Simão Bezerra. Concluiu o ensino médio em 2008, no Colégio GEO. Gradou-se em Medicina Veterinária em março de 2014 pela UFERSA. Durante a graduação, foi bolsista de iniciação científica PIBIC/CNPq (Agosto/2010 a Dezembro/2013), desenvolvendo trabalhos na área de biotecnologia da reprodução em animais silvestres. Foi residente em Clínica Médica e Cirúrgica de Pequenos Animais no Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia (HOVET) pelo programa de Residência Veterinária Institucional da UFERSA de Julho de 2014 a Fevereiro de 2015. De Março de 2015 a Fevereiro de 2017 foi residente em Clínica Médica de Pequenos Animais pelo Programa de Residência em Área Profissional da Saúde em Medicina Veterinária (Ministério da Educação) também no HOVET/UFERSA, onde obteve o título de especialista na referida área. Em março de 2017 ingressou no mestrado pelo Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (PPGA/UFERSA), tendo como linha de pesquisa Sanidade Animal.

*À minha mãe, Antônia Alves Brilhante (in memoriam), um exemplo de ser humano, dedicação e valores. Por todos os ensinamentos e sacrifícios feitos para que eu me tornasse o ser humano e profissional que sou hoje.*

**Dedico**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre estar ao meu lado, e ter intercedido nos momentos de dificuldade. Por não me permitir desistir diante das maiores adversidades, e principalmente por ter me dado forças quando eu achava que não seria mais capaz de continuar.

À minha amada mãe, Antônia Alves Brilhante (*in memoriam*), por sempre ter sido um exemplo a ser seguido, uma verdadeira guerreira que com seus próprios esforços conseguiu educar e formar seus dois filhos, tanto no quesito profissional como no pessoal. Esse título que estou obtendo, só é possível por toda a sua dedicação a mim. Defender essa dissertação sem tê-la ao meu lado para comemorar torna tudo muito mais difícil. Mas Deus tem um propósito em nossas vidas, e sua missão foi lindamente cumprida aqui na Terra. Sou eternamente grato por ser seu filho, e tenho certeza que você sempre viverá em mim e naqueles que tiveram a oportunidade de conhecê-la. Esse título é nosso.

À minha família, em especial ao meu pai José Simão, meu irmão Silvestre Brilhante, ao meu sobrinho Gustavo, e minha tia Luiza Veras. Obrigado por todo o apoio, por sempre estarem ao meu lado, por serem a minha base, meu porto seguro.

A todos os envolvidos direta ou indiretamente na execução deste trabalho. Às residentes da Clínica Médica de Pequenos Animais do HOVET-UFERSA, Keylla, Mirlla Baracho, Alessandra Moreira, Brizza Rocha, Kayana Marques, Luanda Oliveira e Diane Dias, e ao médico veterinário Kilder Dantas, pela ajuda na seleção dos animais e na coleta de dados. À minha grande amiga Natália Bessa, por todo o apoio e disponibilidade nos momentos de dificuldade, e pela ajuda dada ao longo do experimento. À Ilanna Pristo pelo companheirismo e pela ajuda na execução da parte laboratorial do trabalho.

Às amizades fortalecidas e às conquistadas ao longo desses dois anos de mestrado. Como dizem, quem tem amigos, tem tudo. Obrigado Caroline Coelho, Carolina Barbosa, Tiago Chacon, Rociene Abrantes, Simone Costa, Silvana Câmara e Jaqueline Oliveira.

À minha VetFamily, Ianne Cardoso, Poliana Ximenes, Vitor Brasil, Ramon Galvão, Sávio Bessa, Ismael Borges, Isabelle Oliveira e Mayara Leal. Vocês foram um dos mais importantes presentes que a residência me proporcionou. Que a nossa amizade e união permaneçam dessa forma intensa que nem nós sabemos explicar.

À professora Rociene Abrantes pela amizade e pelo apoio dado no estágio de docência.

À minha namorada, Carmen Vlândia, pelo companheirismo, amor e cuidado. Por todo o crescimento que você tem me proporcionado. Obrigado por ter sido meu maior apoio nos momentos mais difíceis. Te amo.

À toda a equipe Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO) da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, pela receptividade e todos os auxílios dados na execução da parte laboratorial do experimento, em especial às residentes Ana Yakamawa, Mariana Nilsson, Mariana Gava, Paula Zanotto, Rafaela e Natalie, a Felipe Fornazzari, e ao professor Helio Langoni.

Ao meu Orientador, João Marcelo, pela confiança depositada em mim desde o primeiro momento que o procurei para iniciar o mestrado, e por ter me dado a oportunidade de desenvolver um trabalho que era de grande interesse pessoal. Parabéns por além de ser um grande profissional, ser um grande ser humano. Concluo essa etapa da minha vida com a certeza de que além de um orientador, eu conquistei um amigo. Deus sabe de todas as coisas, e eu tenho certeza que essa orientação não foi por acaso. Obrigado por tudo.

A CAPES pela concessão da bolsa de mestrado.

A todos os gatos que participaram do experimento, e aos seus respectivos tutores pela disponibilidade e contribuição para a realização deste trabalho.

A UFERSA por me proporcionar os meios necessários para a minha formação e crescimento profissional.

**INVESTIGAÇÃO DA INFECÇÃO POR *Leishmania* spp. EM FELINOS DOMÉSTICOS (*Felis catus*) NA CIDADE DE MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE.** Bezerra, José Artur Brilhante. 2019. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal: Sanidade Animal) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019.

**RESUMO:** O objetivo do presente estudo foi investigar a ocorrência da infecção por *Leishmania* spp. e a coinfeção pelo vírus da imunodeficiência felina (FIV) e o vírus da leucemia felina (FeLV) em felinos domésticos provenientes de uma cidade endêmica no estado do Rio Grande do Norte para a leishmaniose visceral canina e humana. Foram incluídos no estudo 91 gatos. Esses animais foram submetidos a exame clínico completo e amostras de sangue foram coletadas. Um questionário epidemiológico foi aplicado aos tutores de cada animal para investigar fatores de risco. Anticorpos IgG anti-*Leishmania* spp. foram avaliados por meio da imunofluorescência indireta (RIFI), adotando-se como ponto de corte a diluição de 1:40. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi executada visando detectar o material genético de *Leishmania* spp. a partir de amostras de sangue total. Também foi executado um teste imunocromatográfico para avaliar a presença de anticorpos contra o FIV e antígenos do FeLV. Observou-se soropositividade em 14 (15,38%), 26 (28,57%) e 3 (3,29%) animais para *Leishmania* spp., FIV e FeLV, respectivamente. Nenhuma amostra foi positiva na PCR de sangue total. Não foi observada nenhuma associação estatística entre a soropositividade para *Leishmania* spp. e gênero, idade, presença de sinais clínicos e fatores de risco avaliados. Dos 14 animais soropositivos para *Leishmania* spp., 5 apresentavam anticorpos contra o FIV, porém não houve associação estatística entre as duas infecções ( $p = 0,052$ ). Não houve coinfeção com o FeLV. Esses achados demonstram pela primeira vez que os felinos da região estudada estão sendo expostos a esta zoonose e podem estar participando de forma importante da cadeia epidemiológica de transmissão da leishmaniose visceral.

**Palavras-chave:** leishmaniose; retrovíroses felinas; zoonose; epidemiologia; RIFI.

**INVESTIGATION OF *Leishmania* spp. INFECTION IN DOMESTIC CATS (*Felis catus*) IN THE CITY OF MOSSORÓ, RIO GRANDE DO NORTE.** Bezerra, José Artur 2019. Dissertation (Master's degree in Animal Science) – Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA), Mossoró-RN, 2019. (Dissertation)

**ABSTRACT:** The aim of this study was to investigate the occurrence of *Leishmania* spp. infection and the coinfection by feline immunodeficiency virus (FIV) and feline leukemia virus (FeLV) in domestic cats from an area endemic for canine and human leishmaniosis in Rio Grande do Norte State, Brazil. Ninety-one cats were subjected to a complete clinical exam, and blood samples were collected. An epidemiological survey was used to investigate the risk factors. IgG anti-*Leishmania* spp. antibodies were detected by immunofluorescence antibody test (IFAT), with a cut-off value of 1:40. Polymerase chain reaction (PCR) was performed to detect genetic material of *Leishmania* spp. in the blood samples. The presence of antibodies against FIV and antigens of FeLV was evaluated using an immunochromatographic test. Seropositivity for *Leishmania* spp., FIV, and FeLV was observed in 14 (15.38%), 26 (28.57%), and 3 (3.29%) cats, respectively. All samples gave negative results on PCR analysis. No statistical association was observed between seropositivity for *Leishmania* spp., and sex, age, presence of clinical signs, and evaluated risk factors. Of the 14 animals seropositive for *Leishmania* spp., 5 presented antibodies against FIV; however, no association between *Leishmania* infection and FIV was observed ( $p = 0.052$ ). None of the cats was co-infected by *Leishmania* spp. and FeLV. These findings demonstrated for the first time that cats from the studied region were being exposed to this zoonosis and might be part of the epidemiological chain of transmission of visceral leishmaniosis.

**Keywords:** leishmaniosis; feline retrovirovirus; zoonosis; epidemiology; IFAT.

## LISTA DE ABREVIATURAS

DAT	Teste de aglutinação direta
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
ELISA	Teste de imunoadsorção ligada à enzima
EPD	Exame parasitológico direto
FeL	Feline leishmaniosis
FeLV	Vírus da Leucemia Felina
FIV	Vírus da Imunodeficiência Felina
IFAT	Imunofluorescence antibody test
IgG	Imunoglobulina G
IMQ	Imunohistoquímica
IMQ	Imuno-histoquímica
PBS	Tampão fosfato salino
PCR	Reação em Cadeia de Polimerase
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Relatos de caso de leishmaniose felina causada por <i>Leishmania infantum</i> em gatos domésticos no Brasil.....	21
Tabela 2. Soroprevalência da infecção por <i>Leishmania infantum</i> em gatos provenientes de cidades brasileiras.....	24
Tabela 3. Prevalência da infecção por <i>Leishmania infantum</i> por meio do exame parasitológico direto em gatos provenientes de cidades brasileiras.....	26
Tabela 4. Prevalência da infecção por <i>Leishmania infantum</i> por meio de PCR em gatos provenientes de cidades brasileiras.....	27

## CAPÍTULO 1

Table 1. Distribution of IFAT titers (IgG) for <i>Leishmania</i> spp. in domestic cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil (n = 91).....	45
Table 2. Clinical manifestations of domestic cats seropositive for <i>Leishmania</i> spp. on IFAT from Mossoró city (n = 14) .....	47

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

Figure 1. Clinical manifestations of *Leishmania* spp. seropositive cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil. A: Animal #48 (Male, 3-year-old, FIV-negative, IFAT titer of 1:40) with bilateral blepharitis. B. Animal #56 (Male, 8-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:160) with alopecia on ear borders associated with erythema and desquamation ..... 46

Figure 2. Clinical manifestations of *Leishmania* spp. seropositive cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil. A: Animal #27 (Male, 10-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:80) presenting chronic gingivostomatitis. B: Animal #43 (Female, 9-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:40) with a squamous cell carcinoma ulcerative lesion involving nasal and palpebral borders. C: Animal #51 (Female, 1-year-old, FIV-negative, IFAT titer of 1:320). Ulcerative lesions in plaque located in calcaneal region, with 5 months of evolution time and difficult healing ..... 48

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	15
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	17
2.1. AGENTE ETIOLÓGICO .....	17
2.2. TRANSMISSÃO .....	17
2.3. SINAIS CLÍNICOS .....	19
2.4. DIAGNÓSTICO .....	22
2.5. EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE FELINA NO BRASIL .....	23
2.6. COINFECÇÕES .....	28
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	29
3.1. OBJETIVO GERAL .....	29
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	29
<b>4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	30
<b>5. CAPÍTULO I - Serological and molecular investigation of <i>Leishmania</i> spp. infection in cats from an area endemic for canine and human leishmaniosis in Northeast Brazil</b> .....	40
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	57

## 1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral possui como agente etiológico o protozoário *Leishmania infantum* (syn. *Leishmania chagasi*). Essa enfermidade é considerada uma das sete endemias de prioridade absoluta pela Organização Mundial da Saúde e representa uma antropozoonose de grande relevância na saúde coletiva por sua heterogeneidade epidemiológica, ampla distribuição territorial e elevadas taxas de incidência e de letalidade (TORRES-GUERRERO et al., 2017).

O cão é o principal reservatório urbano para a leishmaniose visceral, todavia, vários autores têm comprovado que é relativamente comum a infecção de gatos por *L. infantum* em regiões onde a leishmaniose canina é endêmica (VIDES et al., 2011; SHERRY et al., 2011; SOLANO-GALLEGO et al., 2011; CHATZIS et al., 2014; SPADA et al., 2016). No entanto, o conhecimento acerca dessa enfermidade em hospedeiros felinos ainda é bastante limitado, devido principalmente à escassez de estudos voltados para o tema, que passou a ganhar maior interesse científico ao longo das duas últimas décadas (PENNISI et al., 2015).

Levantamentos epidemiológicos dessa parasitose em felinos, realizados no Brasil, demonstraram prevalências variando de 0 a 54% em áreas endêmicas para a doença em cães e humanos (BRESCIANI et al., 2010; METZDORF et al., 2017; COURA et al., 2018). No entanto, esses trabalhos ainda são esporádicos, sendo a maioria realizada na região Sudeste. Escassos estudos investigaram leishmaniose felina na região Nordeste, que foi a responsável por 82,5% dos casos de leishmaniose visceral humana no país entre os anos de 1980 e 2005, sendo, portanto, a região de maior importância epidemiológica para a enfermidade no Brasil (MAIA-ELKHOURY et al., 2008; SILVA et al., 2014; MENDONÇA et al., 2017).

O estado do Rio Grande do Norte é considerado endêmico para a leishmaniose visceral, sendo o município de Mossoró o local de ocorrência da maioria dos casos humanos (BARBOSA, 2013). De acordo com dados obtidos a partir do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), no período de 2006 a 2012, houve 205 novos casos humanos (ANDRÉ et al., 2013). Vale ressaltar que a incidência da doença em cães na localidade também é elevada, tendo sido observada positividade em 35% e 45% dos animais avaliados provenientes de zona urbana e zona rural, respectivamente (AMÓRA et al., 2006). Entre os anos de 2007 e 2011, a taxa de letalidade em humanos foi de 11,4%, enquanto que a média nacional foi de 5,8% (LEITE e ARAÚJO, 2013). Esses estudos enfatizam a

importância que a enfermidade representa na saúde pública do município, demonstrando a necessidade de investigação de outros possíveis reservatórios, como os felinos, que auxiliaria tanto na caracterização epidemiológica da doença como no planejamento de estratégias para seu controle.

Tendo em vista a importância que a leishmaniose visceral apresenta no tocante à saúde pública, e a inexistência de trabalhos voltados para a investigação epidemiológica desta enfermidade em gatos provenientes do município de Mossoró, Rio Grande do Norte, justificou-se a realização do presente estudo.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. AGENTE ETIOLÓGICO

As leishmanioses são causadas por protozoários do gênero *Leishmania*, pertencentes à ordem Kinetoplastida e à família Trypanosomatidae (BANETH et al., 2008). De forma geral, os gatos podem ser acometidos pelas mesmas espécies de *Leishmania* encontradas em humanos e outros animais em uma dada região geográfica (PENNISI et al., 2015). A maioria dos trabalhos reporta a infecção de gatos pela espécie *Leishmania infantum*, responsável pela leishmaniose visceral (PENNISI & PERSICHETTI, 2018). No entanto, esses animais também podem ser afetados por espécies dermatrópicas que são responsáveis pela leishmaniose tegumentar, sendo relatada a infecção por *L. mexicana*, *L. venezuelensis*, *L. braziliensis*. e *L. amazonensis*, nas Américas (BONFANTE-GARRIDO, 1991; SCHUBACH et al., 2004; SOUZA et al., 2005; TRAINOR et al., 2010), e por *L. tropica* e *L. major* na Turquia (PAŞA et al., 2015; CAN et al., 2016). No Brasil, as espécies que já foram isoladas de felinos domésticos foram a *L. infantum*, *L. amazonensis* e *L. braziliensis* (SCHUBACH et al., 2004; SOUZA et al., 2005; METZERDOF et al., 2017).

### 2.2. TRANSMISSÃO

A principal forma de transmissão da leishmaniose visceral aos hospedeiros vertebrados se dá por meio da picada de fêmeas infectadas de flebotomíneos do gênero *Lutzomia* no Novo Mundo, e do gênero *Phlebotomus* no Velho Mundo (SILVEIRA-NETO et al., 2015; SOARES et al., 2016). No Brasil, as espécies *Lu. longipalpis* e *Lu. cruzi*, conhecidos popularmente como mosquitos-palha, são as responsáveis pela transmissão (BRASIL, 2014). Outras formas não vetoriais de transmissão já foram descritas em cães, como a transmissão vertical (ROSYPAL et al., 2005), venérea (SILVA et al., 2009), por transfusão sanguínea (FREITAS et al., 2006), e por meio de ferimentos causados por mordedura de um animal infectado (NAUCKE et al., 2016), no entanto, esse tipo de informação não está disponível para os gatos. Como *L. infantum* já foi identificada por meio de PCR no sangue de felinos, a transmissão por meio da transfusão sanguínea também poderia ser possível, como já foi demonstrado em cães e humanos (PENNISI & PERSICHETTI, 2018).

O cão é considerado o principal reservatório urbano para a leishmaniose visceral, e por essa razão, extensos estudos já foram desenvolvidos para esclarecer a transmissão, patogenia, manifestações clínicas, diagnóstico, tratamento e prevenção da enfermidade nessa espécie (SOLLANO-GALEGO et al., 2011). O diagnóstico da leishmaniose felina tem sido cada vez mais frequente, especialmente onde a doença é endêmica em cães e humanos, no entanto, o papel dos gatos na epidemiologia da leishmaniose visceral, incluindo sua contribuição para a manutenção e transmissão de *L. infantum*, ainda necessita ser elucidado (PENNISI et al., 2015).

No ciclo silvestre da leishmaniose visceral no Brasil, canídeos, como o cachorro vinagre (*Speothos venaticus*) e o cachorro do mato (*Cerdocyon thous*), e os gambás (*Didelphis albiventris*) são apontados como os principais reservatórios (FIGUEIREDO et al., 2008; HUMBERG et al., 2012). Já foi relatada a infecção por *L. infantum* em felídeos silvestres, tendo sido identificada por meio de PCR a infecção em onça parda (*Puma concolor*), onça-pintada (*Panthera onca*) e leão (*Panthera leo*), que estavam alocados em zoológicos brasileiros localizados em áreas endêmicas para a leishmaniose visceral (DAHROUG et al., 2010; DAHROUG et al., 2011). Como esses animais viviam em zona urbana, a infecção pode ter acontecido nesse ambiente, mas a identificação de animais infectados demonstra que esses felídeos poderiam ser infectados no seu ambiente natural e contribuir para o ciclo silvestre da doença.

Por meio de trabalhos experimentais, foi demonstrado que gatos parasitados foram capazes de infectar flebótomos (*Lu. longipalpis* e *P. perniciosus*) em condições controladas, por meio de xenodiagnóstico (MAROLI et al., 2007; SILVA et al., 2010). Um estudo que avaliou a presença de anticorpos contra antígenos presentes na saliva de *P. perniciosus* em gatos provenientes de uma região endêmica para a leishmaniose visceral demonstrou que 47,7% dos animais estudados apresentaram tais anticorpos e, portanto, são expostos ao vetor dessa enfermidade em condições naturais (PEREIRA et al., 2019).

Apesar de ainda não ser possível determinar a função dos gatos domésticos dentro da cadeia epidemiológica da leishmaniose visceral, acredita-se que esses animais possam atuar mais provavelmente como reservatórios secundários, onde em condições naturais, na ausência do reservatório primário, os gatos sozinhos não conseguiriam ser a principal fonte de *L. infantum* para os flebomíneos (PENNISI et al., 2015). No entanto, de acordo com o conhecimento atual a respeito da leishmaniose felina, não é possível fazer afirmações acerca

da fisiopatologia e epidemiologia da enfermidade nesses hospedeiros, apenas sugerir hipóteses. Ainda não se sabe a importância que gatos infectados apresentariam como fonte de infecção em um ambiente onde também são encontrados cães contaminados pelo protozoário, tampouco a disponibilidade do protozoário para os flebótomos em gatos infectados.

Recentemente, sugeriu-se a participação de lebres como reservatórios em um surto de leishmaniose humana na Espanha, na ausência do cão no ciclo de transmissão (MOLINA et al., 2012; MORENO et al., 2014). Desta forma, como a população de gatos domiciliados e errantes pode ser bem maior que a de cães em algumas áreas endêmicas, existe a possibilidade dessa espécie atuar de forma importante no ciclo da leishmaniose nessas regiões (PENNISI et al., 2015). No entanto, para a confirmação dessas hipóteses são necessários estudos voltados para a investigação do real papel do gato da cadeia epidemiológica da leishmaniose visceral em condições naturais.

### 2.3. SINAIS CLÍNICOS

Tanto a leishmaniose felina clínica, quanto a forma subclínica são relatadas com menor frequência em relação aos casos da doença em cães (SHERRY et al., 2011). Embora a prevalência da infecção por *L. infantum* em gatos possa chegar a 60%, a maioria dos gatos infectados são resistentes e permanecem assintomáticos (CHATZIS et al., 2010). A leishmaniose pode levar ao desenvolvimento de manifestações viscerais, cutâneas e mucocutâneas, sendo que em gatos observa-se uma predominância de anormalidades dermatológicas (VIDES et al., 2011; PENNISI et al., 2015).

Os principais sinais observados são aumento de linfonodos, e lesões cutâneas e mucocutâneas, especialmente nódulos, úlceras e alopecia, sendo a dermatite esfoliativa que é comumente observada em cães, considerada rara em gatos (VIDES et al., 2011; PENNISI et al., 2015). Também são relatados sinais clínicos oculares, como a uveíte, gengivoestomatite crônica, perda de peso, anorexia, além de outras manifestações inespecíficas (PENNISI et al., 2015; SOARES et al., 2016). Baseado em alguns casos tem-se proposto um sinergismo entre a leishmaniose felina e o carcinoma de células escamosas cutâneo, onde se acredita que o carcinoma poderia tomar vantagem da proliferação do protozoário e/ou o parasito na pele poderia iniciar o desenvolvimento da neoplasia (GREVOT et al., 2005; POCHOLE et al., 2012; MAIA et al., 2015; SOARES et al., 2016).

Poucos relatos de casos clínicos de leishmaniose foram publicados em animais provenientes do Brasil, sendo as anormalidades cutâneas as mais observadas (SAVANI et al., 2004; COELHO et al., 2010; ANTUNES et al., 2016). As anormalidades clínicas apresentadas por esses animais estão detalhadas na Tabela 1.

Tabela 1. Relatos de caso de leishmaniose felina causada por *Leishmania infantum* em gatos domésticos no Brasil.

Cidade	Sexo	Idade	Método diagnóstico	Lesões	Referência
Cotia, SP	Macho	2 anos	RIFI, EPD da lesão nodular, e PCR de baço	Lesão nodular localizada no nariz, linfadenomegalia, perda de peso	SAVANI et al., 2004
Andradina, SP	Macho	Adulto	ELISA, EPD de linfonodo, PCR de linfonodo e baço	Dermatite com crostas e úlceras na face e nas áreas palmares e plantares dos membros	COELHO et al., 2010
Campo Grande, MS	Fêmea	Adulto	EPD de esfregaço sanguíneo e nódulo cutâneo, PCR de linfonodo	Nódulo cutâneo abdominal	ANTUNES et al., 2016
Campo Grande, MS	Fêmea	7 anos	RIFI, ELISA, EPD de linfonodo, PCR de linfonodo	Gengivoestomatite crônica, perda de peso, linfadenomegalia	SANTOS et al., 2018
Araçatuba, SP	Fêmea	2 anos	EPD de nódulo nasal, IMQ de nódulo nasal e linfonodo, PCR de linfonodo	Espessamento de mucosa nasal causando obstrução parcial	ARENALES et al., 2018
Cuiabá, MT	Fêmea	8 anos	Histopatológico de conjutiva, cultura de humor aquoso, PCR de sangue, humor aquoso e medula óssea	Uveíte bilateral, com aparência tumoral em íris, conjuntivite nodular	MADRUGA et al., 2018

ELISA: ensaio de imunoadsorção enzimática; EPD: exame parasitológico direto; IMQ: imuno-histoquímica; PCR: reação em cadeia da polimerase; RIFI: reação de imunofluorescência indireta.

## 2.4. DIAGNÓSTICO

O desenvolvimento da medicina felina e de técnicas diagnósticas sorológicas e moleculares mais sensíveis nas últimas décadas levaram ao aumento do número de casos reportados de leishmaniose felina clínica e subclínica (PENNISI et al., 2015). No entanto, o diagnóstico dessa enfermidade ainda representa um grande desafio em gatos, pois a maioria dos animais é assintomática, não há uma padronização das técnicas diagnósticas empregadas, e pouca concordância é observada entre elas (SILVEIRA-NETO et al., 2015). A maioria dos métodos utilizados no diagnóstico da leishmaniose canina também pode ser empregada para o diagnóstico da leishmaniose felina. Desta forma, existe a possibilidade da utilização de métodos sorológicos, parasitológicos, moleculares, além da cultura do protozoário (PENNISI et al., 2015).

Dentre as técnicas de diagnóstico sorológico, a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio de imunoadsorção enzimática (ELISA), são as mais utilizadas, sendo esta última a mais sensível (VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; SILVEIRA-NETO et al., 2015). Porém, tem-se observado uma baixa concordância entre os resultados desses testes (VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012)

Além disso, também podem ser empregadas técnicas para o diagnóstico parasitológico, por meio da visualização direta do agente etiológico em aspirados de linfonodos, baço, fígado e medula óssea, e da imuno-histoquímica da pele (VIDES et al., 2011). Costa et al. (2010) apontaram o linfonodo como tecido com melhor sensibilidade para o diagnóstico parasitológico de leishmaniose em felinos. Outros autores já observaram essa maior sensibilidade em amostras provenientes da medula óssea (VIDES et al., 2011). De um modo geral, a sensibilidade desses métodos para a detecção de formas amastigotas de *Leishmania* vai depender principalmente da densidade parasitária do tecido escolhido, além de outros fatores como a qualidade do esfregaço, a experiência do avaliador e o número de campos em óleo de imersão avaliados (SARIDOMICHELAKIS et al., 2005).

Técnicas moleculares, como a reação em cadeia da polimerase (PCR), permitem a identificação do DNA do parasito e podem ser realizadas a partir de amostras de vários tecidos infectados, como sangue total, aspirado de órgãos hematopoiéticos, como linfonodos, medula óssea, baço e fígado, e células conjuntivais (COELHO et al., 2011; CHATZIS et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015a). Para minimizar os resultados falso-negativos recomenda-se fazer a PCR de múltiplos tecidos do animal suspeito (CHATZIS et al., 2014).

Um estudo demonstrou baixa sensibilidade dos métodos parasitológicos em comparação à PCR, em que amostras de sangue periférico, medula óssea, conjuntiva e pele de 100 gatos foram submetidas à avaliação citológica e à PCR, não sendo observadas formas amastigotas de *Leishmania* em nenhuma amostra avaliada. Já na PCR, encontrou-se uma prevalência geral de 41%, sendo considerado positivo o animal que fosse identificado DNA do parasito em qualquer amostra (CHATZIS et al., 2014).

Ainda não há uma padronização de técnicas para o diagnóstico da leishmaniose felina e, por essa razão, idealmente deve-se combinar o maior número de métodos disponíveis para se obter um diagnóstico mais acurado (SILVEIRA-NETO et al., 2015).

## 2.5. EPIDEMIOLOGIA DA LEISHMANIOSE FELINA NO BRASIL

Apesar do crescente número de trabalhos voltados para o estudo da leishmaniose felina, ainda há poucos estudos que foram desenvolvidos no Brasil, sendo que há ainda uma grande quantidade de locais onde não se sabe nada a respeito da incidência da doença nessa espécie. Estudos já foram realizados em todas as regiões brasileiras, mas a maioria se concentra nas regiões Sudeste e Centro-Oeste, e esporádicos trabalhos são encontrados nas demais regiões (SILVEIRA-NETO et al., 2015).

Métodos sorológicos, parasitológicos e moleculares foram utilizados para o diagnóstico nessas pesquisas. Investigações sorológicas observaram prevalências variando de 0 a 54% (COSTA et al., 2010; VIDES et al., 2011; CARDIA et al., 2013; BRAGA et al., 2014; BENASSI et al., 2017; COURA et al., 2018).. O método sorológico mais utilizado foi a RIFI, seguido do ELISA, e do teste de aglutinação direta (DAT), sendo apenas um trabalho realizado com esta última técnica. O ponto de corte de 1:40 é usualmente adotado para a RIFI em trabalhos realizados no país (SILVEIRA-NETO et al., 2015).

Alguns trabalhos utilizaram mais de uma técnica sorológica, na maioria deles fez-se a associação da RIFI com o ELISA, e pouca concordância foi encontrada entre as mesmas (ROSSI, 2007, VIDES et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; ALVES-MARTIN et al., 2017; MATOS et al., 2018). No entanto, o ELISA tem sido apontado como um teste mais sensível em comparação à RIFI e a dificuldade de padronização da técnica representa o maior empecilho para sua utilização (SILVEIRA-NETO et al., 2015). Os levantamentos soroepidemiológicos realizados no Brasil estão sumarizados na Tabela 2.

Tabela 2. Soroprevalência da infecção por *Leishmania infantum* em gatos provenientes de cidades brasileiras.

Cidade	Número de gatos	Método	Prevalência	Referência
Araçatuba, SP	200	RIFI e ELISA	RIFI: 0,5% ELISA: 3%	ROSSI, 2007
Rio de Janeiro, RJ	8	RIFI	25%	SILVA et al., 2008
Araçatuba, SP	283	RIFI	0%	BRESCIANI et al., 2010
Araçatuba, SP	200	ELISA	11,5%	COSTA et al., 2010
Araçatuba, SP	55	RIFI e ELISA	RIFI: 10,9% ELISA: 25,4%	VIDES et al., 2011
Araçatuba, SP	302	RIFI e ELISA	RIFI: 4,64% ELISA: 12,91%	SOBRINHO et al., 2012
Araçatuba, SP	386	RIFI	0,51%	CARDIA et al., 2013
Campo Grande, MS	50	RIFI	4%	BRAGA et al., 2014
Recife, PE	153	ELISA	3,9%	SILVA et al., 2014
Campo Grande, MS	151	RIFI	22,5%	SOUSA et al., 2014
Belém, PA	443	RIFI e DAT	RIFI: 4,06% DAT: 5,64%	OLIVEIRA et al., 2015b

Tabela 2. Soroprevalência da infecção por *Leishmania infantum* em gatos provenientes de cidades brasileiras (Continuação).

Cidade	Número de gatos	Método	Prevalência	Referência
Campo Grande, MS	110	RIFI	7,27%	NOÉ et al., 2015
Cascavel, PR	171	RIFI	3,5%	GODOI et al., 2016
Birigui, SP	109	RIFI	2,8%	BALDINI-PERUCA et al., 2017
Ilha Solteira, SP	55	RIFI, ELISA-SE e ELISA-K39	RIFI: 62,7% ELISA-SE: 72,5% ELISA-K39: 21,6%	ALVES-MARTIN et al., 2017
Teresina, PI	83	ELISA	4%	MENDONÇA et al., 2017
Araguaína, TO	84	RIFI	26,2%	SOUSA, 2017
Belo Horizonte, MG	100	RIFI	54%	COURA et al., 2018
Londrina e Telêmaco Borba, PR	627	ELISA e RIFI	RIFI: 15,8% ELISA: 43,4%	MATOS et al., 2018

DAT: teste de aglutinação direta; ELISA: ensaio de imunoadsorção enzimática; EPD: exame parasitológico direto; IMQ: imuno-histoquímica; PCR: reação em cadeia da polimerase; RIFI: reação de imunofluorescência indireta.

As pesquisas utilizando os métodos parasitológicos e moleculares apresentam-se em menor quantidade do que as que utilizam a sorologia, possivelmente devido à necessidade de coleta invasiva de determinados órgãos como medula óssea, baço e fígado, e pelos custos das técnicas moleculares. As prevalências encontradas por meio do exame parasitológico direto (EPD) variaram de 3,84 a 18,2%, utilizando amostras de linfonodo, medula óssea, baço e fígado, e quase a totalidade desses estudos foram realizados na cidade de Araçatuba, estado de São Paulo. Já as prevalências utilizando a PCR variaram de 0 a 59,55%, utilizando amostras de sangue, conjuntiva, medula óssea, linfonodo, baço e fígado. Os resultados desses trabalhos podem ser visualizados na Tabela 3 e na Tabela 4.

Tabela 3. Prevalência da infecção por *Leishmania infantum* por meio do exame parasitológico direto em gatos provenientes de cidades brasileiras.

Cidade	Número de gatos	Tecido	Prevalência	Referência
Araçatuba, SP	200	Linfonodo, medula óssea, baço e fígado	4%	ROSSI, 2007
Araçatuba, SP	200	Linfonodo, medula óssea, baço e fígado	4%	COSTA et al., 2010
Andradina, SP	52	Linfonodo, medula óssea e baço	3,84%	COELHO et al., 2011
Araçatuba, SP	55	Linfonodo, medula óssea, baço e fígado	18,2%	VIDES et al., 2011
Araçatuba, SP	302	Linfonodo e medula óssea	9,93%	SOBRINHO et al., 2012
Campo Grande, MS	100	Sangue, linfonodo e medula óssea	4%	METZDORF et al., 2017

Tabela 4. Prevalência da infecção por *Leishmania infantum* por meio de PCR em gatos provenientes de cidades brasileiras.

Cidade	Número de gatos	Tecido	Prevalência	Referência
Sobradinho, DF	89	Sangue	59,55%	MARONDIN, 2011
Pirassununga, SP	7	Conjuntiva	28,6%	OLIVEIRA et al., 2015b
Ilha Solteira, SP	45	Conjuntiva	11,1%	OLIVEIRA et al., 2015b
Pirassununga, SP	108	Conjuntiva	1,85%	BENASSI et al., 2017
Campo Grande, MS	100	Sangue, linfonodo e medula óssea	6%	METZDORF et al., 2017
Cuiabá, MT	88	Sangue	0%	POFFO et al., 2017
Birigui, SP	109	Sangue	15,6%	BALDINI-PERUCA et al., 2017
Ilha Solteira, SP	55	Sangue	9,1%	ALVES-MARTIN et al., 2017
Araguaína, TO	103	Sangue, linfonodo, medula óssea, baço e fígado	5,3%	SOUSA, 2017
Belo Horizonte	54	Medula óssea	0%	COURA et al., 2018

## 2.6. COINFECCÕES

Gatos com leishmaniose podem apresentar infecções concomitantes por outros patógenos, mas até o presente momento pouco se sabe acerca da relação da leishmaniose felina com outras doenças infecciosas. A infecção por *L. infantum* já foi relatada em gatos coinfectados com o vírus da leucemia felina (FeLV), vírus da imunodeficiência felina (FIV), coronavírus felino, *Mycoplasma* ssp., *Trypanosoma cruzi*, *Toxoplasma gondii* e/ou *Neospora caninum* (SHERRY et al., 2011; SOBRINHO et al., 2012; LONGONI et al., 2012; SOUSA et al., 2014; MARCONDES et al., 2018). Uma correlação já foi descrita entre a infecção por *L. infantum* e *N. caninum* e por *L. infantum* e *T. gondii* (SOUSA et al., 2014). No tocante às retrovírus, uma associação significativa entre a infecção por *L. infantum* e FIV foi encontrada em alguns trabalhos (SHERRY et al., 2011; AYLLON et al., 2012; SOBRINHO et al., 2012), e em apenas um estudo com FeLV (SHERRY et al., 2011). É sabido que no curso clínico das retrovírus felinas ocorre um quadro progressivo de imunossupressão devido a alterações na contagem de linfócitos CD4 e CD8, que predispõe os gatos a uma variedade de patógenos oportunistas (LACERDA et al., 2017). Nesse contexto, os gatos FIV-positivos poderiam representar um grupo de risco para a infecção por *L. infantum*, especialmente nas áreas endêmicas para a doença, assim como seres humanos infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) são sabidamente mais predispostos à leishmaniose (PAGLIANO E ESPOSITO, 2017). No entanto, ainda há a necessidade do desenvolvimento de estudos para esclarecer a associação entre a leishmaniose felina e a infecção retroviral (SHERRY et al., 2011).

### 3. OBJETIVOS

#### 3.1. OBJETIVO GERAL

Investigar a infecção por *Leishmania* spp. em gatos domésticos provenientes do município de Mossoró.

#### 3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Estimar a frequência de gatos infectados por *Leishmania* spp. na cidade de Mossoró utilizando métodos sorológicos e moleculares;
  
- Avaliar os fatores de risco e epidemiológicos associados à infecção por *Leishmania* spp. em gatos domésticos provenientes do município de Mossoró;
  
- Investigar a coinfeção de gatos por *Leishmania* spp., vírus da imunodeficiência felina e vírus da leucemia felina.

#### 4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALVES-MARTIN, M.F.; PAIXÃO, M.S.; SILVA, D.T.; TENÓRIO, M.S.; ALVES, M.L.; STARKE-BUZETTI, W.A.; PEREIRA, V.B.R.; LUCHEIS, S.B.. Detection of *Leishmania* spp. using parasitological, serological and molecular assays in asymptomatic and sick cats from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 7, n. 11, p. 659-664, 2017.

AMÓRA, S.S.A.; SANTOS, M.J.P.; ALVES, N.D.; COSTA, S.C.G.; CALABRESE, K.S.; MONTEIRO, A.J.; ROCHA, M.F.G. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1854-1859, 2006.

ANDRÉ, W.P.P.; FONSECA, Z.A.A.S.; RIBEIRO, W.L.C.; BESSA, É.N.; PAIVA, K.A.R.; MOURA, E.S.R.; COELHO, W.A.C.; PEREIRA, J.S. Análise dos casos de leishmaniose humana e sua relação com a eutanásia de animais recolhidos pelo centro de controle de zoonoses de Mossoró-RN. **Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal**, v. 7, n. 2, p. 212-224, 2013.

ANTUNES, T.R.; PEIXOTO, R.A.V.; OLIVEIRA, B.B.; SORGATTO, S.; RAMOS, C.A.N.; SOUZA, A.I. Detecção de *Leishmania infantum* em esfregaço de sangue periférico e linfonodo de um felino doméstico. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 44, p. 1-5, 2016.

ARENALES, A.; ECKSTEIN, C.; AZEVEDO, J.; REGINALDO, G.M.S.; LIMA, V.; ROZZA, D.B.; SANTOS, R.L. Granulomatous rhinitis in a case of feline leishmaniasis. **Brazilian Journal of Veterinary Pathology**, v. 11, n. 1, p. 7-11, 2018.

BALDINI-PERUCA, L.; LUCHEIS, S.; TOME, R.O.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; CORREA, A.P.F.L.; TRONCARELLI, M.Z.; SILVA, R.C.; LANGONI, H. Infecção por *Leishmania infantum* (syn. *chagasi*) em gatos provenientes de uma área endêmica para leishmaniose canina e humana, na região sudeste do Brasil. **Veterinária e Zootecnia**, v. 24, n. 1, p. 216-225, 2017.

BANETH, G.; KOUTINAS, A.F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniasis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 7, p. 324-330, 2008.

BARBOSA, I.R. Epidemiologia da leishmaniose visceral no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Revista de Epidemiologia e Controle de Infecção**, v. 3, n. 1, p. 17-21, 2013.

BENASSI, J.C.; BENVENGA, G.U.; FERREIRA, H.L.; PEREIRA, V.F.; KEID, L.B.; SOARES, R.; OLIVEIRA, T.M.F.S. Detection of *Leishmania infantum* DNA in conjunctival swabs of cats by quantitative real-time PCR. **Experimental Parasitology**, v. 77, p. 93-97, 2017.

BONFANTE-GARRIDO, R.; URDANETA, I.; URDANETA, R.; ALVARADO, J. Natural infection of cats with *Leishmania* in Barquisimeto, Venezuela. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, n. 1, p. 53, 1991.

BRAGA, A.R.; CORRÊA, A.P.; CAMOSSO, L.G.; SILVA, R.C.; LANGONI, H.; LUCHEIS, S.B. Coinfection by *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. in domestic cats (*Felis catus*) in State of Mato Grosso do Sul. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 6, p. 796-797, 2014.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2014.120p. Disponível em: <[http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual\\_vigilancia\\_controle\\_leishmaniose\\_viscer\\_al\\_1edicao.pdf](http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_viscer_al_1edicao.pdf)>. Acesso em: 03 fev. 2019.

BRESCIANI, K.D.S.; SERRANO, A.C.M.; MATOS, L.V.S.; SAVANI, E.S.M.M.; D'AURIA, S.R.N.; PERRI, S.H.V.; BONELLO, F.L.; COELHO, W.M.D.; AOKI, C.G.; COSTA, A.J. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 2, p. 127-129, 2010.

CAN, H.; DÖŞKAYA, M.; ÖZDEMİR, H.G.; ŞAHAR, E.A.; KARAKAVUK, M.; PEKTAŞ, B.; KARAKUŞ, M.; TÖZ, S.; CANER, A.; DÖŞKAYA, A.D.; İZ, S.G.; ÖZBEL, Y.; GÜRÜZ, Y. Seroprevalence of *Leishmania* infection and molecular detection of *Leishmania tropica* and *Leishmania infantum* in stray cats of İzmir, Turkey. **Experimental Parasitology**, v. 167, p. 109–114, 2016.

CARDIA, D.F.F.; CAMOSSO, L.G.; SILVEIRA-NETO L.; LANGONI, H.; BRESCIANI, K.D. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. Infection in cats from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 197, n. 3-4, p. 634-637, 2013.

CHATZIS, M.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; KOUTINAS, A.F. Feline leishmaniosis due to *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). **Journal Of The Hellenic Veterinary Medical Society**, v. 61, n. 4, p. 359-367, 2010.

CHATZIS, M.K.; ANDREADOU, M.; LEONTIDES, L.; KASABALIS, D.; MYLONAKIS, M.; KOUTINAS, A.F.; RALLIS, T.; IKONOMOPOULOS, J.; SARIDOMICHELAKIS, M.N. Cytological and molecular detection of *Leishmania infantum* in different tissues of clinically normal and sick cats. **Veterinary Parasitology**, v. 202, n. 3-4, p. 217-225, 2014.

COELHO, W.M.; LIMA, V.M.; AMARANTE, A.F.; LANGONI, H.; PEREIRA, V.B.; ABDELNOUR, A.; BRESCIANI, K.D. Occurrence of *Leishmania (Leishmania) chagasi* in a domestic cat (*Felis catus*) in Andradina, São Paulo, Brazil: case report. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 4, p. 256-258, 2010.

COELHO, W.M.D.; RICHINI-PEREIRA, V.B.; LANGONI, H.; BRESCIANI, K.D.S. Molecular detection of *Leishmania* sp. in cats (*Felis catus*) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 176, n. 2-3, p. 281–282, 2011.

COSTA, T.A.C.; ROSSI, C.N.; LAURENTI, M.D.; GOMES, A.A.D.; VIDES, J.P.; SOBRINHO, L.S.V.; MARCONDES, M. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 47, n. 3, p. 213-217, 2010.

COURA, F.M.; PASSOS, S.K.P.; PELEGRINO, M.O.F.; LEME, F.O.P.; PAZ, G.F.; GONTIJO, C.M.F.; COSTA-VAL, A.P.C. Serological, molecular, and microscopic detection of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 4, 2018.

DAHROUG, M.A.; ALMEIDA, A.B.; SOUSA, V.R.; DUTRA, V.; GUIMARÃES, L.D.; SOARES, C.E.; NAKAZATO, L.; SOUZA R.L. The first case report of *Leishmania (leishmania) chagasi* in *Panthera leo* in Brazil. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 1, n. 3, p. 249-250, 2011.

DAHROUG, M.A.; ALMEIDA, A.B.; SOUSA, V.R.; DUTRA, V.; TURBINO, N.C.; NAKAZATO, L.; SOUZA, R.L. *Leishmania (Leishmania) chagasi* in captive wild felids in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 104, n. 1, p. 73–74, 2010.

FIGUEIREDO, F.B.; GREMIÃO, I.D.; PEREIRA, S.A.; FEDULO, L.P.; MENEZES, R.C.; BALTHAZAR, D.A.; SCHUBACH, T.M.; MADEIRA, M.F. First report of natural infection of a bush dog (*Speothos venaticus*) with *Leishmania (Leishmania) chagasi* in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 2, p. 200–201, 2008.

FREITAS, E.; MELO, M.N.; COSTA-VAL, A.P.; MICHALICK, M.S. Transmission of *Leishmania infantum* via blood transfusion in dogs: potential for infection and importance of clinical factors. **Veterinary Parasitology**, v. 137, n. 1-2, p. 159-167, 2006.

GODOI, N.F.C.; BITTENCOURT, L.H.F.B.; ANDRADE, A.C.S.; PICOLOTTO, G.C.G.P.; MARCHAN, P.R.A.C. Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* em felinos domésticos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil. **Arquivos de Ciências Veterinárias e Zoologia da UNIPAR**, v. 19, n. 1, p. 11-16, 2016.

GREVOT, A.; JAUSSAUD HUGUES, P.; MARTY, P.; PRATLONG, F.; OZON, C.; HAAS, P.; BRETON, C.; BOURDOISEAU, G. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. **Parasite**, v. 12, n. 3, p. 271-275, 2005.

HUMBERG, R.M.; OSHIRO, E.T.; CRUZ, M.S.; RIBOLLA, P.E.; ALONSO, D.P.; FERREIRA, A.M.; BONAMIGO, R.A.; TASSO, N-JR.; OLIVEIRA, A.G. *Leishmania chagasi* in opossums (*Didelphis albiventris*) in an urban area endemic for visceral leishmaniasis, Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 87, n. 3, p. 470-472, 2012.

LACERDA, L.C.; SILVA, A.N.; FREITAS, J.S.; CRUZ, R.D.S.; SAID, R.A.; MUNHOZ, A.D. Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus: frequency and associated

factors in cats in northeastern Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v. 16, n. 2, p. 1-7, 2017.

LEITE, A.I.; ARAÚJO, L.B. Leishmaniose visceral: Aspectos epidemiológicos relacionados aos óbitos em Mossoró-RN. **Revista de Patologia Tropical**, v. 42, n. 3, p. 301-308, 2013.

LONGONI, S.S.; LÓPEZ-CESPEDES, A.; SÁNCHEZ-MORENO, M.; BOLIO-GONZALEZ, M.E.; SAURI-ARCEO, C.H.; RODRÍGUEZ-VIVAS, R.; MARÍN, C. Detection of different *Leishmania* spp. and *Trypanosoma cruzi* antibodies in cats from the Yucatan Peninsula (Mexico) using an iron superoxide dismutase excreted as antigen. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v. 35, n. 5, p. 469-476.

MADRUGA, G.; RIBEIRO, A.P.; RUIZ, T.; SOUSA, V.R.F.; CAMPOS, C.G.; ALMEIDA, A.B.P.F.; PESCADOR, C.A.; DUTRA, V. Ocular manifestations of leishmaniasis in a cat: first case report from Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 70, n. 5, p.1514-1520, 2018.

MAIA, C.; SOUSA, C.; RAMOS, C.; CRISTÓVÃO, J.M.; FAÍSCA, P.; CAMPINO, L. First case of feline leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* genotype E in a cat with a concurrent nasal squamous cell carcinoma. **Journal of Feline Medicine and Surgery Open Reports**, v. 1, n. 2, p. 1-5, 2015.

MAIA-ELKHOURY, A.N.S.; ALVES, W.A.; SOUSA-GOMES, M.L.; SENA, J.M.; LUNA, E.A. Visceral Leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 24, n. 12, p. 2941-2947, 2008.

MARCONDES, M.; HIRATA, K.Y.; VIDES, J.P.; SOBRINHO, L.S.V.; AZEVEDO, J.S.; VIEIRA, T.S.W.J.; VIEIRA, R.F.C. Infection by *Mycoplasma* spp., feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus in cats from an area endemic for visceral leishmaniasis. **Parasites & Vectors**, v. 131, p. 1-8, 2018

MARODIN, N.B. Estudo da avaliação laboratorial e ocorrência da infecção pela *Leishmania* spp nos felinos domésticos de uma região periurbana do Distrito Federal. Dissertação de mestrado. Universidade de Brasília, Brasília, DF, 2011.

MAROLI, M.; PENNISI, M.G.; DI MUCCIO, T.; KHOURY, C.; GRADONI, L.; GRAMICCIA, M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. **Veterinary Parasitology**, v. 145, n. 3-4, p. 357-360, 2007.

MATOS, A.M.R.N.; CALDART, E.T.; FERREIRA, F.P.; MONTEIRO, K.C.; SOUZA, M.; BRUNIERI, D.T.S.C.; HILST, C.L.S.; MASCARENHAS, N.M.F.; MITSUKA-BREGANÓ, R.; FREIRE, R.L.; NAVARRO, I.T. Antibodies anti-trypanosomatides in domestic cats in Paraná: who is at highest risk of infection? **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 27, n. 2, p. 232-236, 2018.

MENDONÇA, I.L.; BATISTA, J.F.; RIBEIRO, I.M.M.; ROCHA, F.S.B.; SILVA, S.O.; MELO, M.N. *Leishmania infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. **Parasitology Open**, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2017.

METZDORF, I.P.; LIMA-JUNIOR, M.S.C.; MATOS, M.F.C.; SOUZA-FILHO, A.F.; TSUJISAKI, R.A.S.; FRANCO, K.G.; SHAPIRO, J.T.; BORGES, F.A. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121-125, 2017.

METZDORF, I.P.; LIMA-JUNIOR, M.S.C.; MATOS, M.F.C.; SOUZA-FILHO, A.F.; TSUJISAKI, R.A.S.; FRANCO, K.G.; SHAPIRO, J.T.; BORGES, F.A. Molecular characterization of *Leishmania infantum* in domestic cats in a region of Brazil endemic for human and canine visceral leishmaniasis. **Acta Tropica**, v. 166, p. 121-125, 2017.

MOLINA, R.; JIMÉNEZ, M.I.; CRUZ, I.; IRISO, A.; MARTÍN-MARTÍN, I.; SEVILLANO, O.; MELERO, S.; BERNAL, J. The hare (*Lepus granatensis*) as potential sylvatic reservoir of *Leishmania infantum* in Spain. **Veterinary Parasitology**, v. 190, n. 1-2, p. 268-71, 2012.

MORENO, I.; ÁLVAREZ, J.; GARCÍA, N.; DE LA FUENTE, S.; MARTÍNEZ, I.; MARIÑO, E.; TORAÑO, A.; GOYACHE, J.; VILAS, F.; DOMÍNGUEZ, L.; DOMÍNGUEZ, M. Detection of anti-*Leishmania infantum* antibodies in sylvatic lagomorphs from an epidemic area of Madrid using the indirect immunofluorescence antibody test. **Veterinary Parasitology**, v. 199, n. 3-4, p. 264-267, 2014.

- NAUCKE, T.J.; AMELUNG, S.; LORENTZ, S. First report of transmission of canine leishmaniosis through bite wounds from a naturally infected dog in Germany. **Parasites & Vectors**, v. 256, p. 1-4, 2016.
- NOÉ, P.; DOMINGOS, S.L.; OSHIRO, E.T.; LIMA, R.B.; PIRMEZ, C.; PEDROSO, T.C.; BABO-TERRA, V.J. Detection of *Leishmania chagasi* in cats (*Felis catus*) from viscera leishmaniasis endemic area in Brazil. **Ciência Animal**, v. 25, n. 4, p. 03-14, 2015.
- OLIVEIRA, G.C.; PAIZ, L.M.; MENOZZI, B.D.; LIMA, M.S.; MORAES, C.C.G.M.; LANGONI, H. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 4, p. 464-470, 2015b.
- OLIVEIRA, T.M.F.S.; PEREIRA, V.F.; BENVENGA, G.U.; MARTIN, M.F.A.; BENASSI, J.C.; SILVA, D.T.; STARKE-BUZETTI, W.A. Conjunctival swab PCR to detect *Leishmania* spp. in cats. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 24, n. 2, p. 220-222, 2015a.
- PAGLIANO, P.; ESPOSITO, S. Visceral leishmaniosis in immunocompromised host: an update and literature review. **Journal of Chemotherapy**, ahead of publication, 2017.
- PAŞA, S.; TETİK VARDARLI, A.; EROL, N.; KARAKUŞ, M.; TÖZ, S.; ATASOY, A.; BALCIOĞLU, İ.C.; EMEK TUNA, G.; ERMIŞ, Ö.V.; ERTABAKLAR, H.; ÖZBEL, Y. Detection of *Leishmania major* and *Leishmania tropica* in domestic cats in the Ege Region of Turkey. **Veterinary Parasitology**, v. 212, n. 3-4, p. 389–392, 2015.
- PENNISI, M.G.; CARDOSO, L.; BANETH, G.; BOURDEAU, P.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; OLIVA, G.; SOLANO-GALLEGO, L. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 302, p. 1-18, 2015.
- PENNISI, M.G.; PERSICHETTI, M.F. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? **Veterinary Parasitology**, v. 251, p. 131-137, 2018.
- PEREIRA, A.; CRISTÓVÃO, J.M.; VILHENA, H.; MARTINS, Â.; CACHOLA P.; HENRIQUES, J.; COIMBRA, M.; CATARINO, A.; LESTINOVA, T.; SPITZOVA, T.; VOLF, P.; CAMPINO, L.; MAIA, C. Antibody response to *Phlebotomus perniciosus* saliva in cats naturally exposed to phlebotomine sand flies is positively associated with *Leishmania* infection. **Parasites & Vectors**, 12(1):128, 2019.

POCHOLLE, E.; REYES-GOMEZ, E.; GIACOMO, A.; DELAUNAY, P.; HASSEINE, L.; MARTY, P. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. **Parasite**, v. 19, n. 1, p. 77-80, 2012.

POFFO, D.; ALMEIDA, A.B.P.F.; NAKAZATO, L.; DUTRA, V.; CORREA, S.H.R.; MENDONÇA, A.J.; SOUSA, V.R.F. Feline immunodeficiency virus (FIV), feline leukaemia virus (FeLV) and *Leishmania* sp. in domestic cats in the Midwest of Brazil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 37, n. 5, p. 491-494, 2017.

ROSSI, C.N. Ocorrência de *Leishmania* sp. em gatos do município de Araçatuba – São Paulo – Brasil. **Dissertação de mestrado**. Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Unesp, Araçatuba, SP, 2007.

ROSYPAL, A.C.; TROY, G.C.; ZAJAC, A.M.; FRANK, G.; LINDSAY, D.S. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. **The Journal of Parasitology**, v. 91, n. 4, p. 970-972, 2005.

SANTOS, C.M.; TONIAL, A.L.; DUARTE, V.R.; FAVACHO, A.R.M.; FERREIRA, E.C.; AQUINO, D.R.R.R.A. Análise citológica para diagnóstico de leishmaniose em um gato oligossintomático em área endêmica, Campo Grande, MS, Brasil. **Brazilian Journal of Animal and Environmental Research**, v. 1, n. 1, p. 59-71, 2018.

SARIDOMICHELAKIS, M.N.; MYLONAKIS, M.E.; LEONTIDES, L.S.; KOUTINAS, A.F.; BILLINIS, C.; KONTOS, V.I. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 73, n. 1, p. 82-86, 2005.

SAVANI, E.S.; CAMARGO, M.C.O.; CARVALHO, M.R.; ZAMPIERI, R.A.; SANTOS, M.G.; D'AURIA, S.R.; SHAW, J.J.; FLOETER-WINTER, L.M. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 120, n. 3, p. 229-233, 2004.

SCHUBACH, T.M.; FIGUEIREDO, F.B.; PEREIRA, S.A.; MADEIRA, M.F.; SANTOS, I.B.; ANDRADE, M.V.; CUZZI, T.; MARZOCHI, M.C.; SCHUBACH, A. American

cutaneous leishmaniasis in two cats from Rio de Janeiro, Brazil: first report of natural infection with *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 98, n. 3, p. 165-167, 2004.

SHERRY, K.; MIRÓ, G.; TROTTA, M.; MIRANDA, C.; MONTOYA, A.; ESPINOSA, C.; RIBAS, F.; FURLANELLO, T.; SOLANO-GALLEGO, L. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector-Borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, n. 3, p. 239-245, 2011.

SILVA, A.V.M.; CÂNDIDO, C.D.S.; PEREIRA, D.P.; BRAZIL, R.P.; CARREIRA, J.C.A. The first record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, n. 105, p. 92-94, 2008.

SILVA, F.L.; OLIVEIRA, R.G.; SILVA, T.M.; XAVIER, M.N.; NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 160, n. 1-2, p. 55-59, 2009.

SILVA, R.C.; RAMOS, R.A.; PIMENTEL, D.S.; OLIVEIRA, G.M.; CARVALHO, G.A.; SANTANA, M.A.; FAUSTINO, M.A.; ALVES, L.C. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the state of Pernambuco, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, n. 1, p. 108-109, 2014.

SILVA, S.M.; RABELO, P.F.; GONTIJO, N.F.; RIBEIRO, R.R.; MELO, M.N.; RIBEIRO, V.M.; MICHALICK, M.S. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.174, p. 150-154, 2010.

SILVEIRA-NETO, L.; MARCONDES, M.; BILSLAND, E.; MATOS, L.V.S.; VIOL, M.A.; BRESCIANI, K.D.S. Clinical and epidemiological aspects of feline leishmaniasis in Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 36, n. 3, p. 1467-1480, 2015.

SOARES, C.S.; DUARTE, S.C.; SOUSA, S.R. What do we know about feline leishmaniasis? **Journal of Feline Medicine and Surgery**, v. 18, n. 6, p. 435-442, 2016.

SOBRINHO, L.S.V.; ROSSI, C.N.; VIDES, J.P.; BRAGA, E.T.; GOMES, A.A.; DE LIMA V.M.; PERRI, S.H.V.; DIEGO GENEROSO, D.; LANGONI, H.; LEUTENEGGER, C.;

BIONDO, A.W.; LAURENTI, M.D.; MARCONDES, M. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 187, n.1-2, p. 302-306, 2012.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites & Vectors**, v. 86, n. 4, p. 1-17, 2011.

SOUSA, K.C.M.; HERRERA, H.M.; DOMINGOS, I.H.; CAMPOS, J.B.V.; SANTOS, I.M.C.; NEVES, H.H.; MACHADO, R.Z.; ANDRÉ, M.R. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, n. 4, p. 449-455, 2014.

SOUSA, S.A.P. Diagnóstico de leishmaniose em *Felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil. **Tese de doutorado**. Universidade Federal de Goiás, Goiânia, GO, 2017.

SOUZA, A.I.; BARROS, E.M.; ISHIKAWA, E.; ILHA, I.M.; MARIN, G.R.; NUNES, V.L. Feline leishmaniasis due to *Leishmania (Leishmania) amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 128, p. 41-45, 2005.

TRAINOR, K.E.; PORTER, B.F.; LOGAN, K.S.; HOFFMAN, R.J.; SNOWDEN, K.F. Eight cases of feline cutaneous leishmaniasis in Texas. **Veterinary Pathology**, v. 47, n. 6, p. 1076–1081, 2010.

TORRES-GUERRERO, E.; QUINTANILLA-CEDILLO, M.R.; RUIZ-ESMENJAUD, J.; ARENAS, R. Leishmaniasis: a review. **F1000Research**, v. 6, p. 1-15, 2017.

VIDES, J.P.; SCHWARDT, T.F.; SOBRINHO, L.V.S.; MARINHO, M.; LAURENTI, M.D.; BIONDO, A.W.; LEUTENEGGER, C.; MARCONDES, M. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniosis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 178, p. 22–28, 2011.

## **5. CAPÍTULO 1 - Serological and molecular investigation of *Leishmania* spp. infection in cats from an area endemic for canine and human leishmaniosis in Northeast Brazil**

José Artur Brilhante Bezerra<sup>1</sup>, Ilanna Vanessa Pristo de Medeiros Oliveira<sup>1</sup>, Ana Carolina Yamakawa<sup>2</sup>, Mariana Guimarães Nilsson<sup>2</sup>, Klívio Loreno Raulino Tomaz<sup>1</sup>, Kalyne Danielly Silva de Oliveira<sup>1</sup>, Célio Souza da Rocha<sup>1</sup>, Cecília Irene Perez Calabuig<sup>1</sup>, Felipe Fornazari<sup>2</sup>, Helio Langoni<sup>2</sup>, João Marcelo Azevedo de Paula Antunes<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal Rural do Semi-Árido, campus de Mossoró, RN, Brasil

<sup>2</sup> Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO), Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus de Botucatu, SP, Brasil

\*Corresponding author: João Marcelo Azevedo de Paula Antunes. Hospital Veterinário. Universidade Federal Rural do Semi-Árido – UFERSA, Av. Francisco Mota, 572 - Bairro Costa e Silva, CEP 59625-900, Mossoró, RN, Brasil. E-mail: joao.antunes@ufersa.edu.br

## **Serological and molecular investigation of *Leishmania* spp. infection in cats from an area endemic for canine and human leishmaniosis in Northeast Brazil**

Investigação sorológica e molecular da infecção por *Leishmania* spp. em gatos provenientes de uma área endêmica para leishmaniose canina e humana no nordeste brasileiro

### **Abstract**

The aim of this study was to investigate the occurrence of *Leishmania* spp. infection in domestic cats from an area endemic for canine and human leishmaniosis in Rio Grande do Norte State, Brazil. Ninety-one cats were subjected to a complete clinical exam, and blood samples were collected. An epidemiological questionnaire was used to investigate the risk factors. IgG anti-*Leishmania* spp. antibodies were detected by immunofluorescence antibody test (IFAT), with a cut-off value of 1:40. Polymerase chain reaction (PCR) was performed to detect genetic material of *Leishmania* spp. in the blood samples. The presence of antibodies against feline immunodeficiency virus (FIV) and antigens of feline leukemia virus (FeLV) was evaluated using an immunochromatographic test. Seropositivity for *Leishmania* spp., FIV, and FeLV was observed in 14 (15.38%), 26 (28.57%), and 3 (3.29%) cats, respectively. All samples gave negative results on PCR analysis. No statistical association was observed between seropositivity for *Leishmania* spp., and sex, age, presence of clinical signs, evaluated risk factors, and positivity for retrovirogenesis. These findings demonstrated for the first time that cats from the studied region were being exposed to this zoonosis and might be part of the epidemiological chain of transmission of visceral leishmaniosis.

Keywords: leishmaniosis; *Felis catus*; zoonosis; epidemiology; IFAT.

### **Resumo**

O objetivo do presente estudo foi investigar a ocorrência da infecção por *Leishmania* spp. em felinos domésticos provenientes de uma cidade endêmica no estado do Rio Grande do Norte para a leishmaniose visceral canina e humana. Noventa e um gatos foram submetidos a exame

clínico completo e amostras de sangue foram coletadas. Um questionário epidemiológico foi para investigar fatores de risco. Anticorpos IgG anti-*Leishmania* spp. foram identificados por meio da imunofluorescência indireta (RIFI), adotando-se como ponto de corte a diluição de 1:40. A reação em cadeia da polimerase (PCR) foi executada visando detectar o material genético de *Leishmania* spp. a partir de amostras de sangue total. Para avaliar a presença de anticorpos contra o vírus da imunodeficiência felina (FIV) e antígenos do vírus da leucemia felina (FeLV) foi utilizado um teste imunocromatográfico. Observou-se soropositividade em 14 (15,38%), 26 (28,57%) e 3 (3,29%) animais para *Leishmania* spp., FIV e FeLV, respectivamente. Nenhuma amostra foi positiva na PCR. Não foi observada nenhuma associação estatística entre a soropositividade para *Leishmania* spp. e gênero, idade, presença de sinais clínicos, fatores de risco avaliados e positividade para as retrovírus. Esses achados demonstram pela primeira vez que os felinos da região estudada estão sendo expostos a esta zoonose, podendo estar participando de forma importante da cadeia epidemiológica de transmissão da leishmaniose visceral.

Palavras-chave: leishmaniose; *Felis catus*; zoonose; epidemiologia; RIFI.

## **Introduction**

Feline leishmaniosis (FeL), which is mainly caused by *Leishmania infantum*, is considered to be an emerging disease (PENNISI & PERSICHETTI, 2018). In the last two decades, there has been a considerable increase in epidemiological studies and reports of FeL, especially in areas endemic for canine and human leishmaniosis (PENNISI et al., 2015). However, there is limited knowledge about its immunological and pathophysiological aspects, making the diagnosis challenging (SILVEIRA-NETO et al., 2015).

FeL has some particularities compared to dogs. Cats are considered to be more resistant to *Leishmania* infection, remaining asymptomatic, with parasitemia, even 16 weeks after *L. infantum* inoculation at a dose that usually results in clinical disease in dogs (AKHTARDANESH et al., 2018). Experimentally infected cats are capable of transmitting the protozoan to sand flies (MAROLI et al., 2007; SILVA et al., 2010). Nevertheless, studies are not consistent in affirming the precise role of cats in the epidemiology of this disease under natural conditions (PENNISI & PERSICHETTI, 2018).

In Brazil, studies on FeL using serological, parasitological, and molecular methods revealed that infection frequencies varied from 0% to 54% (BRESCIANI et al., 2010; VIDES et al., 2011; CARDIA et al., 2013; BRAGA et al., 2014; SILVA et al., 2014; SOUSA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015; GODOI et al., 2016; MENDONÇA et al., 2017; COURA et al., 2018; MATOS et al., 2018). Only a small fraction of these studies was performed in the Northeast region that was home to 82.5% of all reported cases of human leishmaniosis in Brazil between 1980 and 2005, making this region an area of epidemiological relevance for this disease in Brazil (MAIA-ELKHOURY et al., 2008; SILVA et al., 2014; MENDONÇA et al., 2017). Because of the high prevalence of leishmaniosis in Northeast Brazil and due to the lack of scientific data about FeL in Rio Grande do Norte State, the aim of this study was to investigate *Leishmania* spp. infection using serological and molecular methods in domestic cats in Mossoró city—a region that is endemic for human and canine leishmaniosis.

## Material and Methods

The study was performed from August 2017 to September 2018. The Ethics Committee on Animals' Use (CEUA) of the Universidade Federal Rural do Semi-Árido (UFERSA) approved the experimental protocols and the procedures used for animal care (Process n° 23091.008147/2017-28).

Cats older than 6 months in age (n = 91) treated at Hospital Veterinário Jerônimo Dix-Huit Rosado Maia from UFERSA were selected (Mossoró, RN, Brazil, 5°100'S, 37°100'W) for this study. The cats were clinically examined, and data related to each animal and its clinical status were noted. Blood samples (5 mL) were collected by jugular venipuncture. Whole blood and serum samples were stored at -20°C prior to performing serological and molecular tests at the Núcleo de Pesquisas em Zoonoses (NUPEZO), Departamento de Higiene Veterinária e Saúde Pública da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP, Campus of Botucatu, SP, Brazil.

Epidemiological questionnaires were used to identify risk factors related to *Leishmania* infection. The variables analyzed and the respective categories were as follows: sex, age (young, older than 6 months, but lesser than 1 year in age; adult, older than 1 year, but lesser than 8 years in age; senior, older than 8 years), access to streets (yes or no), contact with dogs

(yes or no), living near water sources (yes or no), health status (healthy or sick), vaccination (yes or no), deworming (yes or no), and castration (yes or no). Specific clinical signs were selected to evaluate the association with FeL—cutaneous signs, lymphadenomegaly, ophthalmic signs, gingivostomatitis, weight loss, and pale mucosa.

IgG anti-FIV antibodies and p27 FeLV antigen were investigated using a rapid immunochromatographic test (Alere S.A.). The test was performed as per manufacturers' recommendations, using serum samples.

IgG anti-*Leishmania* spp. antibodies were detected by immunofluorescence antibody test (IFAT), according to the method described by Camargo (1974). Immunofluorescence slides were sensitized with *Leishmania major* promastigotes obtained from cultures maintained in liver infusion tryptose (LIT) and Neal, Novy, Nicolle (NNN) media. Positive and negative controls were used for all slides. Serial serum dilutions of 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, and 1:640 were prepared in phosphate buffered saline (PBS, pH 7.2), and a dilution of 1:40 was adopted as the cut-off value. A commercial anti-IgG antibody specific to cats, conjugated with the fluorescein isothiocyanate (Sigma-Aldrich), was used as a secondary antibody. Slides were examined using a fluorescence microscope at magnification of 40× (ZEISS). After checking the control slides, the highest dilution of the serum for which complete fluorescence occurred at the border of at least 50% of the promastigotes was considered.

DNA extraction from blood samples was performed using Illustra™ blood GenomicPrep Mini Spin kit (GE Healthcare), following manufacturers' recommendations. Extracted samples were stored in DNase- and RNase-free micro tubes at -20°C prior to PCR.

Primers 150150, 5'-GGG(G/T)AGGGGCGTTCT(C/G)CGAA-3', and 152, 5'-(C/G)(C/G)(C/G)(A/T)CTAT(A/T)TTACACCAACCCC-3', were used as described by Valpini *et al.* (2004). All reactions were performed using GoTaq® Green Master Mix (Promega Corporation), following manufacturers' recommendations.

The amplification steps were carried out in a thermal cycler (Mastercycler pro, Eppendorf) as follows: initial denaturation at 95°C for 5 min, followed by 29 cycles at 95°C for 1 min, 55°C for 30 s, and 72°C for 10 s, and final extension of 72°C for 5 min. After electrophoresis, the result was visualized at an ultraviolet transilluminator. The amplified

products had an expected molecular weight of 120 bp; this corresponded to the molecular weight of the *Leishmania* minicircle kinetoplast DNA (kDNA).

For statistical analysis, contingency tables were prepared to identify the differences in infected animal proportions with respect to each variable assessed. Chi-square test was used to compare proportion of infected animals with respect to the risk factors, using a significance value of  $p < 0.05$ . To perform these analyses, the software IBM SPSS Statistics Version 22 was used.

## Results

Of the 91 cats studied, 51 (56%) were male, and 40 (44%) were female. All animals were crossbred. Using IFAT, IgG anti-*Leishmania* spp. antibodies were observed in 14 (15.38%), with titers varying from 1:40 to 1:320 (Table 1). None of the cats were found to be positive for *Leishmania* infection using blood PCR. With respect to retrovirus infection, 26 (28.57%) cats tested positive for FIV and 3 (3.29%) cats tested positive for FeLV.

Table 1. Distribution of IFAT titers (IgG) for *Leishmania* spp. in domestic cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil (n = 91)

	Number of positive cats	Titer	(%)
	7	1:40	7.69
	5	1:80	5.49
<i>Leishmania</i> spp.	1	1:160	1.09
	1	1:320	1.09

No statistical association was observed between seropositivity for *Leishmania* spp., and sex, age, presence of specific clinical signs, and evaluated risk factors. An association with retroviral infection was not observed, and only five cats had coinfection of *Leishmania*

spp. and FIV ( $p = 0.052$ ). Of these coinfecting animals, two presented a titer of 1:40, two had a titer of 1:80, and one had titer of 1:160. Clinical data for cats seropositive for *Leishmania* spp. are shown in Table 2, Figure 1, and Figure 2. No coinfection between *Leishmania* spp. and FeLV was found.

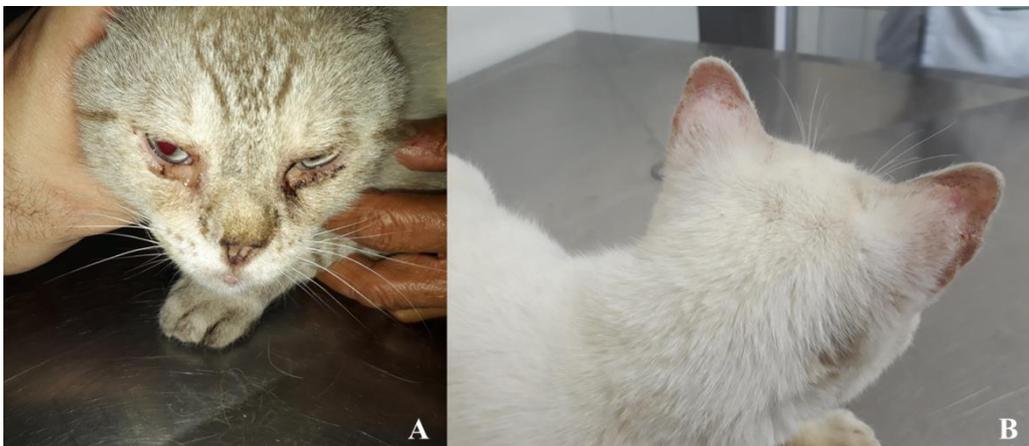


Figure 1. Clinical manifestations of *Leishmania* spp. seropositive cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil. A: Animal #48 (Male, 3-year-old, FIV-negative, IFAT titer of 1:40) with bilateral blepharitis. B. Animal #56 (Male, 8-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:160) with alopecia on ear borders associated with erythema and desquamation.

Table 2. Clinical manifestations of domestic cats seropositive for *Leishmania* spp. on IFAT from Mossoró city (n = 14)

<b>Animal</b>	<b>Age (years)</b>	<b>Sex</b>	<b>IFAT titer</b>	<b>FIV-status</b>	<b>Clinical signs</b>
#2	7	F	1:80	N	Asymptomatic
#27	10	M	1:80	P	Gingivostomatitis
#40	12	M	1:80	P	Bronchopneumonia, gingivostomatitis, lymphadenomegaly
#43	9	F	1:40	P	Squamous cell carcinoma in nasal and palpebral border, chronic rhinitis
#48	3	M	1:40	N	Bilateral blepharitis
#51	1	F	1:320	N	Ulcerated plaque lesions with difficult healing, lymphadenomegaly
#55	2	M	1:80	N	Chronic kidney disease
#56	8	M	1:160	P	Alopecia, erythema and desquamation in ear borders, chronic kidney disease
#72	3	M	1:40	N	Cutaneous abscess
#73	6	M	1:40	P	Gingivostomatitis
#80	11	M	1:80	N	Bronchopneumonia
#85	3	F	1:40	N	Asymptomatic
#86	9	F	1:40	N	Asymptomatic
#91	10	F	1:40	N	Asymptomatic



Figure 2. Clinical manifestations of *Leishmania* spp. seropositive cats from Mossoró city, Rio Grande do Norte State, Brazil. A: Animal #27 (Male, 10-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:80) presenting chronic gingivostomatitis. B: Animal #43 (Female, 9-year-old, FIV-positive, IFAT titer of 1:40) with a squamous cell carcinoma ulcerative lesion involving nasal and palpebral borders. C: Animal #51 (Female, 1-year-old, FIV-negative, IFAT titer of 1:320). Ulcerative lesions in plaque located in calcaneal region, with 5 months of evolution time and difficult healing.

## Discussion

Several studies have reported *Leishmania* infection in cats in regions endemic for canine and human leishmaniosis (VIDES et al., 2011; SHERRY et al., 2011; CHATZIS et al., 2014; PENNISI et al., 2015; SPADA et al., 2016). In the present study, the occurrence of antibodies against *Leishmania* spp. was observed in 15.38% of the cats evaluated from Mossoró—a city endemic for this disease (AMÓRA et al., 2006; BARBOSA, 2013). To the best of our knowledge, this is the first study to report FeL in Rio Grande do Norte State.

The seropositivity here observed was lower than that found in a study with dogs from Mossoró. Using IFAT and ELISA, these authors found frequencies of *Leishmania* spp. seropositivity of 34% and 45% for dogs living in urban and rural zones, respectively (AMÓRA et al., 2006). The lower titer of antibodies against *Leishmania* spp. in cats compared to dogs has been shown by other research groups (SOLLANO-GALEGO et al., 2007; BRESCIANI et al., 2010; SOBRINHO et al., 2012; CARDIA et al., 2013), and this can be attributed to the natural resistance of the cats against the protozoan, due to a more effective cellular immune response (SOLLANO-GALEGO et al., 2007). Moreover, the use of different methodologies and non-standardized protocols could also be responsible for these frequencies (SOLLANO-GALLEGO et al., 2011).

In dogs with leishmaniosis, coinfections with other pathogens such as *Ehrlichia canis* and *Dirofilaria immitis* can interfere with the parasite burden and affect disease progression because of the alterations in the immune response (TABAR et al., 2013; TOMMASI et al., 2013). In cats, the majority of leishmaniosis coinfections investigations are related to retroviruses, which cause immunosuppressive diseases (PENNISI & PERSICHETTI, 2018). However, only a few studies have found a significant association between *Leishmania* spp. seropositivity and FIV (PENNISI et al., 1998; AYLLÓN et al., 2012; SOBRINHO et al., 2012; SPADA et al., 2013) and FeLV infection (SHERRY et al., 2011).

During the course of feline retroviral infections, there is progressive immunosuppression due to the changes in the CD4 and CD8 lymphocyte count, which predisposes the animal to a variety of opportunistic pathogens (LACERDA et al., 2017). In this context, FIV-positive cats can represent a risk to *Leishmania* spp. infection, as humans infected by the human immunodeficiency virus (HIV) are known to be predisposed to

leishmaniosis (PAGLIANO & ESPOSITO, 2017). In this study, in spite of the fact that no statistically significant association was found between FeL and FIV, five (37.5%) of the 14 cats seropositive for leishmaniosis presented coinfection with FIV and showed clinical signs suggestive of FeL (PENNISI et al., 2015). Further case-control studies are needed to assess the dynamics of these two contagious diseases in the evaluated region.

Very few studies were performed to investigate FeL in Northeast Brazil. The FeL seropositivity here was higher than that observed in Recife and Teresina, where 3.9% and 4% of the cats were found to be seropositive for FeL using ELISA (SILVA et al., 2014; MENDONÇA et al., 2017). Sero-epidemiological investigations in other regions of the country found frequencies varying from 0.5% to 54%, using IFAT and the same cut-off value adopted here (1:40) (VIDES et al., 2011; CARDIA et al., 2013; BRAGA et al., 2014; SOUSA et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015; GODOI et al., 2016; COURA et al., 2018; MATOS et al., 2018). In canine leishmaniosis, high serological titers, i.e., four times the established cut-off value, allows confirmation of the diagnosis (SOLLANO-GALEGO et al., 2011). Combining this information with the results obtained in the present study, cats with IFAT titers equal to or above 1:160 could have the diagnosis of FeL confirmed.

The serological methods used to diagnose FeL are still the main tools for epidemiological studies and for investigation of the infection because of the low costs, good sensibility, and ease of obtaining blood samples from animals (SILVEIRA-NETO et al., 2015). IFAT is the most widely used method and was implemented in this study. Nevertheless, ELISA seems to have higher sensitivity (SILVEIRA-NETO et al., 2011; COELHO et al., 2012). This difference between the sensitivity of the methods and frequency of positive animals can be explained by the lack of studies on the standardization of diagnosis methods, associated with the little understanding of FeL immunology and pathophysiology, making the identification of infected animals a challenge (SPADA et al., 2013; SILVEIRA-NETO et al., 2015).

The molecular study of *Leishmania* spp. using PCR from blood samples did not give positive results for any of the animals. Similar results were observed by other authors, i.e., seropositive cats testing negative on PCR (BRAGA et al., 2014; CHATZIS et al., 2014; NOÉ et al., 2015; MONTOYA et al., 2018; COURA et al., 2018). This finding could be explained by the capability of the protozoan to compartmentalize in determined lymphoid organs such

as bone marrow, lymph nodes, and spleen, by the absence of parasitemia at the moment of the blood collection, or because of a parasite burden lower than that of the detection limit of the test used (CHATZIS et al., 2014; COURA et al., 2018). Another hypothesis for the presence of seropositive animals with negative PCR result could be related to the possibility of cross-reactions with antibodies against other parasites, especially other species of *Leishmania* and *Trypanosoma* (ZANETTE et al., 2014; SILVEIRA-NETO et al., 2015; SOARES et al., 2016).

The majority of cats seropositive for *Leishmania* spp. in this study presented clinical signs that were described for FeL, including lymphadenomegaly, gingivostomatitis, and cutaneous and mucocutaneous lesions such as crusts and ulcers (PENNISI et al., 2015; PENNISI & PERSICHETTI, 2018). It is important to highlight the fact that the cats with the highest IFAT titers (1:160 and 1:320) presented cutaneous signs. Another important finding was a concurrent squamous cell carcinoma in a seropositive feline. Some studies have suggested a synergism between FeL and this neoplasia (GREVOT et al., 2005; POCHOLE et al., 2012; MAIA et al., 2015; SOARES et al., 2015).

The evidences are still insufficient to determine the real role of the cats in the epidemiological chain of leishmaniosis transmission (PENNISI & PERSICHETTI, 2018). It is believed that cats can act as a secondary reservoir for *Leishmania* spp. Under natural conditions, however, in the absence of the primary reservoir, cats alone would not be capable of transmitting the infection to sand flies (PENNISI et al., 2015). However, it has been suggested that hares and not dogs served as reservoirs of leishmaniosis during an outbreak of human leishmaniosis in Spain (MOLINA et al., 2012; MORENO et al., 2014). Therefore, as the population of domestic and stray cats is bigger than the dog population in some endemic areas, cats could have an important role in leishmaniosis transmission in these locations (PENNISI et al., 2015).

## **Conclusions**

The association of cats with leishmaniosis was tested by seropositivity, suggesting that these animals might represent an important link in the epidemiological chain of leishmaniosis transmission in the studied region. As this disease has a great impact on public health, further

studies should be performed to investigate the clinical, pathophysiological, and epidemiological aspects of this infection in domestic cats.

## References

- Akhtardanesh B, Kheirandish R, Sharifi I, Mohammadi A, Mostafavi A, Mahmoodi T, et al.. Low susceptibility of domestic cats to experimental *Leishmania infantum* infection. *J Vector Borne Dis* 2018; 55(3):230-234.
- Amóra SSA, Santos MJP, Alves ND, Costa SCG, Calabrese KS, Monteiro AJ, et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Cienc Rural* 2006; 36(6):1854-1859.
- Ayllón T, Diniz PP, Breitschwerdt EB, Villaescusa A, Rodríguez-Franco F, Sainz A. Vector-borne diseases in client-owned and stray cats from Madrid, Spain. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2012; 12(2):143-50.
- Barbosa IR. Epidemiologia da leishmaniose visceral no estado do Rio Grande do Norte, Brasil. *Rev Epidemiol Control Infect* 2013;3(1):17-21.
- Braga AR, Corrêa AP, Camossi LG, Silva RC, Langoni H, Lucheis SB. Coinfection by *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. in domestic cats (*Felis catus*) in State of Mato Grosso do Sul. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47(6):796-797.
- Bresciani KD, Serrano AC, Matos LV, Savani ES, D'Auria SR, Perri SH, et al. Ocorrência de *Leishmania* spp. em felinos do município de Araçatuba, SP. *Rev Bras Parasitol Vet* 2010; 19(2):127-129.
- Camargo ME. Introdução às técnicas de imunofluorescência. *Rev Bras Patol Clin* 1974; 10(1): 143-169.
- Cardia DF, Camossi LG, Silveira-Neto L, Langoni H, Bresciani KD. Prevalence of *Toxoplasma gondii* and *Leishmania* spp. Infection in cats from Brazil. *Vet Parasitol* 2013; 197(3-4):634-637.

- Chatzis MK, Leontides L, Athanasiou LV, Papadopoulos E, Kasabalis D, Mylonakis M, et al. Evaluation of indirect immunofluorescence antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of infection by *Leishmania infantum* in clinically normal and sick cats. *Exp Parasitol* 2014; 147:54-59.
- Coelho WM, Richini-Pereira VB, Langoni H, Bresciani KD. Molecular detection of *Leishmania* sp. in cats (*Felis catus*) from Andradina Municipality, São Paulo State, Brazil. *Vet Parasitol* 2011; 176(2-3):281-282.
- Coura FM, Passos SKP, Pelegriño MOF, Leme FOP, Paz GF, Gontijo CMF, et al. Serological, molecular, and microscopic detection of *Leishmania* in cats (*Felis catus*) in Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2018; 27(4):570-574.
- Fernandes ARF, Costa DF, Andrade MR, Bezerra CS, Mota RA, Alves CJ, et al. Soropositividade e fatores de risco para leptospirose, toxoplasmose e neosporose na população canina do Estado da Paraíba. *Pesqui Vet Bras* 2018; 38(5):957-966.
- Godoi NFC, Bittencourt LHFB, Andrade ACS, Picolotto GCGP, Marchan PRAC. Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* em felinos domésticos frequentadores de clínicas e hospitais veterinários da cidade de Cascavel, Paraná, Brasil. *Arq Ciênc Vet Zool UNIPAR* 2016; 19(1):11-16.
- Grevot A, Jaussaud Hugues, P, Marty P, Pratlong F, Ozon C, Haas P, Breton C, Bourdoiseau G. Leishmaniosis due to *Leishmania infantum* in a FIV and FeLV positive cat with a squamous cell carcinoma diagnosed with histological, serological and isoenzymatic methods. *Parasite*, 2005; 12(3):271-275.
- Lacerda LC, Silva AN, Freitas JS, Cruz RDS, Said RA, Munhoz AD. Feline immunodeficiency virus and feline leukemia virus: frequency and associated factors in cats in northeastern Brazil. *Genet Mol Res* 2017; 16(2).
- Maia-Elkhoury ANS, Alves WA, Sousa-Gomes ML, Sena JM, Luna EA. Visceral Leishmaniasis in Brazil: trends and challenges. *Cad Saude Publica* 2008; 24(12):2941-2947, 2008.

Maroli M, Pennisi MG, Di Muccio T, Khoury C, Gradoni L, Gramiccia M. Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*. *Vet Parasitol* 2007; 145(3-4):357-360.

Matos AMRN, Caldart ET, Ferreira FP, Monteiro KC, Souza M, Brunieri DTSC, et al. Antibodies anti-trypanosomatides in domestic cats in Paraná: who is at highest risk of infection? *Rev Bras Parasitol Vet* 2018; 27(2):232-236.

Mendonça IL, Batista JF, Ribeiro IMM, Rocha FSB, Silva SO, Melo MN. *Leishmania infantum* in domestic cats from the municipality of Teresina, state of Piauí, Brazil. *Parasitol Open* 2017; 3(1):1-8.

Miró G, Rupérez C, Checa R, Gálvez R, Hernández L, García M, et al. Current status of *L. infantum* infection in stray cats in the Madrid region (Spain): implications for the recent outbreak of human leishmaniosis? *Parasit Vectors* 2014; 7:112.

Montoya A, García M, Gálvez R, Checa R, Marino V, Sarquis J, et al. Implications of zoonotic and vector-borne parasites to free-roaming cats in central Spain. *Vet Parasitol* 2018; 251:125-130.

Noé P, Domingos SL, Oshiro ET, Lima RB, Pirmez C, Pedroso TC, et al. Detection of *Leishmania chagasi* in cats (*Felis catus*) from viscera leishmaniasis endemic area in Brazil. *Ciênc Anim* 2015; 25(4): 3-14.

Oliveira GC, Paiz LM, Menozzi BD, Lima MS, Moraes CC, Langoni H. Antibodies to *Leishmania* spp. in domestic felines. *Rev Bras Parasitol Vet* 2015; 24(4):464-470.

Pagliano P, Esposito S. Visceral leishmaniosis in immunocompromised host: an update and literature review. *J Chemother* 2017; 29(5):261-266.

Pennisi MG, Cardoso L, Baneth G, Bourdeau P, Koutinas A, Miró G, et al. LeishVet update and recommendations on feline leishmaniosis. *Parasit Vectors* 2015; 8:302.

Pennisi MG, Persichetti MF. Feline leishmaniosis: Is the cat a small dog? *Vet Parasitol* 2018; 251:131-137.

Pocholle E, Reyes-Gomez E, Giacomo A, Delaunay P, Housseine L, Marty P. Un cas de leishmaniose féline disséminée dans le sud de la France. *Parasite*, 2012; 19(1):77-80.

- Sherry K, Miró G, Trotta M, Miranda C, Montoya A, Espinosa C, et al. A serological and molecular study of *Leishmania infantum* infection in cats from the Island of Ibiza (Spain). *Vector Borne Zoonotic Dis.* 2011; 11(3):239-245.
- Silva RC, Ramos RA, Pimentel DS, Oliveira GM, Carvalho GA, Santana MA, et al. Detection of antibodies against *Leishmania infantum* in cats (*Felis catus*) from the state of Pernambuco, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47(1):108-109.
- Silva SM, Rabelo PF, Gontijo NF, Ribeiro RR, Melo MN, Ribeiro VM, et al. First report of infection of *Lutzomyia longipalpis* by *Leishmania (Leishmania) infantum* from a naturally infected cat of Brazil. *Vet Parasitol* 2010; 174(1-2):150-154.
- Silveira-Neto L, Marcondes M, Bilslund E, Matos LVS, Viol MA, Bresciani KDS. Clinical and epidemiological aspects of feline leishmaniasis in Brazil. *Semin Cienc Agrar* 2015; 36(3):1467-1480.
- Silveira-Neto L, Sobrinho LS, Martins CO, Machado RZ, Marcondes M, Lima VM. Use of crude, FML and rK39 antigens in ELISA to detect anti-*Leishmania* spp. antibodies in *Felis catus*. *Vet Parasitol* 2011; 177(3-4):374-377.
- Soares CS, Duarte SC, Sousa SR. What do we know about feline leishmaniosis? *J Feline Med Surg* 2016; 18(6):435-442.
- Sobrinho LS, Rossi CN, Vides JP, Braga ET, Gomes AA, Lima VM, et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2012; 187(1-2):302-306.
- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Vet Parasitol* 2011; 86(4):1-17.
- Solano-Gallego L, Rodríguez-Cortés A, Iniesta L, Quintana J, Pastor J, Espada Y, et al. Cross-sectional serosurvey of feline leishmaniasis in ecoregions around the Northwestern Mediterranean. *Am J Trop Med Hyg* 2007; 76(4): 676-680.

- Sousa KC, Herrera HM, Domingos IH, Campos JB, Santos IM, Neves HH, et al. Serological detection of *Toxoplasma gondii*, *Leishmania infantum* and *Neospora caninum* in cats from an area endemic for leishmaniasis in Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet* 2014; 23(4):449-455.
- Spada E, Canzi I, Baggiani L, Perego R, Vitale F, Migliazzo A, et al. Prevalence of *Leishmania infantum* and co-infections in stray cats in northern Italy. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis* 2016; 45:53-8.
- Spada E, Proverbio D, Migliazzo A, Pepa AD, Perego R, Giorgi GB. Serological and molecular evaluation of *Leishmania infantum* infection in stray cats in a nonendemic area in Northern Italy. *ISRN Parasitol* 2013: 916376.
- Tabar MD, Altet L, Martínez V, Roura X. *Wolbachia*, filariae and *Leishmania* coinfection in dogs from a Mediterranean area. *J Small Anim Pract* 2013; 54(4):174-178.
- Tommasi AS, Otranto D, Dantas-Torres F, Capelli G, Breitschwerdt EB, Caprariis D. Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs? *Parasit Vectors*. 2013; 6:97.
- Vides JP, Schwardt TF, Sobrinho LS, Marinho M, Laurenti MD, Biondo AW, et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. *Vet Parasitol* 2011;178(1-2):22-28.
- Volpini AC, Passos VM, Oliveira GC, Romanha AJ. PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L.(Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis. *Acta Trop* 2004; 90(1):31-37.
- Zanette MF, Lima VM, Laurenti MD, Rossi CN, Vides JP, Vieira RF. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum chagasi* tests in dogs. *Rev Soc Bras Med Trop* 2014; 47(1):105-107.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Através dos resultados expostos foi possível demonstrar pela primeira vez a sorofrequência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. em gatos domésticos na cidade de Mossoró e no estado do Rio Grande do Norte. A presença de gatos soropositivos e com títulos elevados na RIFI indica que esses animais estão sendo expostos ao protozoário e podem estar contribuindo para a cadeia epidemiológica de transmissão da leishmaniose na região estudada.

Por meio deste estudo, chama-se a atenção para que o clínico de pequenos animais passe a incluir de forma mais frequente essa enfermidade como diagnóstico diferencial para as várias afecções que acometem os felinos da região. Esses resultados abrem as portas para trabalhos futuros com a leishmaniose felina, visando aperfeiçoar as técnicas diagnósticas empregadas e entender melhor os aspectos fisiopatológicos e epidemiológicos dessa enfermidade.