

## ASPECTOS IMUNOLÓGICOS DA COINFECCÃO DE LEISHMANIOSE VISCERAL E ERLIQUIOSE MONOCÍTICA CANINA

**Gabrielle Maria Barbosa**

(Discente - Centro Universitário Fametro - Unifametro)

[gabrielle.souza@aluno.unifametro.edu.br](mailto:gabrielle.souza@aluno.unifametro.edu.br)

**Sheila Nogueira Saraiva da Silva**

(Docente - Centro Universitário Fametro - Unifametro)

[sheila.silva@professor.unifametro.edu.br](mailto:sheila.silva@professor.unifametro.edu.br)

**Área Temática:** Bem-estar animal, medicina veterinária preventiva e saúde pública veterinária

**Área de Conhecimento:** Ciências da Saúde

**Encontro Científico:** X Encontro de Iniciação à Pesquisa

### RESUMO

Cães com leishmaniose sintomática são, muitas vezes, infectados concomitantemente com outros agentes patogênicos, frequentemente transmitidos por vetores, como a *Ehrlichia canis*, bactéria causadora da erliquiose monocítica canina (EMC). O objetivo do presente trabalho é detalhar os aspectos imunológicos da coinfeção da leishmaniose e da erliquiose concomitantemente. Foram levantados dados advindos de pesquisas para construir uma revisão de literatura, a fim de resgatar novas informações. Em um primeiro momento, a resposta imunológica se dá quando a célula apresentadora de antígenos (APC) expressa uma interleucina-12 (IL-12) para tornar uma CD4+ T *naive* em célula T *helper* do tipo 1 (Th1). A população de linfócitos T *helper* CD4+ se subdivide em duas: tipo Th1 e tipo Th2. As Th1 são responsáveis pela expressão de IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , juntamente com a ativação de macrófagos e resposta celular inata. Assim como a *Leishmania*, a *Ehrlichia* parasita células hematopoiéticas, maduras ou não, especialmente do sistema fagocitário mononuclear, tais como monócitos e macrófagos, além de poder parasitar tecidos já invadidos por *Leishmania*, como fígado, baço, medula óssea e linfonodos. Assim sendo pela replicação da bactéria dentro de um vacúolo no citoplasma da célula hospedeira. Conclui-se, portanto, que há uma forte correlação entre a coinfeção com *Ehrlichia* e a progressão da leishmaniose visceral.

**Palavras-chave:** antígenos, macrófagos, parasitos, replicação.

## INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é uma enfermidade que acomete normalmente mucosas, pele e vísceras, a depender da resposta imunológica do hospedeiro e da espécie do parasita (ALVAR et al., 2004). As infecções são subdivididas em visceral e cutânea e são causadas por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania spp.* (STRAUSS-AYALI et al., 2007). Originalmente a doença se limitava ao meio rural e, ao longo do tempo, sofreu uma transição epidemiológica, com incidências em áreas urbanas (FERNANDÉZ et al., 2010). Ainda que gatos já tenham sido citados por vários autores, como Costa *et al.* (2010), em áreas endêmicas, o cão é considerado o principal reservatório doméstico (BENETH et al., 2008).

Embora exista a predisposição de raças, estudos recentes comprovam que, graças a mutações genéticas que incrementaram as respostas imunológicas dos macrófagos, algumas raças de cães podem estar mais suscetíveis, enquanto outras são menos propensas a desenvolver a enfermidade (SANCHEZ-ROBERTS, 2005). Toep et al. (2020) descreveram que acontece a prevalência dos animais acometidos com leishmaniose visceral desenvolverem a forma subclínica da doença, porém, uma pequena parcela pode estar sujeita a desenvolver problemas de meses a anos após o primeiro contato com o patógeno.

Ademais, cães com leishmaniose sintomática são, muitas vezes, infectados concomitantemente com outros agentes patogênicos frequentemente transmitidos por vetores, como a *Ehrlichia canis*, bactéria causadora da erliquiose monocítica canina (OTRANTO et al., 2009). Alguns mecanismos de sobrevivência fazem da *Ehrlichia* uma bactéria incomum, se comparada à outras bactérias gram negativas. Isto porque não sintetiza lipopolissacarídeos ou peptidoglicanos, comumente parte da parede celular de bactérias (MAVROMATIS, 2006), que são facilmente reconhecidos pela resposta inata do animal hospedeiro como padrão molecular associado a patógenos (PAMPs) (AKIRA, 2006).

Existem diferentes mecanismos imunológicos do hospedeiro envolvidos no processo de batalha contra os parasitos em questão, um deles é a resposta intermediada por células T *helper* tipo 1, caracterizada por produção subsequente de IFN- $\gamma$ , TNF, IL-12 e IL-2. Também é conhecida pela sua eficiência em ativar macrófagos e eliminar a leishmania (MOSMANN et al., 1986). Entretanto, há também a resposta mediada por linfócitos T *helper*

do tipo 2, que está ligada a expressão de citocinas antiinflamatórias, como a IL-10, IL-4 e TGF- $\beta$  que restringem a resposta dos macrófagos e deixam o hospedeiro suscetível a desenvolver mais seriamente as patologias (BARBIÉRI, 2006).

O objetivo do trabalho é pontuar os possíveis acontecimentos imunológicos, bem como esclarecer o tropismo estabelecido entre a *Leishmania spp.* e a *Ehrlichia spp.*

## METODOLOGIA

Foram levantados dados advindos de pesquisas para construir a revisão de literatura do presente trabalho, a fim de resgatar informações novas, encontradas em artigos científicos, teses e revistas científicas, tais como *Parasites & Vectors*, *The Journal of Immunology*, *International Journal of Parasitology*, *Vaccine*, *Veterinary dermatology*, *Current Opinion Microbiology*, *Vet Parasitology*, *Veterinary Sciences*, *Trends Parasitology*, e unindo-as com às informações já consolidadas em livros.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Logo após a contaminação de um hospedeiro canino, as promastigotas de leishmania são rapidamente absorvidas por células fagocitárias. Atualmente é sabido que neutrófilos são as células predominantemente recrutadas no local da inoculação. Em pouco tempo, os neutrófilos e os eosinófilos são capazes, tanto quando os macrófagos, de realizar fagocitose e matar amastigotas (SMELT *et al.*, 2000) através da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) para impedir a reprodução descontrolada dos parasitas. (PINELLI *et al.*, 1999)

A população de linfócitos T *helper* CD4<sup>+</sup> se subdivide em duas: tipo Th1 e tipo Th2. As Th1 são responsáveis pela expressão de IL-2, IL-12, IFN- $\gamma$ , juntamente com a ativação de macrófagos e resposta celular inata. (CHER & MOSMANN, 1987). Já as respostas imunológicas dos linfócitos T *helper* do tipo 2 (Th2) são caracterizadas pela secreção de IL-4, IL-10 e TGF- $\beta$  (COFFMAN & CARTY, 1986). De acordo com Baneth *et al.* (2008), o perfil das citocinas, durante a resposta imune das células T, é que tanto Th1 quanto respostas do tipo Th2 estão presentes, mas as primeiras podem predominar em cães resistentes. O que nos leva a crer que, se por um lado a resposta mais eficiente é aquela com maior quantidade de IFN- $\gamma$  e

com proliferação significativa de células T *helper* CD4+, por outro lado, o envolvimento de células T *helper* CD8+ no processo pode não ser benéfico (DUARTE et al., 2016; SCHAUT, 2006).

Em um primeiro momento, a resposta imunológica se dá quando a célula apresentadora de antígenos (APC) expressa uma interleucina-12 (IL-12) para tornar uma CD4+ T *naive* em célula T *helper* do tipo 1 (Th1). Estas mesmas células vão expor macrófagos infectados ao interferon-gama (IFN- $\gamma$ ) e, desta forma, ativarão meios antimicrobianos, sendo o principal delas, induzir a síntese de óxido nítrico sintase (REINER & LOCKSLEY, 1995).

No caso de coinfeções, a qualidade e responsividade decaem, trazendo prejuízos aos macrófagos e sua cadeia de ações microbicidas. (BARBIÉRI, 2006) Além do mais, os agentes de coinfeções ainda podem desencadear uma cascata de citocinas inflamatórias nas APCs, via receptores *Toll-like* (TLRs), receptores *Nod-like* (NLRs) e receptores de lectina tipo C (CLR). (BEASLEY et al, 2021)

Desta forma, a expressão de certos receptores nas células Th1, como a proteína de morte celular programada 1 (PD-1) e a CTLA-4, podem ocorrer durante o processo inflamatório como vias regulatórias (BUCHBINDER et al, 2016). A ação dessas proteínas consiste em diminuir a resposta inflamatória das células Th1. A reação inflamatória pode desencadear a produção de citocinas, mais comumente, IL-12 e TGF- $\beta$ . Posteriormente, as células Th1 se transformam em Tr1 (células reguladoras do tipo 1), que expressam IFN- $\gamma$  e IL-10. (BARBIÉRI, 2006) Quando isso ocorre, a IL-10 deixa os macrófagos não-responsivos ao IFN- $\gamma$ , resultando, portanto, em falta de estímulo para a produção de efeitos microbicidas nestes e crescimento desenfreado da leishmania (ESCH et al, 2013). Segundo Srivastava et al. (1986), estudos comprovam que a IL-10 que se encontra em abundância no baço, resultando na formação de um granuloma celular que auxilia na manutenção e sobrevivência da leishmania no hospedeiro.

Por isso, de acordo com Barbiéri (2006), o tipo de imunidade que mais beneficia o hospedeiro é aquela baseada na ação de células T *helper* tipo 1 predominante, caracterizando-se pela indução de células T CD4+ produtoras de interferon gama (IFN- $\gamma$ ). (KUMAR & NYLÉN, 2013) Esse tipo de resposta está relacionado com animais, normalmente, assintomáticos, por possuírem elevados níveis de INF- $\gamma$  (REIS et al., 2010) que, por sua vez,

ativam os macrófagos através da produção de citocinas e quimiocinas, regulando a apresentação de antígenos dentro do macrófago e sustentando respostas microbidas funcionais (DUARTE *et al.*, 2016).

No entanto, se ocorre a hiper sinalização do receptor das células T (TCR), é possível que ocorra um aumento ainda maior dos receptores inibitórios e essas células passam a se exaurir. Se isto ocorre, não mais é produzido o INF- $\gamma$ , acarretando o comprometimento da resposta imune do paciente. (KUMAR & NYLÉN, 2007) De acordo com os estudos de Esch *et al.*, a exaustão das células T ocorre pela superexpressão de PD-1.

São inúmeras as contribuições que a *E. canis*. pode dar para a progressão do curso da leishmaniose, através de mecanismos imunológicos (CROSSLEY, 2008). Assim como a *Leishmania*, a *Ehrlichia* parasita células hematopoiéticas, maduras ou não, especialmente do sistema fagocitário mononuclear, tais como monócitos e macrófagos, (DUMLER *et al.*, 2001) além de poder parasitar tecidos já invadidos por *Leishmania*, como fígado, baço, medula óssea e linfonodos, assim sendo pela replicação da bactéria dentro de um vacúolo no citoplasma da célula hospedeira (PADDOCK & CHILDS, 2003).

Além do mais, Lin & Rikihisa (2004) demonstraram que monócitos parasitados por *E. chaffeensis* perdem sua responsividade diante de estímulos externos que, conseqüentemente, diminuiu ativação da proteína quinase ativada por mitógeno p38 (MAPK) e proteínas quinases reguladas por sinal extracelular 1 e 2 (ERK1 e 2), resultando em na diminuição da sinalização dos receptores a Toll 2 e 4 (TLR2 e 4) e CD14. Adicionalmente, vale ressaltar que não somente bactérias do gênero *Ehrlichia spp.* são responsáveis pela alteração e/ou diminuição da atividade dessas proteínas quinases, pois Agallou *et al.* (2014) documentaram que a fagocitose de *L. infantum* por macrófagos peritoneais prejudica a ativação de p38 MAPK e ERK1, sendo estes responsáveis pela regulação negativa da expressão de transcrição e seus genes-alvo necessários para promover respostas microbidas e produção de citocinas.

Finalmente, bactérias do gênero *Ehrlichia spp.* e protozoários do gênero *Leishmania spp.* podem inibir sinergicamente as vias de sinalização pelas proteínas quinases juntamente com a inibição da indução de respostas mediadas por Th1, impedindo que os macrófagos tenham função efetora, além de, como sugerem alguns estudos, causarem inflamassomos em animais.



## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se, portanto, que há uma forte correlação entre a coinfeção com *Ehrlichia* e a progressão da leishmaniose visceral, isso porque existe um tropismo celular que confirma a plausibilidade da alteração do sistema imunológico. Uma das evidências deste tropismo celular é que ambas as afecções podem promover os mesmos tipos de alterações hematológicas e bioquímicas.

## REFERÊNCIAS

- AGALLOU, M.; DOTSIKA, E.; FRYAS, S.; KARAGOUNI, E. Toll-like Receptor 4 Promotes Control of *Leishmania infantum* Infection through Inducement of Leishmanicidal Activity in Host Macrophages: Role of Mitogen Activated Kinases. **J. Biol. Regul. Homeost. Agents**, v. 28, p. 41–52, 2014.
- ALVAR, J.; CAVALCANTE, C.; MOLINAR, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine Leishmaniasis. In: **ADVANCES in Parasitology**. 1. ed. [S. l.]: Elsevier, 2004. v. 57, cap. 8, p. 21-29.
- ALVES, WA. Estudo epidemiológico da leishmaniose tegumentar na área urbana do município de Viçosa: prevalência canina e descrição dos casos humanos. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa; 2001. p. 131.
- AMEEN M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. **Clin Exp Dermatol**. v. 35, p. 699-705, 2010.
- ATTIPA, C.; SOLANO-GALLEGO, L.; PAPASOULIOTIS, K.; SOUTTER, F.; MORRIS, D.; HELPS, C.; CARVER, S.; TASKER, S. Association between canine leishmaniosis and *Ehrlichia canis* co-infection: a prospective case-control study. **Parasites & vectors**, v. 11, 2018.
- BANETH, G.; KOUTINAS, A.F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BORDEAU, P.; FERRER, L. Leishmaniosis - New concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends Parasitol.**, [s. l.], v. 24, p. 324-330, 2008.

BARATTA-MASINI, A. et al. Mixed cytokine immunity revealed early type-2 and late type-1 profiles during active cutaneous leishmaniasis and predominance of type-1 pattern in naturally resistant individuals. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, p. 839-849, 2007.

BARBIÉRI, C. L. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 28, p. 329–337, 2006.

BEASLEY, E.A.; PESSÔA-PEREIRA, D.; SCORZA, B.M.; PETERSON, C.A. Epidemiologic, Clinical and Immunological Consequences of Co-Infections during Canine Leishmaniosis. **Animals**, v. 11, 2021.

BUCHBINDER, E. I. & DESAI, A. CTLA-4 and PD-1 Pathways: Similarities, Differences, and Implications of Their Inhibition. **American journal of clinical oncology**, v. 39, p. 98–106, 2016.

Brasileish, 2018. Diretrizes para o diagnóstico, estadiamento, tratamento e prevenção da Leishmaniose Canina. Disponível em: [https://www.brasileish.com.br/assets/files/DIRETRIZES\\_Brasileish\\_2.pdf](https://www.brasileish.com.br/assets/files/DIRETRIZES_Brasileish_2.pdf)

CARRADE, D.D; FOLEY, J.E; BORJESSON, D.; SYKES, J. Canine Granulocytic Anaplasmosis: A review. **J. Vet. Intern. Med.**, [s. l.], v. 23, p. 1129–1141, 2009.

CHAPPUIS, François; SUNDAR, Shyam; HAILU, Asrat; GHALIB, Hashim; RIJAL, Suman; PEELING, Rosanna W.; ALVAR, Jorge; BOELAERT, Marleen. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control?. **Nat Rev Microbiol**, [s. l.], v. 5, p. 873–882, 2007.

CHER, D.J.; MOSMANN T.R. Two types of murine helper cell clone. II Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones. **J. Immunol.**, v. 138, p. 3688–3694, 1987.

COFFMAN, R.L.; CARTY, J. A T cell activity that enhances polyclonal IgE production and its inhibition by interferon-gamma. **The Journal of Immunology**, v. 136, p. 949-954, 1986.

COSTA, T.A.C.; ROSSI, C.N.; LAURENTI, M.D.; GOMES, A.A.D.; VIDES, J.P.; SOBRINHO, L.S.V. *et al.* Occurrence of leishmaniasis in cats from endemic area for visceral leishmaniasis. **Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 47, n. 3, p. 213-221, 2010.

COUTO, C. G. Doenças Rickettsiais. *In*: BIRCHARD, Stephen J.; SHERDING, Robert G. **Manual Saunders: Clínica de pequenos animais**. 3. ed. [S. l.]: Editora Roca, 2008. p. 138-142.

CROSSLEY, E.C.; JORDAN, J.M.; WALKER, D.H. Rickettsia. *In* International Encyclopedia of Public Health, p. 582–590, 2016.

DUARTE *et al.* Recent updates and perspectives on approaches for the development of vaccines against visceral leishmaniasis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 49, n. 4, p. 398-407, 2016.

DUMLER, J.S.; BARRET, A.F.; BEKKER, C.P.; *et al.* Reorganization of genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and HE agent' as subjective synonyms of Ehrlichia phagocytophila. **Int. J. Sys. Evol. Microbiol.**, v. 51, p. 2145-2165, 2001.

ELMAHALLAWY, E. K. *et al.* Diagnosis of leishmaniasis. **The Journal of Infection in Developing Countries**, v. 8, n. 8, p. 961-972, 2014.

ESCH, Kevin J.; JUELGAARD, Rachel; MARTINEZ, Pedro A.; JONES, Douglas E.; PETERSON, Christina A. Programmed Death 1 - Mediated T Cell Exhaustion During Visceral Leishmaniasis Impairs Phagocyte Function. **J Immunol.**, [s. l.], v. 191, p. 5542-5550, 2013. Disponível em: <http://www.jimmunol.org/content/191/11/5542>. Acesso em: 4 maio 2022.

FERNÁNDEZ, M.S.; SALOMÓN, O.D.; CAVIA, R.; PÉREZ, A.A.; ACARDI, S.A.; GUCCIONE, J.D. Lutzomyia longipalpis spatial distribution and association with environmental variables in an urban focus of visceral leishmaniasis. **Acta Trop.**, Misiones, Argentina, v. 114, p. 81-87, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.01.008>. Acesso em: 27 abr. 2022.



HARRIS, E.; KROPP, G.; BELLI, A.; et al. Single-step multiplex PCR assay for characterization of New World Leishmania complexes. **J. Clin. Microb.**, v. 36, p. 1989–1995, 1998.

HO, M.; SIONGOK, T.K.; LYERLY, T.K.; SMITH, D.H. Prevalence and disease spectrum in a new focus of visceral leishmaniasis in Kenya. **Trans R Soc Trop Med Hyg**, [s. l.], v. 76, p. 741-746, 1982.

KUMAR, R.; ENGWERDA, C. Vaccines to prevent leishmaniasis. **Clinical & Translational Immunology**, v. 3, 2014. Disponível em: <[http:// doi:10.1038/cti.2014.4](http://doi:10.1038/cti.2014.4)>. Acesso em: 01 maio. 2022.

KUMAR, R., & NYLÉN, S. Immunobiology of visceral leishmaniasis. **Frontiers in immunology**, v. 3, 2012.

KERR, S. F. Palaearctic origin of Leishmania. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, [s. l.], v. 95, p. 75-80, 2000. DOI <https://doi.org/10.1590/S0074-02762000000100011>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/mioc/a/dwgPhQjRkKhDDTVzctfTHpC/?lang=en>. Acesso em: 5 maio 2022.

LABRUNA, M. B.; PEREIRA, M. C. Carrapatos em cães no Brasil. **Clínica Veterinária**, v. 30, p. 24-32, 2001.

LIN, M.; RIKIHISA, Y. Ehrlichia chaffeensis Downregulates Surface Toll-like Receptors 2/4, CD14 and Transcription Factors PU.1 and Inhibits Lipopolysaccharide Activation of NF-Kappa B, ERK 1/2 and P38 MAPK in Host Monocytes. **Cell. Microbiol.**, v. 6, p. 175–186, 2004.

LITTLE, S. E. Ehrlichiosis and anaplasmosis in dogs and cats. **Vet Clin North Am Small Anim Pract.**, [s. l.], v. 40, p. 1121-1140, 2010.

MEKUZAS, Y.; GRADONI L.; OLIVA G.; FOGLIA MANZILLO, V.; BANETH G. Ehrlichia canis and Leishmania infantum co-infection: a 3-year longitudinal study in naturally exposed dogs. **Clin Microbiol Infect.** v. 15, p. 30–31, 2009.

MENESES, I.D.S; SOUZA, B.M.P.S; TEIXEIRA, C.M.M; GUIMARÃES, J.E. Perfil clínico-laboratorial da erliquiose monocítica em cães de Salvador e região metropolitana, Bahia. **Rev.Bras. Saúde Prod. An.**, v.9, p.770-776, 2008.

MOMO, C; JACINTHO, A. P.; MOREIRA, P. R.; MUNARI, D. P.; MACHADO, G.F.; VASCONCELOS, O. R. de. Morphological changes in the bone marrow of the dogs with visceral leishmaniasis. **Vet Med Int.** , [s. l.], v. 2014, 2014. DOI 10.1155/2014/150582. Disponível em: <https://www.hindawi.com/journals/vmi/2014/150582/>. Acesso em: 4 maio 2022.

MOSMANN, T.R., CHERWINSKI, H., BOND, M.W., GIENDLIN, M.A., COFFMAN R.L. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles the lymphokines activities and secreted proteins. **J. Immunol.**, v. 136, p. 2348–2357, 1986.

OTRANTO , D.; DANTAS-TORRES , F.; BREITSCHWERDT, E.B. Managing canine vector-borne diseases of zoonotic concern: part one. **Trends Parasitol.**, [s. l.], v. 25, p. 157-163, 2009.

PEREIRA, M. A.; SANTOS, R.; OLIVEIRA, R.; COSTA, L.; PRATA, A.; GONÇALVES, V.; ROQUETTE, M.; VALA, H.; SANTOS-GOMES, G. Prognostic Factors and Life Expectancy in Canine Leishmaniosis. **Veterinary Sciences.**, v. 7, n. 3, 2020.

PINELLI, E.; GEBHARD, D.; MOMMAAS, A.M.; VAN HOEIJ, M.; LANGERMANS, J.A.; RUITENBERG, E.J.; RUTTEN, V.P. Infection of a Canine Macrophage Cell Line with *Leishmania infantum*: Determination of Nitric Oxide Production and Anti-Leishmanial Activity. **Vet. Parasitol.**, v. 92, p. 181-189, 2000.

REINER, S.L.; LOCKSLEY, R.M. The regulation of immunity to *Leishmania major*. **Annu. Rev. Immunol.**, v. 13, P. 151–177, 1995.

RIKIHISA, Y. Ehrlichia Subversion of Host Innate Responses. **Curr. Opin. Microbiol.**, v. 9, p. 95–101, 2006.

ROURA X.; BREITSCHERDT E.; LLORET A.; FERRER L.; HEGARTY B.; Serological evidence of exposure to *Rickettsia*, *Bartonella* and *Ehrlichia* species in healthy or *Leishmania infantum*-infected dogs from Barcelona, Spain. **J Appl Res Vet Med.** v. 3, p. 129–137, 2005.

SAINZ, Á.; ROURA, X.; MIRÓ, G.; ESTRADA-PEÑA, A.; KOHN, B.; HARRUS, S.; SOLANO-GALLEGO, L. Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. **Parasites & vectors**, [s. l.], v. 8, 2015. DOI 10.1186/s13071-015-0649-0. Disponível em:

<https://parasitesandvectors.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13071-015-0649-0>. Acesso em: 3 maio 2022.

SANCHEZ-ROBERTS, E.; ALTET, L.; SANCHEZ, A.; FRANCINO, O. Polymorphism of Slc11a1 (Nramp1) Gene and Canine Leishmaniasis in a Case-Control Study. **J. Hered.**, v. 96, p. 755–758, 2005.

SARIDOMICHELAKIS, Manolis N. Advances in the pathogenesis of canine leishmaniosis: epidemiologic and diagnostic implications. **Veterinary dermatology**, [s. l.], v. 20, p. 471–489, 2009.

SCHAUT, R. G. et al. Recovery of antigen-specific T cell responses from dogs infected with *Leishmania (L.) infantum* by use of vaccine associated TLR-agonist adjuvant. **Vaccine**, v.34, n.44, p. 5225-5234, 2016.

SMELT S.C.; COTTERELL S.E.; ENGERDA CR *et al.* B cell-deficient mice are highly resistant to *Leishmania donovani* infection, but develop neutrophil-mediated tissue pathology. **The Journal of Immunology**, v. 164, p. 3621-3688, 2000.

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

STRAUSS-AYAL, D.; BENETH, G.; SHOR, S.; OKANO, F.; JAFFE, C.L. Interleukin-12 Augments a Th1-Type Immune Response Manifested as Lymphocyte Proliferation and Interferon Gamma Production in *Leishmania infantum*-Infected Dogs. **Int. J. Parasitol.**, [s. l.], v. 35, p. 63-73, 2005.

THALHOFER, C.J.; CHEN, Y.; SUDAN, B.; LOVE-HOMAN, L.; WILSON, M.E. Leukocytes Infiltrate the Skin and Draining Lymph Nodes in Response to the Protozoan *Leishmania infantum* chagasi. **Infect. Immun.**, v. 79, p. 108–117, 2011.

TOEPP, A.J., MONTEIRO, G.R.G., COUTINHO, J.F.V. *et al.* Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. **Parasites & Vectors.**, v. 12, n. 54, 2019.