

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

**U LISBOA**

UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



ENTEROPATIA CRÓNICA REFRATÁRIA NA LEISHMANIOSE CANINA

PATRÍCIA COVAS GONÇALVES LUNET MARQUES

ORIENTADOR:  
Doutor José Henrique Duarte Correia

TUTORA:  
Dra. Ana Catarina Pinto de Castro

2022

UNIVERSIDADE DE LISBOA  
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA



UNIVERSIDADE  
DE LISBOA



ENTEROPATIA CRÓNICA REFRACTÁRIA NA LEISHMANIOSE CANINA

PATRÍCIA COVAS GONÇALVES LUNET MARQUES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

**JÚRI**

**PRESIDENTE:**

Doutora Ana Mafalda Gonçalves  
Xavier Félix Lourenço

**ORIENTADOR:**

Doutor José Henrique Duarte Correia

**VOGAIS:**

Doutor José Henrique Duarte Correia  
Doutor Rodolfo Assis Oliveira Leal

**TUTORA:**

Dra. Ana Catarina Pinto de Castro

## DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA DISSERTAÇÃO

Nome: Patricia Covas Gonçalves Lunet Marques

Título da Tese ou  
Dissertação: Enteropatia crónica refratária na leishmaniose canina

Ano de conclusão (indicar o da data da realização das provas  
públicas): 2022

Designação do curso  
de Mestrado ou de  
Doutoramento: Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

Área científica em que melhor se enquadra (assinale uma):

- Clínica  Produção Animal e Segurança Alimentar  
 Morfologia e Função  Sanidade Animal

Declaro sobre compromisso de honra que a tese ou dissertação agora entregue corresponde à que foi aprovada pelo júri constituído pela Faculdade de Medicina Veterinária da ULISBÓA.

Declaro que concedo à Faculdade de Medicina Veterinária e aos seus agentes uma licença não-exclusiva para arquivar e tornar acessível, nomeadamente através do seu repositório institucional, nas condições abaixo indicadas, a minha tese ou dissertação, no todo ou em parte, em suporte digital.

Declaro que autorizo a Faculdade de Medicina Veterinária a arquivar mais de uma cópia da tese ou dissertação e a, sem alterar o seu conteúdo, converter o documento entregue, para qualquer formato de ficheiro, meio ou suporte, para efeitos de preservação e acesso.

Retenho todos os direitos de autor relativos à tese ou dissertação, e o direito de a usar em trabalhos futuros (como artigos ou livros).

Concordo que a minha tese ou dissertação seja colocada no repositório da Faculdade de Medicina Veterinária com o seguinte estatuto (assinale um):

- Disponibilização imediata do conjunto do trabalho para acesso mundial;
- Disponibilização do conjunto do trabalho para acesso exclusivo na Faculdade de Medicina Veterinária durante o período de  6 meses,  12 meses, sendo que após o tempo assinalado autorizo o acesso mundial\*;

\* Indique o motivo do embargo (OBRIGATÓRIO)

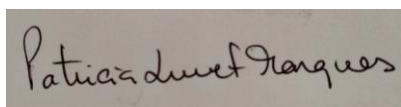
Nos exemplares das dissertações de mestrado ou teses de doutoramento entregues para a prestação de provas na Universidade e dos quais é obrigatoriamente enviado um exemplar para depósito na Biblioteca da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa deve constar uma das seguintes declarações (incluir apenas uma das três):

- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO PARCIAL DESTA TESE/TRABALHO (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.
- DE ACORDO COM A LEGISLAÇÃO EM VIGOR, (indicar, caso tal seja necessário, nº máximo de páginas, ilustrações, gráficos, etc.) NÃO É PERMITIDA A REPRODUÇÃO DE QUALQUER PARTE DESTA TESE/TRABALHO.

Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa, \_\_16\_\_ de \_\_\_\_\_ Março \_\_\_\_\_ de 2022

(indicar aqui a data da realização das provas públicas)

Assinatura:



## **Agradecimentos**

Ao meu orientador: por tudo, mas especialmente pela sabedoria que vai para além da medicina veterinária.

Ao Professor Rodolfo: pelos casos clínicos e por me mostrar que ainda há casos felizes.

À Diana: por só ter fugido de mim da primeira vez.

À Dra. Ana Castro: pela paciência, amizade e conhecimento.

Aos médicos, professores e pessoal administrativo da FMV: por me fazerem sentir em casa.

À família.

À família.

À família

...

# ENTEROPATIA CRÓNICA REFROTÁRIA NA LEISHMANIOSE CANINA

## Resumo

O termo enteropatia crónica (EC) refere-se a um grupo de doenças de etiologia multifatorial, caracterizadas por sinais gastrointestinais crónicos ou recorrentes (duração superior a três semanas) e evidência histológica de inflamação. A patogénese da EC é multifatorial e envolve uma resposta imunitária celular excessiva por perda de tolerância a antígenos normalmente encontrados na dieta e à complexa microbiota comensal em hospedeiros geneticamente suscetíveis.

A leishmaniose canina é uma doença parasitária com elevada seroprevalência em Portugal. Os sinais clínicos mais comuns incluem lesões na pele, linfadenomegalia local ou generalizada, perda de peso corporal, anorexia, letargia, poliúria e polidipsia, lesões oculares, epistaxis e onicogribose. Existem relatos de outras apresentações atípicas como osteomielite, epididimite e pancreatite. A EC, no entanto, não é habitualmente considerada uma delas. Embora diarreia e melena possam também ser manifestações clínicas de leishmaniose canina, os sinais gastrointestinais crónicos não são considerados um sinal clínico frequente, especialmente como manifestação única da doença.

Esta série de casos reúne três casos em que a apresentação inicial incluía exclusivamente sinais gastrointestinais crónicos refratários a tratamento convencional. Dois dos cães apresentavam vômito esporádico e diarreia de origem mista, com melena e hematoquémia intermitentes, o terceiro apresentava diarreia crónica de intestino delgado. Todos os pacientes tinham previamente recebido tratamento apropriado (incluindo terapêutica imunossupressora) sem sinais de melhoria. Perante os sinais ao exame físico e resultados analíticos, todos os animais foram submetidos a um teste serológico por ELISA, tendo dois deles revelado resultados positivos para *Leishmania* e tendo o terceiro, já com diagnóstico prévio de leishmaniose, exibido um Rz muito alto. Todos os animais foram então medicados com terapêutica leishmanicida de acordo com o consenso LeishVet e todos revelaram melhoria clínica evidenciada por diminuição da pontuação CECCAI. Num dos casos foi também possível submeter biópsias gástricas para pesquisa de *Leishmania* por PCR, cujos resultados foram positivos.

Esta série de casos pretende então reforçar a leishmaniose como um diagnóstico diferencial importante de diarreia crónica, especialmente numa zona altamente endémica como Portugal.

**Palavras-chave:** Leishmaniose canina, enteropatia crónica

## REFRACTORY CHRONIC ENTEROPATHY IN CANINE LEISHMANIOSIS

### Abstract

In dogs, chronic enteropathy (CE) refers to a group of diseases with multifactorial etiology characterized by chronic or recurring gastrointestinal signs (duration over three weeks) and histological evidence of inflammation. CE's pathogenesis is multifactorial and involves an excessive cellular immune response with loss of tolerance to antigens usually found in the diet and in the commensal microbiota in genetically susceptible hosts.

Canine leishmaniosis is a parasitic disease with high seroprevalence in Portugal. The most common clinical findings include skin lesions, local or generalized lymphadenopathy, loss of body weight, anorexia, lethargy, polyuria and polydipsia, ocular lesions, epistaxis and onychogryphosis. There are reports of other atypical manifestations such as osteomyelitis, epididymitis and pancreatitis. CE, however, is not usually included among them. Although diarrhea and melena can also be clinical manifestations of canine leishmaniosis, chronic gastrointestinal signs are not considered a frequent clinical sign, especially as the only manifestation of the disease.

This case series gathers three cases in which the initial clinical presentation included exclusively chronic gastrointestinal signs refractory to conventional treatment. Two of the dogs exhibited sporadic vomiting and mixed-origin diarrhea, with intermittent melena and hematochezia, while the third exhibited chronic small intestine diarrhea. Every patient had previously received appropriate treatment (including immunosuppressive therapy) without signs of improvement. Taking into account the signs of the physical exam and the analytical results, all the animals were subjected to a serological ELISA test, with two of them revealing positive results for *Leishmania* and the third, which already had been diagnosed with leishmaniosis, exhibiting a very high Rz. Each animal was then medicated with leishmanicidal therapy in line with LeishVet guidelines and all of them revealed clinical improvement evidenced by a decrease in the CECCAI score. In one of the cases it was also possible to submit gastric biopsies for *Leishmania* PCR search, which had positive result.

This case series hopes to further underline the importance of leishmaniosis as a differential diagnosis of chronic diarrhea, especially in a highly endemic country such as Portugal.

**Key-words:** canine leishmaniosis, chronic enteropathy

## Índice

Agradecimentos.....	iii
Resumo .....	iv
Abstract .....	v
Índice.....	vi
Lista de imagens.....	viii
Lista de gráficos.....	ix
Resumo do estágio curricular .....	1
1.Revisão bibliográfica.....	4
1.1. Enteropatia crónica.....	4
1.1.1. Patogénese .....	5
1.1.2. Apresentação histológica.....	6
1.1.3. Diagnóstico.....	6
1.1.4. Tratamento .....	10
1.1.5. Prognóstico .....	14
1.2. Leishmaniose .....	14
1.2.1. Epidemiologia e visão geral .....	14
1.2.2. Fisiopatologia.....	16
1.2.3. Manifestação intestinal.....	17
1.2.4. Tratamento .....	20
2.Descrição de casos clínicos.....	23
2.1. História clínica anterior à consulta .....	23
2.1.1. Caso # 1 – Border Collie .....	23
2.1.2. Caso # 2 – Baixote.....	25
2.1.3. Caso #3 – Golden Retriever.....	26
2.2. Resultados laboratoriais iniciais.....	28
2.2.1. Caso #1 – Border Collie .....	28
2.2.2. Caso #2 – Baixote.....	29

2.2.3. Caso #3 – Golden Retriever.....	30
2.3. Diagnósticos diferenciais iniciais.....	31
2.4. Análises adicionais .....	31
2.5. Proteinograma e serologias .....	32
2.6. Seguimento .....	32
2.6.1. Caso #1 – Border Collie .....	33
2.6.2. Caso #2 – Baixote.....	34
2.6.3. Caso #3 – Golden Retriever.....	35
2.7. Evolução clínica.....	35
2.7.1. Caso #1 – Border Collie .....	35
2.7.2. Caso #2 – Baixote.....	38
2.7.3. Caso #3 – Golden Retriever.....	38
3. Discussão .....	39
3.1. Diagnósticos diferenciais .....	40
3.1.1. Parasitose intestinal.....	41
3.1.2. Doenças infecciosas.....	41
3.1.3. Dieta .....	43
3.1.4. Disbiose.....	44
3.1.5. Linfangiectasia.....	45
3.1.6. Linfoma gastrointestinal .....	46
3.1.7. EC não responsiva a tratamento (NRD).....	48
3.1.8. Causas extraintestinais:.....	48
3.2. Apresentação e sinais clássicos de leishmaniose.....	51
3.3. Sinais imagiológicos .....	51
3.4. Helicobacter.....	53
3.5. Folatos, cobalamina, cTLI.....	54
4. Conclusão.....	55
Bibliografia.....	57
Anexos .....	62

Anexo 1: Poster e abstract – Enteropatia crónica refratária ao tratamento, associada a infeção natural por <i>Leishmania infantum</i> – Estudo de 3 casos .....	62
---	----

## **Lista de tabelas**

Tabela 1 – Descrição dos casos .....	23
Tabela 2 – Problemas principais apresentados em cada caso na primeira consulta ...	24
Tabela 3 – Exames complementares realizados pré-referência .....	24
Tabela 4 – Alterações laboratoriais identificadas após primeira consulta.....	29
Tabela 5 – Diagnósticos diferenciais por ordem de probabilidade.....	31
Tabela 6 – Análises adicionais realizadas na altura da referência .....	31
Tabela 7 – Proteinograma, rácio albumina/globulina e Rz na altura da referência para o Serviço de Medicina Interna.....	32
Tabela 8. – CCECAI de cada caso aquando da apresentação de diferentes Rz.....	40

## **Lista de imagens**

Figura 1. – Foto original: caso #3 na altura da primeira consulta com 26kg .....	27
Figura 2. – Foto original: caso #3 na altura da primeira consulta – atrofia dos músculos mastigadores .....	27
Figura 3 – Imagem retirada do arquivo GuruVet: proteinograma do caso #1 na altura do diagnóstico exibido gamopatia policlonal .....	33
Figura 4. – Foto original: dermatite nodular no caso #1 .....	36
Figura 5. – Foto original: uveíte no caso #1 .....	37
Figura 6. – Foto original: citologia da PAAF realizada no linfonodo poplíteo do caso #1 - numerosas formas amastigotas de <i>L. infantum</i> no interior dos macrófagos.....	37
Figura 7. – Imagem retirada do arquivo GuruVet: proteinograma normal do caso #3 após seronegatividade.....	39
Figura 8 – Foto original: caso 3, com 34.5kg, após tratamento eficaz para a leishmaniose.....	39

Figura 9 – Imagem retirada do arquivo GuruVet: radiografia realizada para despiste de corpo estranho no caso #2. Sem sinais obstrutivos mas com esplenomegália evidente ..... 52

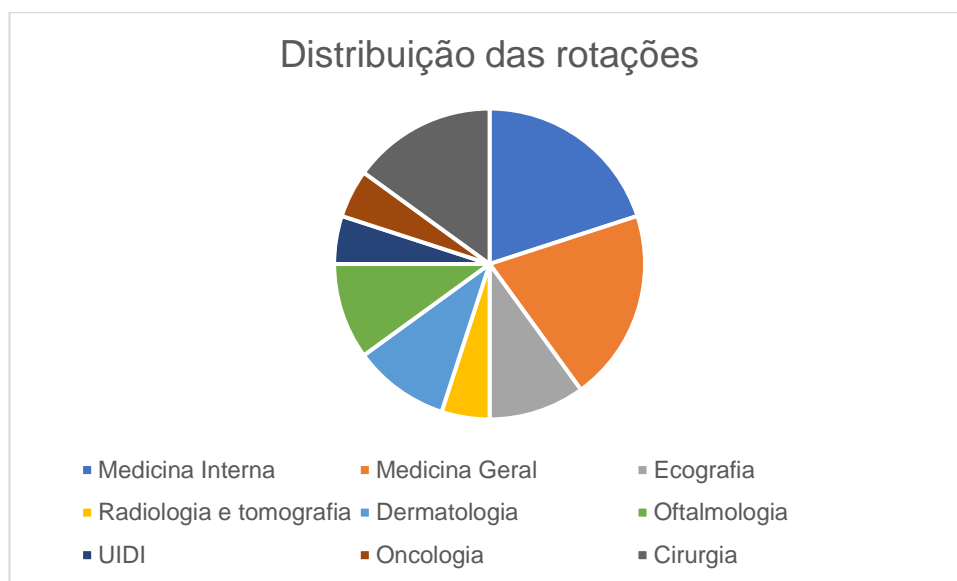
**Lista de gráficos**

Gráfico 1 – Distribuição das diferentes rotações durante o estágio curricular ..... 1

## Resumo do estágio curricular

O estágio curricular realizado decorreu de 31 de agosto de 2021 até 21 de fevereiro de 2022, no Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV), perfazendo um total de 20 semanas (cerca de 900 horas). O estágio consistiu em rotações de duração variável pelos diversos serviços oferecidos pelo HEV-FMV (Gráfico 1). O horário médio correspondeu a 7 horas em regime contínuo (manhã ou tarde) com dois turnos de 12h (20h-8h) por mês (noite).

**Gráfico 1 – Distribuição das diferentes rotações durante o estágio curricular**



### Medicina interna – 4 semanas

Durante a rotação em Medicina Interna foi possível acompanhar o Prof. Rodolfo Oliveira Leal, Dra. A Joana Dias ou o Dr. Nuno Sousa na realização de consultas do Serviço de Medicina Interna (acompanhamento, referência/primeira opinião). Para além de discussão e acompanhamento de casos clínicos, diversos procedimentos foram realizados sob supervisão como: recolha de história clínica/anamnese, realização de exames físicos, colheita de sangue, colheita de urina por cistocentese.

Foi também possível acompanhar, uma vez por semana, a realização de exames complementares como endoscopias altas, broncoscopias com lavagem broncoalveolar e rinoscopias.

Semanalmente era realizado um *Journal Club*, com leitura e discussão de artigos científicos, e um *Book Club*, onde eram lidos capítulos selecionados do “Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Dog and the Cat” para apresentação aos restantes membros do Serviço de Medicina Interna.

### **Medicina geral – 4 semanas**

Durante a rotação de medicina geral foi possível acompanhar os diferentes médicos constituintes do corpo clínico no HEV-FMV. Foi possível participar em consultas de rotina (vacinação, desparasitação) e de primeira opinião numa grande variedade de áreas e acompanhar a gestão e estabilização de emergências (*status epilepticus*, cetoacidose diabética, atropelamentos, mordeduras, etc). A rotação em medicina geral incluiu também turnos de 12h (8h-20h) no internamento geral, onde foi possível acompanhar e participar no tratamento continuado de vários animais.

Nesta rotação foram realizados vários procedimentos como: cistocentese para colheita de urina, colheita de sangue, colocação de cateteres, algaliação, acompanhamento e monitorização de transfusões sanguíneas, administração de medicações e de fluidoterapia adequada.

### **Ecografia – 2 semanas**

Para além de acompanhar a realização de várias ecografias abdominais (animais internados, acompanhados na medicina geral ou referenciados) foi possível também participar na limpeza de SUBs (*Subcutaneous Ureteral Bypass*), na realização de toracocenteses, cistocenteses, punções aspirativas de agulha fina (massas torácicas e cervicais, linfonodos, baço, fígado) e identificação e remoção de corpos estranhos.

### **Radiologia e tomografia – 1 semana**

Foi acompanhada a realização de várias radiografias e tomografias, desde a receção dos pacientes até à sua sedação e posicionamento. Para além disso, foi também assistida a colheita de líquido cefalorraquidiano e realização de mielografias.

### **Dermatologia – 2 semanas**

Foi acompanhada a realização de diversas consultas da especialidade, tanto de seguimento como referência/primeira opinião. Os procedimentos realizados em consulta incluíram a realização de citologias, tricogramas e raspagens de pele. Foram discutidas em profundidade as ferramentas disponíveis para controle da dermatite atópica.

Para além disso, foi também acompanhada a realização de biópsias de pele, punções aspirativas de agulha fina e vídeo-otoscopias.

### **Oftalmologia – 2 semanas**

Nesta rotação foi possível acompanhar a realização de consultas de especialidade (seguimento, referência/primeira opinião) e cirurgias (facoemulsão e substituição do cristalino, resolução cirúrgica da protusão da glândula da terceira pálpebra, eletrodepilação de distíquios, remoção de nódulos palpebrais, correção de entrópion, colocação de *flaps* conjuntivais e membranas amnióticas)

Em contexto de consulta foi realizado exame oftalmológico completo com recurso a teste de Schirmer para medição da produção lacrimal, teste de fluoresceína e tonometria para medição da pressão intraocular.

### **Doenças infecciosas e unidade de isolamento – 1 semana**

Foram acompanhados vários casos de animais com doenças infecciosas internados na Unidade de Isolamento de Doenças Infecciosas (UIDI), incluindo parvovirose, leptospirose, MRSP (*Methicillin-resistant Staphylococcus pseudintermedius*), panleucopénia e calicivirose.

Para além de discutir os tratamentos mais adequados em cada situação, foram também discutidos protocolos de limpeza e desinfeção para limitar disseminação de microrganismos patogénicos.

### **Oncologia – 1 semana**

Esta rotação incluiu o acompanhamento de consultas (reavaliação e referência/primeira opinião), sessões de quimioterapia, de realização de PAAFs e punções de medula óssea. Foram discutidos também os vários protocolos de quimioterapia, incluindo formação em segurança no manuseamento de citostáticos.

### **Cirurgia – 3 semanas**

Foi acompanhada a realização de vários procedimentos cirúrgicos eletivos (ovariohisterectomias e orquiectomias principalmente) e de urgência (piómetra, aborto, ingestão de corpos estranhos). Para além da realização de cirurgias, esta rotação envolveu também a receção dos animais para cirurgia com preenchimento de *check-lists* pré-cirúrgicas, sedação e preparação dos animais (cateterização e colocação de tubo endotraqueal) e do campo cirúrgico.

### **Outras atividades:**

Foi apresentado um cartaz no XVII Congresso Internacional Veterinário Montenegro com base nesta série de casos – “Enteropatia crónica refratária ao tratamento, associada a infeção natural por *Leishmania infantum* – Estudo de 3 casos” (anexo 1).

## **1. Revisão bibliográfica**

### **1.1. Enteropatia crônica**

Em cães, o termo enteropatia crônica (EC) refere-se a um grupo de doenças de etiologia multifatorial caracterizadas por sinais gastrointestinais crônicos ou recorrentes (duração superior a três semanas) e evidência histológica de inflamação (Ettinger et al. 2017). Existem três grupos principais de EC que são caracterizados relativamente à resposta ao tratamento, podendo ser responsivas à alimentação (“food-responsive disease” – FRD), a antibióticos (“antibiotic-responsive disease” – ARD) ou a imunossupressores (“immunosuppressant-responsive disease” – SRD, também designada por idiopática) (Allenspach and Mochel 2022). No entanto, a divisão entre categorias não é completamente estanque, podendo haver sobreposição entre elas. Quando os animais não respondem a nenhum tratamento ou combinação de tratamentos, a EC é caracterizada como sendo não responsiva ou refratária (“non-responsive disease” – NRD) (Rudinsky et al. 2017). Para além disso, qualquer uma destas categorias pode ser complicada por perda de proteína pela mucosa do intestino (“protein-losing enteropathy” – PLE), a qual resulta em panhipoproteinémia (Rudinsky et al. 2017).

Os sinais clínicos mais frequentes são vômito e diarreia que, dependendo do local mais afetado (intestino grosso ou delgado) pode ter características distintas. Outros sinais como desconforto e dor abdominal, borborigmos e flatulências excessivos, perda de peso e variações no apetite (polifagia, picacismo, perda de apetite) também são sinais associados a EC (Dandrieux and Mansfield 2009). Os animais afetados por PLE podem também apresentar hipoproteinémia, o que pode culminar em ascite e edema (Dandrieux and Mansfield 2009).

A EC parece também afetar sobretudo animais de meia-idade com história de sintomatologia gastrointestinal desde jovens. A verdadeira prevalência de EC em animais de companhia não está completamente estudada. Estudos diferentes apresentam prevalências muito dispare (entre 1 e 17.8%) (Dandrieux and Mansfield 2009, Benvenuti et al. 2021) e certos estudos apontam para a existência de predisposição genética em certas raças, sobretudo Weimareiner, Rottweiler, Pastor Alemão, Border Collie e Boxer. No entanto, tendo o estudo sido realizado em Inglaterra, não foi avaliado se existe um viés geográfico. A distribuição mundial da doença ainda está bem caracterizada (Dandrieux and Mansfield 2009).

### 1.1.1. Patogénese

A patogénese da EC é multifatorial e envolve uma resposta imunitária celular excessiva por perda de tolerância a antígenos normalmente encontrados na dieta e à complexa microbiota comensal em hospedeiros geneticamente suscetíveis (Ettinger et al. 2017).

Em condições normais, Toll-like receptors (TLR) em células epiteliais intestinais ou células apresentadoras de antígeno estimulam a diferenciação de células T naïve em células T reguladoras (Treg) através da apresentação contínua de PAMPs (pathogen-associated molecular patterns) da microbiota comensal do intestino. As células Treg, por sua vez, produzem citocinas anti-inflamatórias como TGF- $\beta$  e IL-10, induzindo assim tolerância (Rudinsky et al. 2017).

Na EC, a microbiota comensal passa a ser reconhecida como patogénica, levando à ativação crónica de células T, as quais produzem citocinas pro-inflamatórias, (Ettinger et al. 2017). Pensa-se então que a inflamação presente na EC se deve à produção inapropriada de citocinas. Em cães, existe um perfil inflamatório misto (Th1 e Th2), havendo vários estudos que apontam para o papel de IL-12 e IL-23 na patogénica da doença (Rudinsky et al. 2017). Mais recentemente, observou-se também que os cães com EC não só apresentam cerca de vinte vezes a concentração de IL-1 $\beta$  dos controlos na lâmina própria do duodeno, como a sua concentração aumenta com a gravidade da doença (Rudinsky et al. 2017).

A componente genética do hospedeiro também parece desempenhar um papel importante. Nos pastores alemães, foi possível associar mutações nos TLR2, TLR4 e TLR5 ao desenvolvimento de EC. Mutações no TLR5, por exemplo, resultam no aumento da resposta imunitária à flagelina (Rudinsky et al. 2017). Uma vez que a disbiose muitas vezes encontrada em cães com EC é caracterizada pelo aumento de *Enterobacteriaceae*, que expressam flagelina, há também um aumento da resposta pro-inflamatória associada do intestino. Para além disso, a inflamação crónica leva a alterações na arquitetura epitelial da mucosa intestinal, a qual se torna mais permeável e permite a passagem de bactérias para as camadas mais profundas, perpetuando assim o ciclo de inflamação (Rudinsky et al. 2017). O índice de disbiose fecal, baseado num modelo matemático que usa uma análise PCR quantitativa de 8 grupos bacterianos (*Blautia*, *Clostridium hiranonis*, *Escherichia coli*, *Faecalibacterium*, *Fusobacterium*, *Streptococcus*, *Turicibacter* e bactérias totais), permite distinguir cães com EC de cães saudáveis usando um cut-off de 0 com 74% de sensibilidade e 95% de especificidade (Hernandez and Dandrieux, 2021).

Outros possíveis mecanismos envolvidos na patogénese da EC incluem a presença de agentes patogénicos específicos como *Mycobacterium avium* subespécie *paratuberculosis*, presente em cerca de 20% dos casos presuntivos de EC (Rudinsky et al. 2017).

### **1.1.2. Apresentação histológica**

A EC apresenta uma grande variedade de apresentações histológicas e pode surgir em qualquer porção do trato gastrointestinal, podendo inclusivamente apresentar-se como gastroenterocolite difusa (Wennogle et al. 2017). A apresentação histológica mais comum de EC é de enterite linfoplasmocítica, seguida de enterite e gastroenterite eosinofílica (Ettinger et al. 2017). A enterite granulomatosa, por outro lado, é considerada rara. A inflamação neutrofílica subjacente é comum em seres humanos com EC e surge também em gatos, apesar de ser rara em cães (Wennogle et al. 2017).

A enterite linfoplasmocítica é caracterizada por alterações na arquitetura da mucosa associadas sobretudo a infiltração de linfócitos e plasmócitos, podendo surgir atrofia total ou parcial das vilosidades, assim como abscessos das criptas de Lieberkühn (Wennogle et al. 2017). A gravidade clínica parece correlacionar-se melhor com alterações na arquitetura da mucosa do que com a quantidade de linfócitos e plasmócitos que infiltram a mucosa de cães com EC. A gravidade da hipoalbuminémia também não se correlaciona com o grau de infiltração inflamatória identificada (Wennogle et al. 2017).

Os cães com EC associada a perda de proteína apresentam também maior probabilidade de exibirem histologicamente atrofia das vilosidade intestinais, lesões epiteliais, distensão das criptas de Lieberkühn, dilatação dos ductos quilíferos, linfócitos intraepiteliais e infiltração neutrofílica na lâmina própria (Wennogle et al. 2017)

### **1.1.3. Diagnóstico**

O diagnóstico de EC implica exclusão de causas de inflamação, tanto extraintestinais como intestinais, incluindo parasitas (coprologia, flutuação, esfregaço fecal), reações adversas ao alimento e insuficiência pancreática exócrina (IPE).

#### **1.1.3.1. Hemograma**

Por vezes, pode surgir neutrofilia na EC, com ou sem desvio à esquerda. A eosinofilia pode sugerir a presença de gastroenterite/enterite eosinofílica, mas não é patognomónica (Ettinger et al. 2017).

Pode ocorrer anemia associada a estado inflamatório crónico ou por perda de sangue crónica. A trombocitopénia é um dado raro, mas pode surgir também trombocitose por hemorragia do trato gastrointestinal (Ettinger et al. 2017).

### **1.1.3.2. Parâmetros bioquímicos e concentração de vitaminas séricas**

Não existem alterações bioquímicas patognomónicas de EC. No entanto, hipocalcémia, hipomagnesiémia e hipocolesterolémia são sinais comuns. Os cães com EC apresentam menores concentrações de 25-hidroxivitamina D (25(OH)D), um metabolito frequentemente utilizado para avaliar os níveis de vitamina D no organismo, do que cães saudáveis. A gravidade dos sinais clínicos nestes cães está também inversamente correlacionada com a concentração de 25(OH)D (Titmarsh et al. 2015).

A hipocobalaminémia e folatos séricos baixos também estão associados a doença do intestino delgado distal e proximal, respetivamente. Em casos de inflamação difusa, podem estar ambos abaixo do limite de referência (Kater et al. 2020).

A hipoalbuminémia e hipoglobulinémia também estão associadas a PLE. A inflamação intestinal em alguns cães também pode dar origem a “hepatopatia reativa”, podendo então haver aumento das enzimas hepáticas em alguns animais com EC (Ettinger et al. 2017).

### **1.1.3.3. Diagnóstico imagiológico**

Apesar de não haver nenhum padrão imagiológico patognomónico para EC, certos sinais à ecografia são frequentes nestes animais. Para além de espessamento da mucosa intestinal, também é possível observar nestes animais aumento da ecogenicidade das camadas da mucosa, espessamento da camada muscular e, no caso de existir dilatação dos vasos quilíferos, estriações ou pontuações na mucosa (Gaschen and Kircher 2007). Derrame peritoneal discreto e íleo funcional também já foram previamente identificados em cães com EC. Em casos de inflamação muito grave e ulceração pode haver perda de detalhe nas camadas da parede intestinal (Gaschen and Kircher 2007).

À ecografia abdominal, também é comum identificar linfadenomegalia abdominal por hiperplasia reacional e, mais raramente, ulceração de segmentos do trato gastrointestinal (Gaschen and Kircher 2007). A avaliação radiográfica, com ou sem contraste, tem pouca utilidade no diagnóstico.

#### **1.1.3.4. Biópsia e endoscopia**

Não existe aspeto macroscópico patognomónico de EC, podendo estar presentes graus variáveis de eritema, irregularidade, friabilidade e até ulceração da mucosa. Assim, torna-se necessária a realização de biópsias com subsequente análise histopatológica para documentar e confirmar a presença de inflamação. A realização de biópsias por endoscopia é o método mais seguro (Ettinger et al. 2017). No entanto, tem algumas limitações, só podendo ser recolhidas amostras do intestino delgado proximal por endoscopia alta, sendo necessário realizar uma ileoscopia por intubação do cólon concomitantemente para obter amostras do íleo. Em alguns casos pode ser necessário a realização de biópsia cirúrgica para obtenção de um diagnóstico definitivo, o que pode ser arriscado em animais debilitados com hipoproteinémia marcada (Wennogle et al. 2017).

A análise histopatológica é o *gold-standard* para diagnóstico de EC (Wennogle et al. 2017). No entanto, variações na qualidade das amostras e a subjetividade inerente à avaliação podem tornar o diagnóstico difícil, uma vez que a diferença entre amostras normais e com enterite linfoplasmocítica ligeira ou entre animais com linfoma gastrointestinal e enterite linfoplasmocítica muito grave é ligeira (Wennogle et al. 2017, Rao 2010).

#### **1.1.3.5. Índices de atividade de EC**

Os índices de atividade clínica auxiliam na quantificação da gravidade da doença e apresentam correlação com sinais ecográficos (Gaschen and Kircher 2007). O CIBDAI (Canine IBD Activity Index) correlaciona-se com a gravidade de lesões histopatológicas e concentração sérica de proteínas de fase aguda, como proteína C reativa (Ettinger et al. 2017). O CIBDAI permite a atribuição de pontuações de 0 a 3 consoante as alterações presentes em vários parâmetros: atitude/atividade, apetite, presença de vômito, consistência das fezes, frequência de defecação e presença de perda de peso. A CCECAI (Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index) é uma modificação do CIBDAI que inclui a concentração sérica de albumina, a presença de ascite e a presença de prurido (Allenspach 2007).

Tanto o CIBDAI como o CCECAI são ferramentas úteis que permitem avaliar a resposta ao tratamento e obter prognósticos por comparação a estudos publicados (Allenspach 2007).

### 1.1.3.6. Outras ferramentas de diagnóstico

*Perinuclear anti-neutrophilic cytoplasmic antibodies* (pANCA) são auto-anticorpos dirigidos contra a metilperoxidase dos neutrófilos e macrófagos presentes em animais e seres humanos com doenças autoimunes. Os pANCA apresentam reação cruzada com PAMPs. A estimulação crônica por PAMPs na EC leva a aumento dos pANCA em circulação (Allenspach and Mochel 2022).

Tanto em seres humanos como em animais, a avaliação de pANCA no soro tem uma sensibilidade de cerca de 50% e uma especificidade entre 80 e 90%. Outras doenças como neoplasias, anemia hemolítica imunomediada e certas doenças infecciosas também podem levar a um aumento dos pANCA (Allenspach and Mochel 2022). Estudos realizados em Soft Coated Wheaten Terriers com PLE familiar mostraram que estes auto-anticorpos podem estar elevados até dois anos antes dos cães começarem a exibir sinais clínicos, o que aponta para a sua utilidade na realização de diagnósticos precoces (Allenspach and Mochel 2022).

Os microRNAs (miRNAs) são pequenas moléculas não codificadoras de RNA que regulam a expressão de proteínas. Frequentemente, são moléculas inibidoras que inibem a ação excessiva do sistema imunitário se necessário. Sendo moléculas muito estáveis nos fluidos corporais e nas fezes, tornam-nos bons biomarcadores para doença (Allenspach and Mochel 2022). Os miRNAs estão sobretudo implicados na comunicação entre a microbiota do hospedeiro e na inibição da via de sinalização STAT3, a qual está sobre expressa em pessoas e cães com EC, levando à expressão de moléculas inflamatórias como VEGF (“vascular endothelial growth factor”) e MMP9 (metaloproteinase 9). O miRNA-124, em particular, está anormalmente baixo em seres humano com IBD, podendo ser futuramente explorado tanto como biomarcador de EC como potencial tratamento (Allenspach and Mochel 2022).

A calprotectina fecal está significativamente aumentada em cães com EC em relação a cães saudáveis, apresentando também relação com gravidade dos sinais clínicos, pontuação CCECAI e lesões histológicas (Grellet et al. 2013).

O inibidor de alfa1-proteinase tem um peso molecular (60kDa) semelhante ao da albumina, sendo perdido mais ou menos à mesma velocidade pelo trato gastrointestinal na presença de doença inflamatória (Murphy et al. 2003). Uma vez que o inibidor de alfa1-proteinase não é degradado no intestino por proteinases bacterianas como acontece à albumina, a sua concentração fecal pode fornecer uma estimativa relativamente ao processo de perda de proteína (Murphy et al. 2003). Para além disso, a concentração fecal de inibidor de alfa1-proteinase aumenta antes de haver registo de

hipoalbuminemia, sendo uma boa ferramenta para diagnóstico precoce (Murphy et al. 2003).

A proteína C reativa é uma proteína de fase aguda que está aumentada nos animais com EC idiopática, correlacionando-se também com o CCECAI. É utilizada sobretudo para monitorização da eficácia terapêutica (Heilmann and Steiner 2018).

#### **1.1.4. Tratamento**

##### **1.1.4.1. Alimentação**

Existe evidência científica forte que apoia a introdução de dieta hidrolisada ou de exclusão (proteína com que o animal nunca tenha contactado). Proteína altamente digerível, com baixo peso molecular, reduz a carga antigénica no intestino e, conseqüentemente, a inflamação (Tørnqvist-Johnsen et al. 2020). Em qualquer caso de EC, é recomendado fazer um ensaio com dieta hidrolisada ou de exclusão, uma vez que, na população de cães referidos, a resposta a um ensaio alimentar deste tipo é de cerca de 50% (Tørnqvist-Johnsen et al. 2020). Uma alimentação hidrolisada ou de exclusão permitem também garantir um maior período de remissão da doença (Makielski et al 2019). No entanto, não existe ainda consenso sobre qual a melhor opção entre as duas para gestão de EC, sendo as dietas hidrolisadas preferíveis a dietas caseiras porque são mais equilibradas nutricionalmente (Makielski et al 2019).

Para eliminar qualquer propriedade antigénica, os péptidos devem ter cerca de 1kDa. No entanto, como se tornam muito pouco palatáveis, a maioria das dietas hidrolisadas comerciais apresentam péptidos com 7-10 kDa (Ettinger et al. 2017). Apesar de ainda poderem apresentar alguma propriedade antigénica, com este peso molecular são incapazes de desencadear respostas de hipersensibilidade tipo I com desgranulação de mastócitos. No entanto, respostas de hipersensibilidade tipo IV, podem continuar a ocorrer (Ettinger et al. 2017).

A modificação alimentar também pode ajudar a resolver hipersensibilidades alimentares secundárias que se possam ter desenvolvido em sequência da perturbação da barreira da mucosa intestinal e exclusão de causas alimentares (reação adversa) para a inflamação intestinal. Em cães com PLE, existe evidência de que os animais afetados beneficiam de uma dieta baixa em gordura (Ultra-low fat diet – ULFT) (Rudinsky et al. 2017, Makielski et al. 2019).

Em cães com ARD a modificação alimentar também é útil na gestão dos sintomas, sendo recomendada uma dieta altamente digerível e baixa em gordura de forma a

minimizar a quantidade de substrato disponível para as bactérias (Ziese and Suchodolski, 2021).

Em caso de hipocobalaminemia é necessário realizar suplementação uma vez que pode levar ao desenvolvimento de anemia não regenerativa e neutropenia. A suplementação pode ser feita por via oral ou subcutânea, sendo a dose variável consoante o peso do animal (250-1500µg por animal dependendo do intervalo de peso) (TAMU, 2022). Vários estudos sugerem que ambas as vias de administração são igualmente eficazes (Kather et al. 2020).

#### **1.1.4.2. Antibioterapia**

A antibioterapia é geralmente considerada um componente importante na sequência terapêutica (dieta, antibioterapia, corticosteroides, outros tratamentos imunossupressores) defendida para cães (e gatos) com EC. Os antibióticos supostamente atuam contra a disbiose presente em animais com EC, que pode iniciar e perpetuar a resposta inflamatória do hospedeiro (Makielski et al 2019).

O metronidazol e a tilosina são normalmente os compostos mais utilizados e apresentam eficácia comprovada em cães com EC. No entanto, os casos que relatam remissão conjugam antibioterapia com glucocorticoides ou outro imunossupressor, o que não permite tirar ilações sobre a escala da sua contribuição para a melhoria clínica. A diarreia responsiva à tilosina está também descrita como uma forma de ARD, que afeta sobretudo cães de meia-idade de grande porte, dando origem a diarreia de origem mista intermitente ou crónica (Makielski et al 2019).

Alguns estudos sobre o impacto do metronidazol na microbiota intestinal revelam que diminui a quantidade de bactérias patogénicas (*Fusobacteria*) e aumenta as bactérias benéficas como *Bifidobacterium*, apesar da magnitude da alteração desta proporção não ter impactos claros na progressão da doença (Igarashi et al. 2014). No entanto, pensa-se que o benefício do metronidazol na gestão da EC esteja sobretudo relacionado com as suas propriedades imunomoduladoras e não diretamente com atividade antimicrobiana (Igarashi et al. 2014). A atividade anti-inflamatória do metronidazol relaciona-se com o seu efeito na adesão e migração leucocitária, inibindo-as (Igarashi et al. 2014). No entanto, o metronidazol também reduz a diversidade bacteriana e parece aumentar o número de certos grupos de bactérias com potencial patogénico com *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus* e *Streptococcus* (Igarashi et al. 2014).

Um estudo (Chaitman et al. 2020) comparou o efeito de metronidazol e de transplante fecal no índice de disbiose e consistência fecal em cães com diarreia aguda.

A consistência fecal melhorou em ambos, no entanto, melhorou mais significativamente no grupo que recebeu transplante fecal. Para além disso, no grupo que recebeu transplante fecal, o índice de disbiose melhorou progressivamente até alcançar valores semelhantes ao grupo controlo. O grupo tratado com metronidazol, por outro lado, não melhorou o índice de disbiose, apresentando-se significativamente aumentado em comparação com o grupo de transplante fecal e grupo controlo (Chaitman et al. 2020).

Cães com ARD requerem antibioterapia prolongada (4-6 semanas inicialmente) com oxitetraciclina (10-20 mg/kg PO q8h), metronidazol (10-15mg/kg PO q12h) ou tilosina (20 mg/kg PO q8-12h), para gestão dos sintomas. Muitos animais requerem repetição da antibioterapia ou de tratamento prolongado. No entanto a eficácia pode ser mantida com dosagens mais baixas (tilosina a 5mg/kg) e alguns cães, com a idade e maturidade do sistema imunitário do intestino, deixam de requerer medicação (Makielski et al 2019). A falta de eficácia a longo prazo de antibioterapia prolongada e as desvantagens que apresenta levam a considerar que, no futuro, poderá deixar de ser utilizada tão frequentemente, sendo preferível utilizar outras terapêuticas para modulação da microbiota intestinal como o transplante fecal (Chaitman et al. 2020).

A sulfassalazina tem efeito imunomodulador exclusivamente no cólon. O metabolismo bacteriano no cólon permite a libertação do composto ativo (mesalamina), o qual é absorvido localmente e inibe a formação de mediadores inflamatórios. A dose inicial é de 20-40 g/kg q8h durante três semanas, seguida de 20-40 mg/kg q12h (3 semanas) e 10-20mg/kg q12h (3 semanas) (Walker and McMahon 2019).

#### **1.1.4.3. Imunossupressão**

A imunossupressão é um dos pilares mais importantes no tratamento de enteropatia crónica idiopática intestinal (SRD) (Makielski et al 2019).

Glucocórticoides (prednisona, prednisolona, metilprednisolona) são utilizados frequentemente em cães. A dexametasona deve ser evitada uma vez que estudos em ratos indicam que tem efeitos deletérios na expressão enzimática da bordadura em escova. A prednisona ou prednisolona em doses imunossupressoras (1-2mg/kg PO q12h) são geralmente as primeiras escolhas terapêuticas. Após atingida a remissão dos sinais clínicos, a dosagem é diminuída progressivamente ao longo de semanas ou meses, consoante a resposta do animal. Tipicamente, a primeira redução é feita alterando o intervalo de tempo entre tomas para 24h e, nas subseqüentes, diminuindo a dosagem. Em alguns casos, pode haver remissão completa, permitindo suspender a terapêutica (Makielski et al 2019).

Os cães que não respondem a doses imunossupressoras de glucocorticóides (NRD) ou que sofrem sistematicamente recaídas com a redução da corticoterapia podem beneficiar da introdução de um segundo imunossupressor. A azatioprina (2mg/kg PO q24h) é frequentemente utilizada em combinação com glucocorticóides em cães. A azatioprina, no entanto, demora cerca de 3 semanas a fazer efeito e apresenta potencial mielossupressor, requerendo monitorização frequente do hemograma. O clorambucilo (2-6 mg/m<sup>2</sup> PO 24h até remissão seguido de desmame progressivo) é também uma opção terapêutica utilizada em cães, tendo a associação prednisolona-clorambucilo melhores resultados do que a mesma associação com azatioprina no tratamento de NRD. Também já foi relatado tratamento bem-sucedido de um cão com PLE refratária a prednisolona-ciclosporina com metotrexato (Masashi et al. 2006). A associação com ciclosporina (5mg/kg PO q24h) também é eficaz e geralmente bem tolerada, tendo-se revelado útil também na gestão de fístulas perianais (Mathews et al. 1997).

#### **1.1.4.4. Coadjuvantes e novas terapêuticas**

A modulação da microbiota intestinal com pro e pré-bióticos pode ter efeito na patogénese de EC. Sabe-se que cães com inflamação crónica do trato gastrointestinal apresentam alterações na microbiota, com diminuição nas bactérias dos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, mas com aumentos em *Proteobacteria*, incluindo *Enterobacteriaceae*, indicando um potencial de ação para terapêutica que atue na modulação da microbiota. Para além disso, em estudos com ratos, tanto pro como pré-bióticos parecem reduzir a inflamação intestinal (Igarashi et al. 2014).

A maioria dos estudos disponíveis, tanto em seres humanos como no modelo murino, foram realizados com estirpes de probiótico VSL#3 e não com o *Enterococcus faecium* sf68, o probiótico mais utilizado em medicina veterinária (Fortiflora ®). É, portanto, necessário o desenvolvimento de investigação de estirpes específicas para animais de companhia (Bybee et al. 2011, Lucena et al. 2018).

O transplante fecal também parece promissor, existindo casos (Berlanda et al. 2010, Sugita et al. 2021) de cães com NRD que responderam a este tipo de tratamento, com completo cessar da sintomatologia gastrointestinal e análise à microbiota intestinal semelhante à de cães saudáveis.

A medicação que atua inibindo a produção de TNF- $\alpha$  (talidomida, oxpentifilina), incluindo anticorpos monoclonais anti-TNF- $\alpha$ , é utilizada em seres humanos com enteropatia crónica, o que sugere a sua possível utilidade em animais com EC (Ettinger et al. 2017).

### 1.1.5. Prognóstico

Dependendo das características e da gravidade da doença, o prognóstico da EC pode ser muito variável. Hipoalbuminémia na altura do diagnóstico, ausência de resposta a glucocorticóides e hipovitaminose D estão fortemente associadas a pior prognóstico, tal como doença pancreática concomitante e hipocobalaminémia (Titmarsh et al. 2015 and Allenspach 2007).

A expressão de p-glicoproteína, uma proteína membranar responsável pela resistência a diferentes fármacos, e variação na expressão de TLR-2 e TLR-4 são também preditivos da ausência de resposta ao tratamento e, conseqüentemente, pior prognóstico (Allespach et al. 2006).

O grau de hipoalbuminémia aparenta também estar relacionado com aumento de mortalidade por indução de estado de hipercoagulabilidade, uma vez que a albumina (70kDa) e a antitrombina (58 kDA) apresentam peso molecular semelhante. Um estudo avaliou a coagulação em cães com EC através de tromboelastografia (TEG) e determinou que cerca de 40% da amostra avaliada apresentava um estado hipercoagulável, podendo estar associado a um maior risco de evento tromboembólico (Dixon et al. 2021).

Os cães com FRD aparentam ter um excelente prognóstico. No entanto, os resultados não são claros para animais com IRD ou ARD, havendo autores que descrevem taxas de eutanásia entre 10 e 20% (Benvenuti et al. 2021).

## 1.2. Leishmaniose

### 1.2.1. Epidemiologia e visão geral

A leishmaniose canina, na sua forma mais grave, é causada por *Leishmania infantum* (sin. *L. chagasi*) – um protozoário difásico que se replica no intestino médio de certas espécies de moscas-da-areia. No sul da Europa, onde a leishmaniose canina é endêmica, as moscas-da-areia fêmeas do género *Phlebotomus* são os vetores naturais de *L. infantum*, embora outros modos de transmissão sejam possíveis – transmissão vertical, transmissão venérea e transmissão por transfusão de sangue já foram todas relatadas. Em Portugal, as espécies responsáveis pela transmissão são *Phlebotomus ariasi* e *P. perniciosus* (Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

Estudos de seroprevalência em Espanha, França, Itália e Portugal estimam que cerca de 2,5 milhões de cães nestes países estão infetados com *L. infantum*. A infeção

também se tem espalhado para o norte da Europa – tendo já chegado ao sopé dos Alpes, Pirenéus e noroeste de Espanha. Em focos altamente endêmicos, como as Ilhas Baleares de Espanha, Marselha em França, Nápoles em Itália e por toda a Grécia, as taxas de infeção caninas podem chegar aos 70-90% (Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

O resultado da infeção *Leishmania spp* é variável. Ratos, pessoas e cães geralmente desenvolvem uma doença crónica e progressiva quando a resposta imunitária é dominada por uma imunidade T helper de tipo 2 (Th2). No entanto, quando a imunidade é dominada por uma resposta T helper de tipo 1 (Th1), os cães podem ficar infetados sem manifestar doença clínica ou exibir apenas uma doença autolimitante ou ligeira. Quando as manifestações clínicas aparecem, podem ocorrer depois de um longo período de incubação e a apresentação clínica varia muito, o que pode interferir com tentativas de diagnóstico precoce (Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

A leishmaniose canina provocada por *L. infantum* é frequentemente classificada como leishmaniose visceral à semelhança da classificação da doença humana. No entanto, em cães, há envolvimento tanto visceral como cutâneo. A leishmaniose canina é essencialmente uma doença sistémica que pode potencialmente envolver qualquer órgão ou tecido – incluindo o trato gastrointestinal (Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

Resultados clínicos comuns em exames físicos incluem lesões na pele, linfadenomegalia local ou generalizada, perda de peso corporal, anorexia, letargia, poliúria e polidipsia, lesões oculares, epistaxis, onicogribose, claudicação, vômito e diarreia. Outras manifestações menos comuns de leishmaniose canina também já foram relatadas, como tamponamento pericárdico, miosite dos músculos mastigadores, pancreatite, meningite e diarreia crónica (Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010; Solano-Gallego et al. 2009).

As alterações bioquímicas associadas à leishmaniose incluem hiperglobulinémia, hipoalbuminémia, rácio albumina/globulina diminuído, aumento da atividade das enzimas hepáticas e azotémia renal. O hemograma revela frequentemente anemia ligeira a moderada não regenerativa ou fracamente regenerativa, podendo frequentemente surgir leucocitose ou leucopenia. A proteinúria moderada a grave é também comum (Sykes et al. 2013).

Perante sinais clínicos e analíticos característicos, o diagnóstico definitivo deve ser feito preferencialmente por deteção de anticorpos (IgG) por técnicas de serologia quantitativa, como testes de imunofluorescência (IFAT) e ELISA (“enzyme-linked immunosorbent assay”). Testes rápidos por imunocromatografia também podem ser

utilizados em contexto de consulta mas apresentam baixa sensibilidade e são meramente qualitativos. A deteção de DNA de *Leishmania* em tecidos por real-time PCR permite quantificar a carga parasitária, por oposição à análise serológica, que não deteta necessariamente a presença do parasita. No entanto, apesar de permitir avaliar a carga parasitária e ser útil no seguimento pós tratamento, a presença de *Leishmania* não se relaciona diretamente com o desenvolvimento da doença, sendo necessário correlacionar os resultados obtidos com avaliação clinicopatológica e serológica (Solano-Gallego et al. 2009).

### 1.2.2. Fisiopatologia

Quando há inoculação das formas infetantes (promastigotas metacíclicas) no hospedeiro vertebrado, múltiplas células do sistema imunitário, principalmente macrófagos, migram para o foco inflamatório, fagocitando os parasitas. Se a resposta fagocitária é ineficaz, há divisão binária na forma de amastigotas com lise dos macrófagos e libertação de mais formas parasitárias (Solano-Gallego et al. 2016).

Com a progressiva estimulação antigénica há proliferação massiva de linfócitos B e plasmócitos com produção de anticorpos, o que leva a linfadenomegalia e hiperglobulinemia. A patogenia da infeção por *Leishmania* prende-se então com o desenvolvimento de reações de hipersensibilidade tipo II e III, estando as lesões características da leishmaniose canina mais frequentemente associadas a reações de hipersensibilidade tipo III. A formação de imunocomplexos nesta resposta pode levar ao desenvolvimento de uveíte, vasculite e lesão renal sob a forma de glomerulonefrite mesangial, membranosa ou membranoproliferativa (Koutinas and Koutinas, 2014).

O tipo de resposta do hospedeiro é essencial para a progressão e desfecho da leishmaniose. Cães com infeção subclínica geralmente apresentam uma resposta Th2 fraca ou mesmo ausente e uma resposta Th1 mais forte, com produção de IL-2, IL-12, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ . Estes cães geralmente apresentam baixo título de anticorpos, baixa carga parasitária e poucos sinais clínicos ou anomalias clinicopatológicas. Por outro lado, cães que desenvolvem leishmaniose clínica são caracterizados por resposta Th2 exacerbada, com produção de IL-4, IL-5 e IL-6, uma resposta Th1 fraca e disseminação sistémica dos parasitas, com reduzida quantidade de células T helper CD4+ em circulação e imunossupressão associada. Estes cães apresentam anticorpos anti-leishmania altos e diversos sinais clínicos (Koutinas and Koutinas 2014; Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

A imunidade protetora contra a *Leishmania* parece ser conferida por células T helper CD4+, que promovem eliminação intracelular dos parasitas nos macrófagos.

Depleção das células CD4+ e CD8+ está associada a pior resposta ao tratamento e a manifestações clínicas exuberantes da doença. Pensa-se que os parasitas suprimam a imunidade do hospedeiro ao estimular células T reguladoras (Treg) para garantir a persistência da infecção (Koutinas and Koutinas 2014; Sykes et al. 2013; Solano-Gallego et al. 2016; Solano-Gallego and Baneth 2010).

### 1.2.3. Manifestação intestinal

Embora diarreia e melena sejam relatadas como sinais clínicos comuns em cães com leishmaniose (Sykes et al. 2013, Solano-Gallego et al. 2016, Solano-Gallego and Baneth 2010, Solano-Gallego et al. 2009), sinais gastrointestinais crônicos não são considerados um sinal clínico frequente, especialmente como manifestação única da doença. Relatórios extensos mais antigos indicam que diarreia crônica nunca é o sinal clínico primário em cães com leishmaniose (Ferrer et al. 1991). Para além disso, certas fontes descrevem alterações gastrointestinais associadas à leishmaniose como raras, exclusivamente ligadas ao intestino grosso, com manifestações que se restringem a diarreia com ou sem hematoquécia por colite ulcerativa granulomatosa (Solano-Gallego and Baneth 2010).

No entanto, tem-se tornado cada vez mais claro que a leishmaniose canina pode ter um grande impacto no trato intestinal e dar origem a sinais indicadores de enteropatia crônica. A infecção por *L. infantum* tem sido ligada a colite linfoplasmacítica e granulomatosa (Ferrer et al. 1991), enterocolite e gastrite linfoplasmacítica e histiocítica (Ruiz et al. 2015), duodenite granulomatosa (Ayala et al. 2017) e enterocolite neutrofílica e histiocítica (Ward et al 2019). A colite erosiva também já foi relatada em cães infetados experimentalmente com *Leishmania infantum* (González 1990). Mais recentemente, diarreia crônica refratária induzida por leishmaniose também foi referida num gato - endoscopia e biópsias gastrointestinais revelaram uma reação inflamatória granulomatosa e linfoplasmocítica generalizada difusa em todos os segmentos do trato gastrointestinal avaliados (Tabar et al. 2022).

O trato gastrointestinal de cães com leishmaniose foi previamente analisado histopatologicamente noutros estudos (Pinto et al. 2011; Damama-Moraitous et al. 2007; Ayala et al. 2017; Ward et al 2019; Ferrer et al. 1991; Casanova et al. 2019). Um dos estudos (Pinto et al. 2011) mostra que exsudato celular crônico, composto por macrófagos, plasmócitos, linfócitos e neutrófilos e eosinófilos, está presente tanto em cães sintomáticos como assintomáticos. Macrófagos contendo muitas formas amastigotas de *L. infantum* são também frequentemente encontrados na lâmina própria da mucosa e submucosa intestinal de cães infetados. No entanto, quanto em alguns

estudos a gravidade da doença não parecer estar ligada à carga parasitária em macrófagos intestinais (Damama-Moraitous et al 2007), noutros (Silva et al. 2016) aparenta existir uma correlação entre alterações estruturais microscópicas. A condição corporal baixa, no entanto, não parece estar relacionada com a carga parasitária intestinal (Silva et al. 2016).

Tanto em cães clinicamente afetados como não-afetados, já foi demonstrado que formas amastigotas de *L. infantum* são mais numerosas no cólon e ceco (Figueiredo et al. 2014). Um dos estudos descreve também degeneração das criptas de Lieberkühn e microerosões na mucosa do intestino grosso em Beagles experimentalmente infetados com *L. infantum* (González et al. 1990). Estes resultados ajudam a explicar porque é que a diarreia crónica do intestino grosso está mais frequentemente associada à leishmaniose. No entanto, a leishmaniose também já foi associada a diarreia crónica do intestino delgado e PLE, tanto clinicamente como por histopatologia, com alguns indivíduos a exibir uma maior carga parasitária no duodeno. A análise endoscópica de cães afetados também provou ser variada – uma grande percentagem de casos não revelou alterações macroscópicas enquanto outros apresentaram uma mucosa hiperémica e hipertrófica, petéquias e secreção mucosa abundante (Damama-Moraitous et al. 2007).

Alguns estudos (Figueiredo et al. 2014, 2013) apontam para uma possível variação na resposta reguladora nos diferentes segmentos como explicação para o maior número de parasitas na mucosa do cólon e ceco. Em alguns casos, apesar da disseminação do parasita por todas as porções do trato gastrointestinal, o intestino delgado apresenta consistentemente uma carga parasitária menor, com aumento da expressão de recetores CD4, FoxP3 (atua na regulação e expressão de células Treg), CD8 e maior expressão de IL-10, TGF- $\alpha$  (e as citocinas associadas) e IFN- $\gamma$ . O cólon, por outro lado, apresenta uma carga parasitária maior com aumento significativo da expressão de IL-4 (Figueiredo et al. 2014)

Outros estudos indicam que a carga parasitaria no trato gastrointestinal se correlaciona positivamente com o número de células CD8+ e macrófagos, mas negativamente com as células CD4+ e Treg. No intestino de cães com leishmaniose visceral, o aumento das populações de células T CD8+ e macrófagos associado a altas cargas parasitárias, sem alteração das células T CD4+ e células Treg FoxP3+ sugerem uma possível imunorregulação pelo parasita não dependente de células Treg. Tendo em consideração que uma elevada percentagem dos animais com parasitas no trato gastrointestinal é assintomática é possível que, devido à resposta imunoregulatória do intestino, se desenvolva tolerância imunológica a *L. infantum* (Figueiredo et al. 2014).

Aparenta existir também uma relação entre expressão de células TLR9+ e menor carga parasitária (Figueiredo et al. 2013), o que sugere um papel de TLR9 na eliminação de parasitas. No cólon, uma maior abundância de células TLR2+ associada a maior carga parasitária sugere que TLR poderá facilitar o estabelecimento de parasitas nestes tecidos (Figueiredo et al. 2013).

A maior frequência de macrófagos CD11b+ e CD14+ que expressam TLR9 no jejuno, à semelhança do que acontece com macrófagos hepáticos CD11b+/CD18+, parece então estar relacionada com menor carga parasitária (Figueiredo et al. 2013). Por outro lado, os macrófagos esplênicos parecem ajudar a perpetuar a infecção intracelular. Estes fenómenos reforçam então a compartimentalização da resposta imunitária contra a *Leishmania* nos diferentes órgãos (Figueiredo et al. 2013).

Também já foi detetada hiperplasia de neutrófilos, eosinófilos e mastócitos na parede intestinal, em particular nas unidades cripta-vilosidade e na submucosa, de cães com leishmaniose, independentemente se apresentam formas amastigotas de *L. infantum* no trato gastrointestinal ou não. Nos cães com amastigotas no intestino delgado, parece existir uma correlação inversa fraca entre a carga parasitária e o número de granulócitos, o que sugere que estas células estão envolvidas na resposta imunitária celular e na eliminação de parasitas (Silva et al. 2018). No intestino delgado, onde geralmente surge menor carga parasitária (Silva et al. 2018; Figueiredo et al. 2014; Figueiredo et al. 2013), é possível observar um maior número de granulócitos. No intestino grosso, por outro lado, é possível observar o fenómeno inverso (Silva et al. 2018; Figueiredo et al. 2014; Figueiredo et al. 2013; Pinto et al. 2011). Um estudo (Silva et al. 2018) aponta também para a presença de parasitas em todas as camadas da parede intestinal, incluindo a muscular.

Em cães com leishmaniose, mas sem amastigotas intestinais, é possível também observar uma correlação positiva entre o número de mastócitos e eosinófilos, o que aponta para a presença de uma relação sinérgica entre estas células, com o recrutamento de eosinófilos por mastócitos mesmo antes do estabelecimento de infecção parasitária (Silva et al. 2018).

À semelhança do que acontece com a enteropatia crónica, os níveis de vitamina D de animais com leishmaniose também se correlacionam com progressão da doença. Independentemente do estatuto sintomático, cães infetados apresentam níveis significativamente menores de vitamina D no soro (Rodriguez-Cortes et al. 2017). A enteropatia crónica idiopática e a manifestação gastrointestinal de leishmaniose podem então ter características semelhantes, dificultando a sua diferenciação.

## **1.2.4. Tratamento**

### **1.2.4.1. Antimoniato de meglumina**

O antimoniato de meglumina é um antimoniato pentavalente leishmanicida que se pensa atuar por inibição do metabolismo energético através do bloqueio da fosfofrutoquinase e piruvato desidrogenase, impedindo a formação de adenosina trifosfato (ATP) e guanosina trifosfato (GTP). A dose recomendada é de 75-100 mg/kg SC q24h ou 40-75 mg/kg SC q12h durante 4 semanas, podendo o tratamento ser prolongado mais 2 a 3 semanas se a melhoria não for satisfatória. O antimoniato de meglumina é frequentemente associado ao alopurinol, cuja ação é sinérgica, permitindo administrar doses mais baixas durante menos tempo e induzindo maiores taxas de cura e de remissão (Solano-Gallego et al. 2016).

A toxicidade dos antimoniatos deve-se à união de grupos sulfidrilo (-SH), alterando a estrutura das proteínas, assim como à alteração dos locais de ação de diversas enzimas. Os sinais apresentados incluem febre, anorexia, inapetência, pancreatite e alterações hepáticas e renais, estando sobretudo associados a nefrotoxicidade. Podem também surgir alterações locais no local de aplicação do composto, com formação de abscessos locais ou celulite (Solano-Gallego et al. 2016).

No início do tratamento, a morte parasitária massiva e conseqüente libertação de antigénio pode levar a uma pioria do estado geral, sendo necessário interromper o tratamento temporariamente (Sykes et al. 2013).

O antimoniato de meglumina parece induzir remissão durante mais tempo e ter maior rapidez de atuação do que a miltefosina, sendo o tratamento preferível em cães não azotémicos (Manna et al. 2015).

### **1.2.4.2. Miltefosina**

A miltefosina é um alquilfosfolípido, um análogo sintético da lisofosfolocolina com propriedades leishmanicidas. Pensa-se que atue integrando parte da camada fosfolipídica dos parasitas, tornando-o permeável e induzindo alterações no seu metabolismo. Também estão descritas alterações induzidas pela miltefosina na membrana flagelar dos promastigotas (Sampaio et al. 2019).

Os principais efeitos secundários associados ao tratamento com miltefosina são de natureza gastrointestinal, incluindo náusea, diarreia e vômitos. Para além disso apresenta teratogenicidade, embriotoxicidade e fetotoxicidade, estando por isso contraindicado em cadelas gestantes e lactentes. No entanto, não apresenta

nefrotoxicidade nem induz alterações a nível hepático. A dose recomendada de miltefosina é de 2mg/kg PO q24h durante 28 dias consecutivos, podendo também ser associada ao alopurinol (Sykes et al. 2013).

#### **1.2.4.3. Alopurinol**

O alopurinol é um fármaco que pertence ao grupo das pirazolopirimidinas e é um análogo estrutural da hipoxantina, um derivado das purinas. É um fármaco leishmanioestático, inibindo o crescimento da *Leishmania* por bloqueio da xantina oxidase e, conseqüentemente, aumenta o catabolismo de RNA parasitário, perturbando a síntese proteica. A dose recomendada é de 10mg/kg PO q12h durante 6 a 12 meses, inicialmente em associação com miltefosina ou antimoniato de meglumina (Sykes et al. 2013).

O principal efeito secundário do alopurinol é a xantínúria, podendo ocorrer em cerca de 40% os animais medicados (Segarra et al. 2017). Como prevenção é recomendada a implementação de uma dieta baixa em purinas.

#### **1.2.4.4. Domperidona**

A domperidona é um derivado do benzimidazol que tem atividade como agonista seletivo do recetor de dopamina D2. Apesar de ter outros efeitos, como o aumento da prolactina, é também utilizada na leishmaniose uma vez que estimula a imunidade celular ao aumentar a produção de INF- $\gamma$ , IL-2, IL-12 e TNF- $\alpha$  (Sabaté et al. 2014).

Apesar de poder ser usada no tratamento de leishmaniose no estadio I, a sua utilização está sobretudo recomendada como prevenção. Quatro tratamentos anuais com duração de 30 dias com domperidona (0.5mg/kg PO q24h) reduzem significativamente o risco de desenvolver leishmaniose clínica em zonas endémicas (Sabaté et al. 2014).

#### **1.2.4.5. Nucleótidos nutricionais e análogos ativos de hexose**

É o único dos tratamentos descritos que não é atualmente recomendado pela LeishVet.

O Impromune<sup>®</sup> é uma associação de nucleótidos nutricionais com AHCC (“active hexose correlated compound”) e surgiu recentemente como alternativa ao alopurinol em casos de urolitíase associada a xantínúria. Os nucleótidos nutricionais são compostos de baixo peso molecular que influenciam positivamente o metabolismo

lipídico e imunidade, sendo considerados possivelmente imunomoduladores. O AHCC corresponde a um suplemento dietético rico em  $\alpha$ -glucanos extraído de cogumelos *Basidiomycota* com capacidade para estimular resposta Th1 (Segarra et al. 2017).

Um estudo (Segarra et al. 2017) sugere que AHCC (17mg/kg PO q24h) associado a nucleótidos nutricionais (32 mg/kg PO q24h) tem efeito semelhante ao do alopurinol (10mg/kg PO q12h), sem os riscos de xantínúria associados.

## 2. Descrição de casos clínicos

Três cães seguidos no Serviço de Medicina Interna de Referência do Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Lisboa (HEV-FMV) entre 2018 e 2020 foram incluídos nesta análise – dois machos inteiros e uma fêmea inteira (Tabela 1). Os três cães foram referenciados por exibirem sinais compatíveis com enteropatia crónica (EC), refratária ao tratamento médico e dieta em curso. Os três casos foram reunidos e compilados a partir do software de gestão veterinária hospitalar GuruVet.

Tendo em conta os registos fornecidos, não foi possível identificar mais casos que preenchessem os requisitos do estudo, ou seja, enteropatia crónica associada a diagnóstico estabelecido de leishmaniose.

Todas as análises serológicas para a leishmaniose foram realizadas através de um ensaio imunoenzimático para a deteção e medição semi-quantitativa de anticorpos anti-*Leishmania* em soro de cão LEISCAN®.

**Tabela 1 – Descrição dos casos**

<b>Caso</b>	<b>Idade ao diagnóstico</b>	<b>Sexo</b>	<b>Raça</b>
<b>1</b>	10 meses	Fêmea (inteira)	Border Collie
<b>2</b>	8 anos	Macho (inteiro)	Baixote
<b>3</b>	2 anos	Macho (inteiro)	Golden Retriever

### 2.1. História clínica anterior à consulta

#### 2.1.1. Caso # 1 – Border Collie

O caso #1 – Border Collie fêmea inteira – teria terminado a primovacinação às 14 semanas com apenas 2 inoculações de vacina polivalente (DHPPi+L4). Vivia em apartamento durante a semana, tendo acesso ao exterior sem supervisão numa quinta aos fins-de-semana. Foi apresentada à consulta no HEV-FMV por vômito, hematoquézia, perda de peso e diarreia de origem mista com duração desde há 6 a 8 semanas, aparentemente não relacionada com mudança de alimentação ou erros alimentares (Tabela 2).

**Tabela 2 – Problemas principais apresentados em cada caso na primeira consulta**

Caso	Melena	Hematoquécia	Vômito	Diarreia crônica
1	P	P	P	Intestino delgado e grosso
2	P	P	P	Intestino delgado e grosso
3	NP	NP	NP	Intestino delgado

P – Presente; NP – Não presente

Um ano antes da consulta, foi recebida pelo médico veterinário (MV) assistente, tendo sido realizadas análises sanguíneas (hemograma, glucose, creatinina, BUN, ALT, FAS e PTs) que revelaram apenas hiperproteinémia (PT = 8.3g/dL, RR < 7.5). Ainda no MV assistente, o caso #1 foi submetido a uma ecografia abdominal que revelou um estômago moderadamente distendido, ansas intestinais discretamente distendidas e linfadenomegalia abdominal generalizada (Tabela 3). Nesta altura, terão sido realizadas também análises parasitológicas às fezes (coprologia standard, flutuação), com resultado negativo, e doseamento de cortisol, com resultado normal. Não foi, no entanto, possível aceder a estes resultados, não tendo sido facultados pelos titulares na altura da referência.

Não tendo havido melhoria clínica, foram realizadas novas análises sanguíneas (hemograma, glucose, creatinina, BUN, ALT, FAS e PTs) pelo MV assistente, cerca de uma semana depois, tendo revelado novamente hiperproteinémia (PT = 8.8 g/dL, RR < 7.5).

**Tabela 3 – Exames complementares realizados pré-referência**

Caso	Imagiologia	Análise histopatológica	PCR
	Ecografia abdominal		<i>Helicobacter</i>
1	Estômago moderadamente distendido; ansas intestinais discretamente distendidas; Linfadenomegalia abdominal generalizada.	NR	NR
2	Hipomotilidade gástrica	Gastrite erosiva	NR
3	Ansas intestinais distendidas	Gastrite hiperplásica e catarral; Enterite linfoplasmocítica moderada; Inflamação fibrinosa aguda	+

NR – Não realizado.

Ao longo do processo de acompanhamento no médico veterinário assistente, o caso #1 foi medicado empiricamente com metronidazol (15mg/kg q12h PO), sucralfato (500mg/cão q12h PO), omeprazol (1mg/kg q12h PO) e probióticos (Fortiflora®, 1 saqueta/cão/dia). Para além disso, foi realizada a transição para uma dieta comercial gastrointestinal. Houve melhoria clínica pontual, tendo a diarreia recidivado 2 dias após suspender a antibioterapia. Os titulares ensaiaram posteriormente dieta caseira em exclusivo, com borrego e batata-doce, sem efeito.

Na consulta inicial no HEV-FMV, ao exame físico, o caso #1 apresentava uma condição corporal baixa (2/9), postura em cifose e desconforto à palpação abdominal, mucosas pálidas e diarreia aquosa com hematoquémia. Foi medicado inicialmente com maropitant (0.7mL SC) na consulta de urgência, tendo sido também receitado metronidazol (15mg/kg q12h PO) e sucralfato (500mg/cão q12h P) para tratamento em ambulatório.

Após consulta inicial no HEV-FMV, o caso #1 foi referenciado para seguimento no Serviço de Medicina Interna.

### **2.1.2. Caso # 2 – Baixote**

O caso #2 – Baixote macho inteiro – corretamente vacinado e desparasitado, foi referenciado para o HEV-FMV para hospitalização e seguimento por leishmaniose e enteropatia crónica após internamento prévio noutra hospital. A apresentação inicial (Tabela 2), já abordada pelo MV referente, incluía: melena, hematoquémia, vômito incoercível e diarreia crónica de origem mista (não sendo possível determinar a duração com base nos registos clínicos). Foi assumido que o quadro de enteropatia crónica e o diagnóstico de Leishmaniose não tinham ligação clínica, tendo sido já previamente medicado sem sucesso para uma presuntiva enteropatia crónica (sem registo da medicação efetuada previamente). Para além disso encontrava-se também medicado para a leishmaniose com antimoniato de meglumina e alopurinol. A ausência de associação inicial entre os sinais gastrointestinais e a leishmaniose reforça a importância da sua inclusão como diagnóstico diferencial.

O caso #2 tinha sido previamente submetido a uma ecografia abdominal no MV assistente, onde foi possível identificar apenas hipomotilidade gástrica (Tabela 3). Foi também realizada uma laparotomia exploratória e, concomitantemente, biópsias gástricas por gastrotomia. As biópsias gástricas foram submetidas para análise histopatológica, tendo sido identificada a presença de gastrite erosiva.

Análises realizadas previamente, no médico veterinário assistente, revelaram hipoalbuminémia (sem valores precisos disponíveis nos registos) e serologia

LEISCAN® positiva (Rz = 6.06). Adicionalmente, o caso também apresentava serologia para *Rickettsia* positiva (1/64).

À admissão no HEV-FMV, o exame físico revelou atrofia dos músculos mastigadores, dor abdominal, hipotermia (T = 37.6C), desidratação (7%), diminuição da propriocepção dos membros anteriores e locomoção anormal do joelho direito.

### **2.1.3. Caso #3 – Golden Retriever**

O caso #3 – Golden Retriever macho inteiro – corretamente vacinado e desparasitado, foi apresentado à consulta no HEV-FMV por diarreia crônica de intestino delgado com três meses de duração, sem quadro de vômito associado. Para além da sintomatologia gastrointestinal, o caso apresentava também historial de displasia da anca, tendo sido submetido a cirurgia ortopédica na anca esquerda aos 9 meses de idade.

O animal teria sido submetido a ecografia abdominal pré-referência (Tabela 3), a qual revelou apenas distensão das ansas intestinais. Para além disso, o quadro de diarreia crônica justificou a realização de uma gastroduodenoscopia pelo MV assistente, onde foram realizadas biópsias gástricas e duodenais. A análise histopatológica subsequente revelou a presença de gastrite hiperplásica e catarral, distensão das criptas e enterite linfoplasmocítica moderada com presença de inflamação aguda concomitante. Foi também observada distensão moderada do ducto quilífero em algumas vilosidades intestinais e deposição de material fibrilar entre as vilosidades. As biópsias realizadas foram também submetidas a pesquisa de *Helicobacter* por PCR, tendo-se revelado positiva.



**Figura 1. – Foto original: caso #3 na altura da primeira consulta com 26kg;**



**Figura 2. – Foto original: caso #3 na altura da primeira consulta – atrofia dos músculos mastigadores.**

Foi realizado previamente também um painel de alérgenos alimentares por serologia, o qual apontou para a presença de possível alergia/reação adversa alimentar a carne de vaca, leite e milho. Na altura da consulta inicial no HEV-FMV, o animal comia alimento caseiro (arroz e frango cozido com peru e fígado de porco), nunca tendo realizado ensaio alimentar com dieta hidrolisada ou fontes proteicas alternativas em exclusivo. As análises realizadas anteriormente revelavam anemia macrocítica (Htc = 28.9%, sem registo de reticulócitos), leucocitose com neutrofilia, ALT aumentada (713 U/L, 0-130 U/L) e FAS aumentada (324 U/L, 0-200 U/L).

Na altura da consulta no HEV-FMV, o caso #3 encontrava-se medicado pelo veterinário assistente com omeprazol (2mg/kg q24g PO), sucralfato (500mg/cão q8h PO), metilprednisolona (1.5mg/kg q24h PO) e metronidazol (15mg/kg q12h PO) sem evidência de melhoria clínica.

Ao exame físico inicial, apresentava uma condição corporal baixa (fig. 1), atrofia dos músculos mastigadores (fig. 2) e hepatomegalia à palpação abdominal.

Após consulta inicial no HEV-FMV, foi referenciado para seguimento no Serviço de Medicina Interna.

## **2.2. Resultados laboratoriais iniciais**

Todos os casos foram submetidos a análises complementares aquando do início do seu seguimento no Serviço de Medicina Interna (Tabela 4).

### **2.2.1. Caso #1 – Border Collie**

Nas análises realizadas após referência, as análises bioquímicas realizadas (Tabela 4), revelaram hipoalbuminémia e hiperproteinémia, sem outras alterações significativas. O hemograma realizado revelou anemia, leucocitose, neutrofilia com desvio à esquerda, trombocitopenia, anisocitose e policromasia. O rácio proteína-creatinina urinário (RPCU) revelou também proteinúria significativa.

Tendo em conta a exclusão prévia de outros diagnósticos diferenciais prováveis, como hipoadrenocorticismo e parasitismo intestinal, o facto de o caso ter acesso prolongado ao exterior e os resultados laboratoriais descritos, optou-se por submeter amostras sanguíneas para proteinograma e análise serológica para a leishmaniose. Considerando a idade do animal e o seu historial vacinal, causas intestinais de origem infecciosa como parvovirose também poderia explicar alguns dos sinais exibidos. No entanto, a natureza crónica da sintomatologia gastrointestinal tornou este diagnóstico muito improvável.

**Tabela 4 – Alterações laboratoriais identificadas após primeira consulta**

<b>Caso</b>	<b>Proteínas totais (g/dL)</b>	<b>Albumina (g/dL)</b>	<b>Hemograma</b>
<b>1</b>	<b>8.90</b> (5.0-7.5)	<b>2.10</b> (2.20-3.50)	Anemia; Leucocitose, Neutrofilia com desvio à esquerda; Trombocitopénia; Anisocitose; Policromasia.
<b>2</b>	<b>9.4</b> (5.2-8.2)	<b>1.07</b> (2.20-3.50)	Anemia fracamente regenerativa; Monocitose.
<b>3</b>	6.13 (5.00-7.50)	3.2 (2.2-3.50)	Anemia macrocítica; Leucocitose neutrofilia; Trombocitopenia
<b>Caso</b>	<b>RPCU</b>	<b>Densidade urinária</b>	<b>BUN (mg/dL)</b>
<b>1</b>	<b>2.21 (proteinúria significativa)</b>	>1050	28.5 (12-56)
<b>2</b>	<b>2.97 (proteinúria significativa)</b>	1045	<b>185.9</b> (12.0-56.0)
<b>3</b>	0.20 <sup>1</sup>	<b>1027<sup>1</sup></b>	<b>63.8</b> (12.0-56.0)

<sup>1</sup> Análise realizada durante tratamento com glucocorticoides

### **2.2.2. Caso #2 – Baixote**

No início da hospitalização, as análises bioquímicas realizadas evidenciaram hiperproteinémia, hipoalbuminémia marcada e urémia ligeira (Tabela 4). O hemograma realizado revelou a presença de anemia fracamente regenerativa e monocitose. Para além disso, o caso apresentava proteinúria significativa.

Tendo em conta o diagnóstico prévio de leishmaniose e as alterações analíticas observadas, efetuou-se no momento na hospitalização um proteinograma e análise serológica de leishmaniose.

Para despistar possível hipoadrenocorticismo, foi também realizado um teste de estimulação por hormona adrenocorticotrópica (ACTH), o qual foi negativo.

O caso foi então diagnosticado com leishmaniose classificada de acordo com a classificação internacional LeishVet de estadio III.

Tendo em conta a progressão de ambos os quadros exibidos, propôs-se, nesta altura, dois diagnósticos diferenciais mais prováveis: gastroenterite crónica secundária

leishmaniose ou gastroenterite crônica imunomediada. Para se poder diferenciar entre os dois, as biópsias previamente realizadas foram enviadas para realização de pesquisa de leishmania por PCR (DNAtech), a qual se revelou positiva.

### **2.2.3. Caso #3 – Golden Retriever**

Nas análises realizadas após referência ao Serviço de Medicina Interna, não foram observadas alterações bioquímicas exuberantes, apenas uma urémia discreta (Tabela 4). O hemograma revelou uma anemia macrocítica fracamente regenerativa, leucocitose com neutrofilia e trombocitopenia. A urémia ligeira e anemia fracamente regenerativa identificadas nesta fase foram associadas a possível sangramento digestivo, consistente com a enteropatia presente.

O caso apresentava também proteinúria incipiente (“borderline”) e urina moderadamente concentrada (Tabela 4). No entanto, estes dados não foram ligados a possível lesão ou incapacidade de concentrar urina uma vez que o caso se encontrava medicado com glucocorticoides na altura de recolha da amostra.

Tendo em conta a persistência dos sinais clínicos, em particular diarreia, apesar da medicação efetuada, privilegiou-se nesta altura o diagnóstico de enteropatia crônica com possível origem infecciosa (parasitária), alimentar (FRD) ou imunomediada (SRD) refratária à terapêutica (NRD).

Outras origens digestivas de doença como neoplasia difusa (linfoma de baixo grau de malignidade) foi excluída como sendo pouco provável, especialmente tendo em conta a idade do animal.

Numa tentativa de excluir parasitose intestinal crônica (ex: giardiose crônica), foram realizados esfregaço fecal e coprologia, os quais se revelaram negativos. Foi também instituído tratamento com febendazol (20mg/kg q24h PO) durante 5 dias consecutivos.

Numa tentativa de controlar os sinais gastrointestinais, presumivelmente de origem imunomediada, em adição à medicação previamente descrita, foi indicada a introdução de ciclosporina (100mg PO q12h) após exclusão de causas parasitárias. Foi também recomendada a transição para uma dieta caseira em exclusividade à base de pato e batata-doce.

Após a avaliação inicial, foi realizado também despiste de doenças transmitida por vetores (SNAP 4Dx – IDEXX) e análise serológica de leishmaniose.

### 2.3. Diagnósticos diferenciais iniciais

Tendo em conta os exames já realizados e o exame físico, foi estabelecida uma lista de diagnósticos diferenciais mais prováveis (Tabela 5), a qual motivou as análises realizadas posteriormente.

**Tabela 5 – Diagnósticos diferenciais por ordem de probabilidade**

Caso	Diagnósticos diferenciais					
1	Parasitose crónica	IPE		Colite granulomatosa	NRD	Linfoma
2	Pancreatite medicamentosa	HA	EC	Coagulopatia	NRD	Linfoma
3	Parasitose crónica	IPE		NRD	HA	Linfoma

IPE: Insuficiência pancreática exócrina; HA: hipoadrenocorticismo; NRD: *Non-responsive disease*

A insuficiência pancreática exócrina, após exclusão de possível presença de parasitose intestinal, foi privilegiada nos casos #1 e #3 devido à idade.

No caso #2, antes da introdução de imunossupressores e realização de PCR para deteção de *L. infantum*, foi considerada a hipótese de se tratar de uma enteropatia crónica idiopática (IRD). Tendo em conta a apresentação, foi também suspeitada a presença de uma pancreatite concomitante. Os diagnósticos diferenciais são explorados em maior detalhe na discussão.

### 2.4. Análises adicionais

Tendo em conta a natureza predominantemente gastrointestinal dos sinais clínicos exibidos, a cobalamina (vitamina B12) foi também avaliada nos casos #1 e #3 (Tabela 6). No caso #3 foi também medido o ácido fólico e cTLI (“Trypsin-like immunoreactivity”), não só para melhor caracterização da doença entérica presente como para exclusão de insuficiência pancreática exócrina.

**Tabela 6 – Análises adicionais realizadas na altura da referência**

Caso	Cobalamina sérica (ng/L)	Ácido fólico (ng/mL)	cTLI (ng/mL)
1	<b>724</b> (275-590)	8.2 (8.2-13.5)	<b>&gt;50</b>
3	<b>209.3</b> (275-590)	SR	SR

SR – Sem registo (presumido normal)

Foi detetada hipercobalaminemia no caso #1, aumento da cTLI e folatos séricos normais no limiar no inferior do limite de referência – Insuficiência pancreática exócrina

foi excluída definitivamente como diagnóstico diferencial. No caso #3 foi detetada hipocobalaminemia.

## 2.5. Proteinograma e serologias

Após referência para o Serviço de Medicina Interna, foi realizado um proteinograma e avaliação serológica para a leishmaniose em todos os casos (Tabela 6).

Os casos #1 (fig.3) e #2 apresentavam hipergamaglobulinemia marcada, um rácio Albumina/Globulina baixo e um Rz positivo muito alto ( $Rz >4$ ).

O caso #3 apresentava um proteinograma e rácio albumina/globulina presumivelmente normal (não existem registos disponíveis). No entanto, apresentava um Rz positivo alto ( $1,5 < Rz < 2$ ). Adicionalmente, o caso #3 também apresentava também uma serologia positiva para Rickettsia.

Foi então estabelecido um diagnóstico de leishmaniose visceral nos casos #1 e #3. Foram estadiados no estadio III e II, respetivamente.

**Tabela 7 – Proteinograma, rácio albumina/globulina e Rz na altura da referência para o Serviço de Medicina Interna**

Caso	Globulinas (g/dL)	Rácio Albumina/Globulina	Rz (LEISCAN®) na altura a referência
1	$\alpha_1 = 0.2$ (0.32-0.75) $\alpha_2 = 1.5$ (0.50-1.17) $\beta = 3.4$ (0.93-2.00) $\gamma = 2.8$ (0.30-1.02)	0.2 (0.6-1.1)	5.72 (positivo muito alto)
2	$\alpha_1 = 0.2$ (0.32-0.75) $\alpha_2 = 1.0$ (0.50-1.17) $\beta = 0.8$ (0.93-2.00) $\gamma = 2.8$ (0.30-1.02)	0.23 (0.6-1.1)	5.55 (positivo muito alto)
3	SR	SR	1.77 (positivo alto)

SR – Sem registo (presumido normal)

## 2.6. Seguimento

Após diagnóstico inicial, nos casos #1 e #3 foi iniciada terapêutica com antimoniato de meglumina (75-100mg/kg SC q24h ou 40-75mg/kg q12h BID durante 4-6 semanas) e alopurinol (10mg/kg PO q12h durante, pelo menos, 6-12 meses), de acordo com o

consenso *LeishVet* (Solano-Gallego et al 2011). O caso #2 continuou o protocolo instituído para tratamento de leishmaniose.

### 2.6.1. Caso #1 – Border Collie

Após 7 dias de tratamento para a leishmaniose, associado apenas a metronidazol (15mg/kg q12h PO), o estado geral do caso #1 estabilizou, tendo os titulares relatado cessar da diarreia e hematoquécia. Registrou-se nesta altura um episódio de vômito agudo, tratado de forma bem-sucedida com maropitant, que suscitou suspeita relativamente à presença de azotémia (possivelmente secundária à administração de antimoniato de meglumina) – nesta altura, contudo, os valores de creatinina e ureia encontravam-se dentro dos limites de referência. A dimetilarginina simétrica (SDMA) foi também medida, encontrando-se acima do limite de referência (18 µg/dL, 0-14µg/dL).

Após início do tratamento, o caso #1 desenvolveu lesões cutâneas no chanfro, com hipotricose e eritema, compatíveis com pênfigo medicamentoso induzido por alopurinol, o que suscitou a sua interrupção e introdução de Impromune®.

Seis meses após diagnóstico, tendo completado um ciclo de 28 dias de antimoniato de meglumina, o caso encontrava-se completamente estabilizado relativamente à sintomatologia gastrointestinal, tendo-se parado o metronidazol. Nesta altura, a proteinúria também se encontrava controlada, apresentando um RPCU normal. O título de anticorpos anti-leishmania, apesar de ter diminuído também ao longo deste período, manteve-se alto.

#### ELECTROFORESE DE PROTEINAS

Proteínas totais	9,6 (A) (B)	g/dL	5,5 - 7,5
Albumina	17,3 % 1,7	g/dL	41,0 - 56,0 2,26 - 4,31
Alfa 1	2,2 % 0,2	g/dL	5,9 - 9,8 0,32 - 0,75
Alfa 2	16,0 % 1,5	g/dL	9,0 - 15,2 0,50 - 1,17
Beta	34,9 % 3,4	g/dL	16,2 - 26,0 0,93 - 2,00
Gama	29,6 % 2,8	g/dL	7,0 - 13,3 0,30 - 1,02
Rel. Albumina/Globulina	0,2		0,6 - 1,1

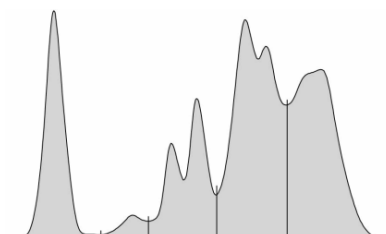


Figura 3 – Imagem retirada do arquivo GuruVet: proteinograma do caso #1 na altura do diagnóstico exibido gamopatia policlonal

### 2.6.2. Caso #2 – Baixote

O caso #2, durante a hospitalização, para além da medicação instituída anteriormente para a leishmaniose, foi medicado com prednisolona (0.5-1mg/kg PO q24h) e metronidazol (15mg/kg PO q12h) para os sintomas gastrointestinais ainda presentes. Foi introduzida uma dieta hidrolisada em exclusividade nesta altura (Purina HA®).

Foram realizadas duas ecografias durante o período de hospitalização. A primeira (26/03/2019) revelou esplenomegália e hepatomegalia com ecogenicidade mantida, pontuações hiperecogénicas na parede do intestino e pâncreas normodimensionado mas hipoeecogénico com reatividade mesentérica associada. A segunda (29/03/2019) relevou um quadro semelhante, mas com menor reatividade mesentérica, tendo-se registado também espessamento difuso da parede intestinal com camadas mantidas.

Ao longo da hospitalização desenvolveu também febre e dor lombar. As análises laboratoriais efetuadas revelaram leucocitose ( $26.5 \times 10^6/\mu\text{L}$ , 6-17), neutrofilia (18285/ $\mu\text{L}$ , 3000-11500) com desvio à esquerda (6890/ $\mu\text{L}$ , 0-300) e linfopenia (530/ $\mu\text{L}$ , 1000-48000). Os diagnósticos diferenciais propostos para a situação foram: pancreatite medicamentosa (possivelmente relacionada com antimonioato de meglumina), discospondilite e endocardite. Devido à suspeita de doença infecciosa foi instituída antibioterapia empírica com amoxicilina e ácido clavulânico. Tendo em conta a possibilidade de reação ao antimonioato de meglumina, a dosagem foi reduzida para 37.5mg/kg SC q12h.

Na altura da alta o caso apresentava-se estabilizado, com albumina normal (2.9 g/dL, 2.6-3.5), sem anemia e apenas com uma discreta neutrofilia (13259/ $\mu\text{L}$ , 3000-11500). Manteve medicação em ambulatório com alopurinol (10 mg/kg PO q12h), amoxicilina com ácido clavulânico (25mg/kg PO q12h), omeprazol (2mg/kg PO q12h), antimonioato de meglumina (37.5mg/kg SC q12h), prednisolona (0.5mg/kg PO q24h) e benazepril 0.5mg/kg PO q24h). Durante o internamento o caso foi também diagnosticado com insuficiência mitral e tricúspide (ACVIM B1).

Numa consulta de seguimento pouco depois da alta, o caso apresentava muito bom estado geral, um proteinograma normal e ausência completa de sinais gastrointestinais. As análises laboratoriais revelaram apenas urémia (95 mg/dL, 12.0-56.0) e anemia ligeira ( $5.18 \times 10^6/\mu\text{L}$ , 5.5-8.5). A proteinúria manteve-se, tendo sido aumentada a dose de benazepril para 1 mg/kg PO q24h. Nesta altura foi possível parar o tratamento com antimonioato de meglumina e reduzir a dose de prednisolona para 0.25mg/kg PO q72h. O tratamento com omeprazol e alopurinol manteve-se.

### **2.6.3. Caso #3 – Golden Retriever**

Para além do tratamento para a leishmaniose, o caso #3 foi também medicado com prednisolona (0.5mg/kg PO q24h), metronidazol (10mg/kg PO q12h) e omeprazol (2mg/kg PO q12h) após o diagnóstico, tendo-se suspenso a ciclosporina previamente instituída. Foi também efetuada transição de dieta caseira para dieta hidrolisada (Purina HA®). Após 17 dias de tratamento para a leishmaniose, os titulares relataram completo cessar da diarreia. A condição corporal do caso também melhorou e foi possível desmamar progressivamente a prednisolona pouco depois.

Apesar da normalização completa de todos os parâmetros analíticos, o caso manteve apetite caprichoso e emissão de fezes pastosas esporadicamente. Foi então recomendada a transição para dieta Hills Z/D e realizado doseamento de cortisol basal para despiste inicial de doença de hipoadrenocortisismo. O valor de cortisol basal obtido foi de 1.2 µg/dL (1.4-5µg/dL), o que levou à realização de um teste de estimulação por ACTH, que se revelou normal.

Registou-se também apenas um episódio de diarreia e vômito após parar completamente a prednisolona, o qual foi abordado de forma bem-sucedida com maropitant (2mg/kg q24h PO), omeprazol (1mg/kg q12h PO) e reintrodução temporária (3 dias) de prednisolona (0.5mg/kg q24h PO).

O caso desenvolveu também xantínúria ao longo do curso do tratamento com alopurinol, tendo-se introduzido Impromune® em substituição.

A 06/2018, o controlo serológico da leishmaniose foi negativo pela primeira vez, tendo-se suspenso o tratamento com Impromune® nessa altura.

## **2.7. Evolução clínica**

### **2.7.1. Caso #1 – Border Collie**

Cerca de 11 meses após iniciar tratamento para a leishmaniose, o caso #1 foi internado no HEV-FMV, exibindo sinais de glomerulonefrite, dermatite nodular (fig. 4) e uveíte (fig. 5). O animal também apresentava linfadenomegalia generalizada. Foram realizadas punções aspirativas de agulha fina em vários linfonodos, tendo a análise citológica subsequente revelado a presença de múltiplas formas amastigotas de *Leishmania infantum* (fig 6.). Foi então realizada uma serologia que revelou um Rz muito elevado (6.06). Nesta altura houve também um ressurgimento da sintomatologia gastrointestinal, incluindo hematoquémia. Uma dose baixa de prednisolona (0.5mg/kg q24h) foi introduzida sem melhoria aparente dos sinais clínicos.

Os parâmetros renais apresentavam-se também alterados, com creatinina a 2.109mg/dL (0.620-1.640 mg/dL) e ureia a 187.1 (12.0-56.0mg/dL), e proteinúria significativa. Tendo em conta a azotemia presente e a necessidade urgente de iniciar tratamento leishmanicida, optou-se por internamento para realizar fluidoterapia e administração de antimoniato de meglumina (100mg/kg SC 12q) com eventual transição para miltefosina. Nesta altura, surgiram também lesões a nível das junções mucocutâneas e cauda, compatíveis com vasculite. Para além do Impromune® já instituído, foi também iniciado tratamento com alopurinol. No entanto, a progressão clínica não foi favorável e os titulares optaram por eutanásia.



**Figura 4. – Foto original: dermatite nodular no caso #1 (círculo cor-de-laranja)**



Figura 5. – Foto original: uveíte no caso #1



Figura 6. – Foto original: citologia da PAAF realizada no linfonodo poplíteo do caso #1 - numerosas formas amastigotas de *L. infantum* no interior dos macrófagos (círculo cor-de-laranja).

### **2.7.2. Caso #2 – Baixote**

Cerca de 7 meses após hospitalização inicial, o caso foi novamente admitido para internamento no HEV-FMV por sinais gastrointestinais (vômito, diarreia, hematoquézia). Nesta altura foram também realizadas radiografias para despiste de corpo estranho, as quais não apresentaram sinais obstrutivos.

A análise serológica realizada revelou um Rz muito alto (5.5) e o proteinograma revelou hipergamaglobulinémia (1.9g/dL, 0.3-1.0g/dL). Após estabilização, o caso teve alta com Impromune®, metronidazol, sucralfato e febendazol.

No entanto, quase 1 ano após diagnóstico inicial de leishmaniose, o caso foi apresentado ao Serviço de Medicina Interna por anorexia, PU/PD e ulceração oral/gengival. As análises laboratoriais realizadas evidenciaram anemia regenerativa, hipoalbuminémia importante (1.4), hipergamaglobulinémia e proteinúria massiva (RPCU = 6). A análise serológica realizada revelou um Rz muito alto (5.61). O caso foi então diagnosticado com leishmaniose no estadio IV. Foram também realizadas análises aos fatores de coagulação (APTT e TP), os quais se apresentavam normais. Nos casos de proteinúria massiva e glomerulonefrite por deposição de complexos imunes na leishmaniose, está descrita também a administração de prednisolona (0.5-2mg/kg PO q24h) para redução da produção de anticorpos e, conseqüentemente, dos seus efeitos (Oliveira and Porto, 2021).

Considerando a disfunção renal e doença tubular, foi instituído tratamento leishmanicida com miltefosina (2mg/kg PO q24h, durante 28 dias). Não tendo havido evolução favorável, os titulares optaram por eutanásia.

### **2.7.3. Caso #3 – Golden Retriever**

Após seronegatividade inicial, as análises serológicas de controlo subsequentes também se revelaram negativas. A última serologia e proteinograma, realizados anteriormente (fig.7), não revelaram qualquer alteração, tal como os parâmetros analíticos gerais.

Atualmente, o caso encontra-se clinicamente normal (fig. 8), sem necessidade de medicação regular, fazendo prevenção contra a leishmaniose apenas com pipeta *spot-on* mensal. Entretanto, retomou também uma dieta comercial normal sem alterações gastrointestinais associadas.

#### ELECTROFORESE DE PROTEINAS

Proteinas totais	6,4	g/dL	5,5 - 7,5
Albumina	45,9 % 2,9	g/dL	41,0 - 56,0 2,26 - 4,31
Alfa 1	4,8 % 0,3	g/dL	5,9 - 9,8 0,32 - 0,75
Alfa 2	18,4 % 1,2	g/dL	9,0 - 15,2 0,50 - 1,17
Beta	20,2 % 1,3	g/dL	16,2 - 26,0 0,93 - 2,00
Gama	10,7 % 0,7	g/dL	7,0 - 13,3 0,30 - 1,02
Rel. Albumina/Globulina	0,85		0,6 - 1,1

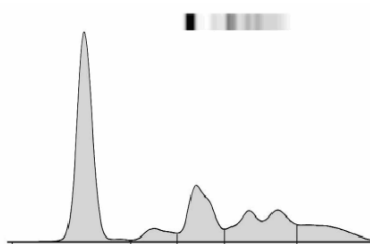


Figura 7. – Imagem retirada do arquivo GuruVet: proteinograma normal do caso #3 após seronegatividade



Figura 8 – Foto original: caso 3, com 34.5kg, após tratamento eficaz para a leishmaniose

### 3. Discussão

Esta série de casos ilustra que a infecção por *L. infantum* deve ser incluída nos diagnósticos diferenciais de enteropatias refratárias. Esta associação é particularmente evidente no caso #2, dado que a análise por PCR realizada nas biópsias se revelou

positiva. Nos outros dois casos a ligação é apenas presuntiva, mas provável, uma vez que os sinais gastrointestinais não melhoraram com tratamento convencional para enteropatia crónica, seguindo a progressão de outros indicadores da leishmaniose como Rz positivo.

A introdução de tratamento para leishmaniose permitiu baixar o CCECAI (Canine Inflammatory Bowel Disease Activity Index) de todos os casos (Tabela 7).

**Tabela 8. – CCECAI de cada caso aquando da apresentação de diferentes Rz**

<b>Caso</b>	<b>Rz</b>	<b>CCECAI</b>
<b>1</b>	5,72	12
	<5.72 <sup>1</sup>	1*
<b>2</b>	6,06	17
	5,61	8*
<b>3</b>	1,77	9
	0,11	0*

<sup>1</sup>Surge no registo clínico apenas com indicação de ter diminuído em relação ao valor anterior; \* Valores pós instituição de tratamento leishmanicida

No caso do caso #2, a sintomatologia gastrointestinal cessou completamente após diminuição do título de anticorpos, fortalecendo a ligação entre a infeção por *L. infantum* e a apresentação de enteropatia crónica exibida na altura do diagnóstico.

### **3.1. Diagnósticos diferenciais**

Tendo em conta o facto de todos os animais terem sido submetidos a ecografia antes da referência, alguns diagnósticos diferenciais podem ser excluídos à partida como obstrução parcial ou total por corpo estranho, a maioria das neoplasias sólidas (leiomioma, adenocarcinoma intestinal, sarcomas), invaginação intestinal, eversão cecal e estenose do piloro. Outros diagnósticos diferenciais, como doença renal crónica e doença hepática, foram excluídos inicialmente também devido aos sinais imagiológicos e analíticos.

Os casos #1 e #3 também não apresentam historial compatível com doença gastrointestinal associada a medicação, pelo que nesses casos esse diagnóstico diferencial foi excluído à partida. No caso #2 durante o período de internamento foi também ponderada a ligação entre os sinais clínicos gastrointestinais e a administração de antimoniato de meglumina.

### **3.1.1. Parasitose intestinal**

Na presença de sinais gastrointestinais, quer agudos quer crónicos, é importante despistar a possível presença de parasitas. Helminthes como *Ancylostoma caninum* ou *Toxocara canis* podem dar origem a inflamação gastrointestinal, com sinais semelhantes descritos aos dos casos apresentados.

Protozoários como *Giardia sp.* também podem dar origem a diarreia do intestino delgado, má-absorção e perda de peso. A Giardiose é, por vezes, de difícil diagnóstico uma vez que a excreção de oocistos é intermitente, requerendo flutuação com sulfato de zinco com amostras de fezes de 3-5 dias para obter uma sensibilidade de 95% - existem também kits ELISA para deteção de antígenos de *Giardia* com sensibilidade ligeiramente inferior (~90%) (ESCCAP, 2018).

Tanto *Giardia* como os helmintes descritos apenas podem ser definitivamente excluídos como diagnóstico diferencial após tratamento com febendazol (20-50mg/kg PO q12-24h durante 3 a 5 dias). A reinfeção é muito comum no caso de giardiose, sendo por vezes necessário repetir o tratamento. Em cachorros, o tratamento para nemátodes com pamoato de pirantel é preferível a febendazol por apresentar maior segurança e rapidez de atuação. Outros parasitas intestinais, como *Dipylidium caninum*, sendo uma ténia, requerem tratamento com praziquantel (5mg/kg PO) e tratamento adequado para controlo de pulgas (ESCCAP, 2021).

Uma desparasitação correta é então essencial para excluir parasitose intestinal como diagnóstico diferencial, tendo sido assegurada no seguimento de todos os casos descritos.

### **3.1.2. Doenças infecciosas**

#### **3.1.2.1. Colite granulomatosa associada a *Escherichia coli***

A colite granulomatosa, anteriormente conhecida por colite ulcerativa histiocítica, está associada a infeção intracelular por *E. coli*. Ocorre mais frequentemente em Boxers, no entanto, já foi observada noutras raças, incluindo no Border Collie (Simpson et al 2006).

Esta doença tem quase expressão exclusiva no cólon, causando sintomatologia de colite com diarreia mucoide, hematoquézia e tenesmo. Geralmente, a doença estabelece-se antes dos 2 anos de idade e, embora o exame físico geralmente esteja normal nestes animais, casos mais graves podem apresentar perda de peso e inapetência (Simpson et al. 2006).

A colite granulomatosa não responde a tratamento tradicional para EC (metronidazol, sulfasalazina, glucocorticóides), sendo necessário instituir antibioterapia com enrofloxacina (5mg/kg PO q24h durante 4 a 8 semanas) ou uma associação de enrofloxacina com amoxicilina (20mg/kg PO q12h) e metronidazol (10-15 mg/kg PO q12h). O diagnóstico é feito pela realização de “Fluorescence In Situ Hybridization” (FISH) em biópsias recolhidas ou através de coloração PAS (“Periodic-Acid-Shiff”), a qual revela macrófagos repletos de material PAS-positivo em animais com colite granulomatosa (Simpson et al 2006).

Tendo em conta que a colite granulomatosa é refratária ao tratamento convencional de EC e se estabelece em animais jovens, torna-se um diagnóstico diferencial interessante para o caso #1. No entanto, tendo em consideração a resposta ao tratamento para a leishmaniose e o facto de o cão apresentar também sinais de envolvimento do intestino delgado, uma manifestação muito pouco comum da doença (Simpson et al 2006), torna-se menos provável.

### **3.1.2.2. Infeções bacterianas**

*Campylobacter spp* está presente nas fezes de até 100% dos animais saudáveis ou com diarreia. Apesar de todas as espécies serem consideradas patogénicas no ser humano, a presença ubiqüitária de *Campylobacter* nas fezes dos animais de companhia leva a crer que se trata sobretudo de um comensal em cães e gatos. Existe evidência experimental de que *Campylobacter jejuni* causa enterocolite ulcerativa em cães, no entanto, parece surgir apenas associada a coinfeções virais, sendo a maioria das infeções geralmente autolimitante (Ettinger et al. 2017).

Os sinais em animais sintomáticos incluem diarreia aquosa mucóide, diarreia hemorrágica, anorexia, vômito e tenesmo. Esta infeção surge por vezes também associada a febre. Em casos graves que requeiram medicação, a antibioterapia instituída é geralmente eritromicina (20 mg/kg PO q8h). O prognóstico geralmente é bom, apesar de poder ocorrer reinfeção, especialmente por *Campylobacter upsaliensis* (Ettinger et al. 2017).

*Salmonella spp.* pode também provocar sintomatologia gastrointestinal crónica, podendo dar origem a: estatuto portador transitório, gastroenterite aguda, bacteriémia e endotoxémia ou estado portador. A presença de sintomatologia é mais comum em animais jovens ou imunodeprimidos, com afeções concomitantes (parasitismo intestinal), sendo o estado portador a modalidade de infeção mais comum (Ettinger et al. 2017).

Em animais saudáveis ou estáveis com apenas diarreia não está recomendada a antibioterapia uma vez que pode induzir resistências e/ou um estado portador persistente no animal. Apenas em animais com diarreia hemorrágica grave, depressão, febre, choque ou septicémia, é que está recomendada antibioterapia parenteral com fluoroquinolonas (mínimo 10 dias). O diagnóstico pode ser difícil tendo em conta que 30% dos cães saudáveis apresentam *Salmonella* nas fezes. A identificação de *Salmonella* pode ser feita por cultura, por PCR ou por FISH (Dossin, 2011).

### **3.1.3. Dieta**

#### **3.1.3.1. Reação adversa ao alimento**

Dada a cronicidade dos sinais gastrointestinais exibidos apesar de tratamento sintomático, a probabilidade de se deverem, nos três casos apresentados, a erros alimentares ou intolerância alimentar torna-se remota. No entanto, podem surgir outras situações ligadas à dieta que justifiquem os sinais exibidos, incluindo reações adversas. Esta afeção pode dar origem a diarreia de intestino delgado, grosso ou mista, hematoquémia, melena e vômito. A manifestação mais comum de reação adversa alimentar, no entanto, é prurido, o qual não fazia parte das queixas iniciais de nenhum dos animais (Ettinger et al. 2017). Para além disso, a hipersensibilidade alimentar não está normalmente associada ao desenvolvimento de infiltração linfoplasmocítica (Rosser 2013).

O paradigma atual da alergia/reação adversa alimentar em animais propõe uma variedade de mecanismos para o seu desenvolvimento, incluindo a presença de barreira mucosa inadequada e alterações da microbiota e do sistema imunitário local. Estes mecanismos apontam tanto para a possível presença de uma componente genética de base, como ligação a um possível ataque inicial, tanto à mucosa como ao sistema imunitário, com outra etiologia (e.g. enterite viral) (Ettinger et al. 2017).

Certos eventos podem então desencadear respostas imunitárias descontroladas contra antígenos alimentares ou da microbiota comensal que envolvem mecanismos de hipersensibilidade tipo I (mediada por IgE, imediata), do tipo III (mediada por imunocomplexos) ou do tipo IV (Rosser 2013).

Existem várias doenças do foro gastrointestinal que também respondem a modificação alimentar para além de reação adversa alimentar, tais como gastrite crónica, insuficiência pancreática exócrina, refluxo gastroesofágico, linfangiectasia, enteropatia crónica, pancreatite, *shunt* porto-sistémico, sobrecrescimento bacteriano ou

disbiose e enteropatia responsiva ao glúten (só registada no Setter Irlandês) (Ettinger et al. 2017).

O diagnóstico definitivo é feito através de um teste de exclusão seguido de um teste de provocação. Inicialmente, durante a fase de exclusão, o alimento fornecido em exclusividade (mínimo 8 semanas) deve ser uma dieta hidrolisada comercial ou alimento caseiro com uma proteína com a qual o animal nunca tenha contactado. Após este período, caso se tenha atingido remissão dos sinais, é oferecido ao animal uma dieta comercial normal (teste de provocação) para demonstrar recaída e confirmar diagnóstico. Depois desta fase, caso haja confirmação do diagnóstico, podem-se seguir novos testes de eliminação e provocação para tentar determinar os alimentos que induzem reação de hipersensibilidade. Após estabelecido quais os alimentos “seguros” pode-se iniciar a fase de manutenção (Rosser 2013).

Nos casos apresentados, todos os indivíduos foram submetidos a testes com dieta hidrolisada ou alimento caseiro com “novel protein”, não tendo nenhum entrado em remissão.

#### **3.1.4. Disbiose**

Historicamente, o termo SIBO (“small intestinal bacterial overgrowth”) idiopático foi utilizado para descrever a enteropatia idiopática responsiva a antibióticos (ARD) presente sobretudo nos Pastores Alemães e outras raças de grande porte. O verdadeiro sobrecrescimento bacteriano (SIBO) é definido apenas como um aumento no número absoluto de bactérias na porção superior do intestino delgado em jejum. No entanto, contagens  $\geq 10^5$  UFC/mL podem surgir em animais assintomáticos (Ettinger et al. 2017).

Atualmente, o termo disbiose é preferível a SIBO, podendo esta ocorrer secundariamente a doenças que aumentam a quantidade de substrato disponível para a microbiota no lúmen intestinal, doenças que afetam a motilidade intestinal e *clearance* bacteriana (obstrução) e disfunção morfológica ou funcional do intestino (IPE). No entanto, certos mecanismos levam a sobrecrescimento bacteriano secundariamente sem que se consiga estabelecer ligação ao desenvolvimento de sinais clínicos, estando a sintomatologia associada à afeção subjacente (Rutgers et al. 1995).

Alterações das bactérias intestinais podem ocorrer na microbiota luminal ou na aderente à mucosa. Alterações associadas a inflamação intestinal geralmente são essenciais para a patogénese da disbiose da microbiota aderente à mucosa (Ziese and Suchodolski, 2021). A má-digestão (IPE) e a antibioterapia, por outro lado, estão mais frequentemente associadas a alterações da microbiota luminal (Ziese and Suchodolski, 2021).

A acloridria associada ao uso de inibidores de bombas de prótons pode induzir disbiose mas não se correlaciona com desenvolvimento de doença. Por outro lado, o disbiose pode também surgir secundariamente a IPE, sendo os sinais semelhantes à ARD, com diarreia como sinal principal. Um verdadeiro aumento no número de UFC no intestino delgado pode levar a má-absorção e diarreia através de vários mecanismos: competição por nutrientes, produção de nutrientes que induzem diarreia (ácidos biliares desconjugados, ácidos gordos hidroxilados) e lesões diretas da bordadura em escova (Rutgers et al. 1995).

Em cães com ARD o diagnóstico é feito sobretudo por exclusão e pela resposta ao tratamento. Apesar dos sinais clínicos de disbiose poderem ser controlados com antibioterapia, o tratamento deve ser dirigido à causa primária (IPE, obstrução, etc) (Rutgers et al. 1995).

A modulação da dieta melhora a digestibilidade e leva à redução do substrato disponível para crescimento bacteriano (Ziese and Suchodolski, 2021). No entanto, nos casos apresentados, nunca houve resposta positiva a alteração da dieta (Ziese and Suchodolski, 2021). A antibioterapia com metronidazol pode reduzir a carga microbiana total e levar a menor estimulação antigénica, mas causa alterações a longo prazo na microbiota e pode resultar em sobrecrecimento bacteriano após cessar da antibioterapia (Ziese and Suchodolski, 2021). Não se identificou causa secundária para disbiose nos casos apresentados para além da inflamação presente e também não houve resposta ao metronidazol.

### **3.1.5. Linfangiectasia**

A linfangiectasia é caracterizada como dilatação e disfunção marcada dos vasos linfáticos intestinais. Os ductos quilíferos anormais sofrem ruptura facilmente, libertando linfa para o lúmen intestinal. Surge então uma PLE que culmina em hipoproteïnemia. A perda de linfócitos pelo extravasamento da linfa pode também levar a imunodeficiência, a qual torna os cães afetados suscetíveis a inflamação e neoplasias (Ettinger et al. 2017).

A linfangiectasia pode ser uma afeção primária (associada a alterações generalizadas na estrutura dos vasos linfáticos) ou surgir secundariamente a obstrução ou infiltração de vasos linfáticos por inflamação, fibrose ou processo neoplásico, obstrução do ducto torácico, insuficiência cardíaca direita ou tamponamento cardíaco.

Os sinais clínicos de linfangiectasia incluem perda de peso, esteatorreia, perda de peso, polifagia ou anorexia, vômito e letargia, apresentando assim sinais compatíveis

também com EC. Em casos de hipoalbuminemia grave, pode-se também desenvolver ascite ou edema periférico (Ettinger et al. 2017).

As análises laboratoriais realizadas geralmente revelam panhipoproteinemia, hipocolesterolemia, linfopenia, hipomagnesiemia e hipocalcemia. À ecografia são também frequentemente identificadas estriações hiperecogênicas na mucosa, mas a especificidade deste sinal não é conhecida. Estudos endoscópicos geralmente permitem a observação de exsudado leitoso no lúmen intestinal ou gotículas lipídicas – as características macroscópicas visualizadas endoscopicamente permitem fortalecer a suspeita clínica, mas são necessárias biópsias *full-thickness* para confirmação do diagnóstico. A verdadeira linfangiectasia tem que ser distinguida da dilatação pós-prandial normal dos quilíferos e da dilatação secundária geralmente observada na EC.

O tratamento da linfangiectasia secundária requer identificação e tratamento da causa subjacente (e.g. remoção cirúrgica de massas, pericardiectomia ou pericardiocentese, etc). O tratamento da linfangiectasia primária, contudo, apresenta alguma sobreposição com o da EC, sendo os glucocorticoides e o manejo alimentar as estratégias mais importantes (Ettinger et al. 2017).

São utilizadas doses anti-inflamatórias de glucocorticoides (prednisolona 0.5-1.0mg/kg PO q12h, desmamada lentamente se possível), especialmente na presença concomitante de linfangite, lipogranulomas e/ou infiltrado linfoplasmocítico. A dieta preferencial é baixa em gordura, com elevada densidade calórica e altamente digerível. É também aconselhada a suplementação com vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K). No caso de existirem derrames ou edema é aconselhada a implementação de diuréticos, sendo a associação de furosemida e espironolactona a mais recomendada (Ettinger et al. 2017).

A resposta ao tratamento é imprevisível mas é possível alcançar-se períodos de remissão de meses a vários anos. O prognóstico, contudo, é mau, uma vez que todos os animais acabam por sucumbir a diarreia incontrolável, derrames e má-nutrição (Ettinger et al. 2017).

Nos casos apresentados, nenhuma das análises histopatológicas referiu a possível presença de linfangiectasia ou mesmo dilatação dos ductos quilíferos, sendo este diagnóstico pouco provável.

### **3.1.6. Linfoma gastrointestinal**

O linfoma gastrointestinal ou linfoma digestivo é caracterizado por infiltração da mucosa, submucosa e/ou do epitélio intestinal por linfócitos neoplásticos. Microscopicamente, estas células podem infiltrar o epitélio ou penetrar em profundidade,

afetando camadas musculares subjacentes e linfonodos mesentéricos. A apresentação pode ser focal, que geralmente está associada à formação de massas e pode levar a obstrução, ou difusa, que geralmente leva a PLE (Ettinger et al. 2017).

O linfoma gastrointestinal em cães surge mais frequentemente em animais de meia-idade ou idosos. A sintomatologia mais comum envolve perda de peso, anorexia, diarreia crônica, hematemese, melena e, por vezes, dor à palpação abdominal. A apresentação clínica do linfoma gastrointestinal é então muito semelhante a EC (Ettinger et al. 2017).

As análises hematológicas de cães com linfoma gastrointestinal geralmente revelam anemia normocítica normocrômica não regenerativa ou microcítica e hipocrômica. Nas análises bioquímicas, estando presente uma forma difusa de linfoma e PLE, pode-se observar panhipoproteinemia. No entanto, ocasionalmente, linfoma de células B pode causar hiperglobulinemia por gamapatia monoclonal (Ettinger et al. 2017).

À semelhança da EC, o linfoma gastrointestinal também pode dar origem a redução da cobalamina e ácido fólico circulantes, secundariamente a má absorção ou consumo de ácido fólico pelas células tumorais. A hipovitaminose D também pode surgir.

O estudo ecográfico da cavidade abdominal pode revelar espessamento das camadas do intestino e perda de distinção entre camadas, o que ocorre menos frequentemente na EC. Também pode ocorrer linfadenopatia mesentérica por infiltração neoplásica ou por hiperplasia reacional devida à inflamação. Endoscopicamente também não é possível distinguir visualmente linfoma de EC, sendo sempre necessária a realização de biópsias – biópsias *full-thickness* obtidas cirurgicamente são preferíveis a biópsias obtidas por endoscopia. No entanto, dependendo do estado geral do animal, este pode não estar em condições de ser submetido a uma intervenção mais invasiva (Ettinger et al. 2017).

Existem análises acessórias que, independentemente do método de biópsia, permitem fenotipar as linhas celulares presentes, possibilitado a distinção entre EC e linfoma. Análises de imunohistoquímica e imunofenotipagem permitem também diferenciar em linfoma de células B e células T (Rao 2010).

A PARR (“PCR for Antigen Receptor Rearrangements”) é um ensaio de clonalidade que permite distinguir células linfoides neoplásicas de inflamatórias. As neoplasias linfoides são geralmente expansões monoclonais de células linfóides malignas, enquanto células linfóides inflamatórias tendem a ser policlonais (Ettinger et al. 2017).

O tratamento em cães envolve prednisolona e clorambucilo. Independentemente do protocolo terapêutico, no entanto, o prognóstico é mau, podendo a sobrevida variar entre 17 dias e 29 meses, dependendo da linhagem celular envolvida (Ettinger et al. 2017).

Em nenhum dos casos as biópsias foram submetidas para teste de clonalidade ou imunohistoquímica, não sendo possível excluir definitivamente a possibilidade de se tratar de linfoma gastrointestinal. No entanto, a resposta a tratamento leishmanicida em todos os animais e a ausência de aspeto ecográfico que levantasse fortes suspeitas, este diagnóstico torna-se improvável.

### **3.1.7. EC não responsiva a tratamento (NRD)**

Enteropatia refratária ao tratamento é difícil de identificar inequivocamente. Um estudo (Benvenuti et al. 2021) identifica a taxa de não-resposta entre 9-11%, com baixa condição corporal, hipoalbuminémia e dilatação dos ductos quilíferos como fatores preditores para ausência de resposta ao tratamento. No entanto, alguns animais que aparentam ser não-responsivos ao tratamento convencional (dieta, antibioterapia e glucocorticoides) podem responder a outros imunomoduladores (Masashi et al. 2006). Existem também estudos que mostram que certos cães diagnosticados com NRD respondem a transplantes fecais (Igarashi et al. 2014, Berlanda et al. 2010).

Como em muitos casos, incluindo os que aqui foram reunidos, não é estudada a clonalidade das células inflamatórias presentes, alguns animais diagnosticados com NRD podem ter linfoma gastrointestinal não detetado (Benvenuti et al. 2021). A dilatação dos ductos quilíferos frequentemente encontrada na NRD aponta também para a possibilidade de se tratar de linfangiectasia.

Tendo em conta a resposta positiva a tratamento leishmanicida torna-se improvável qualquer um dos casos se tratar de verdadeira NRD associada a infeção fortuita por *L. infantum*.

### **3.1.8. Causas extraintestinais:**

#### **3.1.8.1. Insuficiência pancreática exócrina (IPE) e obstrução do ducto pancreático**

Em cães, as causas mais comuns de IPE são pancreatite crónica e atrofia acinar pancreática (AAP). AAP está quase exclusivamente descrita em Pastores Alemães, Rough Collies e Eurasians. A obstrução do ducto pancreático por tumor ou lesão cirúrgica também pode ocorrer raramente (Dossin, 2011).

A IPE é uma afeção caracterizada por diminuição (cerca de 90%) de produção ou libertação de enzimas produzidas no pâncreas exócrino. Dada a insuficiência enzimática presente, a digestão e, conseqüentemente, a absorção de nutrientes fica fortemente comprometida nos animais afetados. A acumulação subsequente de nutrientes não digeridos no lúmen intestinal leva a diarreia e proliferação bacteriana (SIBO secundário). Pensa-se que a ausência de fatores tróficos geralmente produzidos pelo pâncreas levem também a desregulação da mucosa intestinal, contribuindo também para o fenómeno de má-absorção (Dossin, 2011).

A apresentação clínica mais frequente de IPE inclui a emissão de fezes volumosas pouco moldadas (sendo diarreia aquosa pouco frequente), esteatorreia, borboríngos, flatulência e perda de peso apesar de polifagia. A coprofagia e picacismo também podem estar presentes. A vômito, melena e hematoquécia não estão geralmente associadas a IPE (Ettinger et al. 2017).

A medição de “canine Trypsin-like immunoreactivity” (cTLI) sérica é o teste de eleição para diagnóstico de IPE nos cães. Cães com IPE apresentam valores de cTLI muito diminuídos, podendo variar entre indetectáveis e 2.5 µg/L. Este limite de referência permite garantir elevada sensibilidade e especificidade para diagnóstico de cTLI. O tratamento, geralmente, envolve substituição enzimática para a vida (Dossin, 2011).

Dois casos (#1 e #3) foram testados para possível IPE, estando os resultados discutidos mais à frente, na secção “Folatos, cobalamina, cTLI”:

### **3.1.8.2. Pancreatite**

A apresentação clínica de pancreatite pode ser muito variável. Muitos animais, especialmente aqueles com pancreatite crónica, podem ser assintomáticos. A apresentação clássica de pancreatite, no entanto, é muito inespecífica e inclui vômito, letargia, dor abdominal, anorexia/hiporexia e desidratação. Alguns cães podem apresentar também diarreia e febre. Casos mais graves podem desenvolver complicações sistémicas como lesão renal, encefalopatia pancreática e diátese hemorrágica (Bostrom et al. 2013).

Os parâmetros analíticos são muito inespecíficos, sendo o teste de eleição para diagnóstico de pancreatite é “canine Pancreatic Lipase Immunoreactivity” (cPLI). A sensibilidade deste teste depende da gravidade da pancreatite, apresentando cerca de 80% de sensibilidade para pancreatite aguda grave e 60% para pancreatite moderada (Trivedi et al. 2011).

O tratamento de pancreatite inclui sobretudo tratamento de suporte com fluidoterapia agressiva, analgesia e anti-eméticos. Em qualquer caso de pancreatite, no

entanto, é importante investigar a existência de uma causa subjacente, incluindo despistar anomalias analíticas como hipercalcemia e hipertrigliceridemia. O desenvolvimento de pancreatite pode também estar ligado a uma grande variedade de medicações, sendo necessário considerar o historial médico do animal cuidadosamente (Bostrom et al. 2013).

A presença de pancreatite concomitante ao quadro clínico gastrointestinal exibido em todos os casos é possível, mas tendo em conta a terapêutica de suporte instituída e a falta de resposta, torna-se improvável que seja a causa única da sintomatologia exibida.

### **3.1.8.3. Hipoadrenocorticism**

O hipoadrenocorticism (HA) surge mais frequentemente como uma deficiência primária na produção de glucocorticoides e mineralocorticoides. A etiologia mais comum é a destruição imunomediada do córtex adrenal. O hipoadrenocorticism secundário, por outro lado, surge associado a doença hipofisária, que causa deficiência de hormona adrenocorticotrófica (ACTH). O HA é mais frequentemente diagnosticado em cães jovens (3-4 anos), sendo mais comum em fêmeas e em raças específicas (Golden Retriever, Yorkshire Terrier, American Pitbull Terrier) (Schofield et al. 2021).

Os sinais clínicos mais comuns são vômito (associado ou não a diarreia), depressão, letargia, fraqueza muscular, dor abdominal e PU/PD. Apesar de hematómese, melena e hematoquécia estarem tradicionalmente associados a HA, cães com manifestações gastrointestinais não relacionadas com HA apresentam mais frequentemente estes sinais. Ao exame físico, estes animais podem também apresentar hipotensão, devido à hipovolémia e deficiência de glucocorticoides, e bradicardia, associada a hipercalcemia (Schofield et al. 2021).

Os sinais analíticos mais comuns no hipoadrenocorticism são hipercaliémia e hiponatremia (cerca de >80% dos cães). O rácio Na:K com um *cut-off* de 27 apresenta uma sensibilidade e especificidade de cerca de 95%. A hiponatremia surge em sequência de deficiência de aldosterona, levando à perda de sódio pela urina. O sódio, sendo um agente osmótico, induz diurese osmótica, o que explica a poliúria observada nos animais afetados e a consequente polidipsia compensatória. É importante notar, no entanto, que um rácio Na:K baixo pode também estar associado a salmonelose e tricurirose (pseudo-hipoadrenocorticism) (Schofield et al. 2021).

A deficiência em glucocorticoides, por outro lado, explica alterações como neutropenia, linfocitose e eosinofilia. Uma contagem de linfócitos total superior a 2000 cels/ $\mu$ L permite obter uma sensibilidade de 58% e uma especificidade de 85%. O teste

de eleição para diagnóstico de hipoadrenocorticismo é, no entanto, o teste de estimulação com ACTH. O tratamento implica suplementação com glucocorticóides e mineralocorticóides para toda a vida (Schofield et al. 2021).

Em todos os casos, foi realizado o despiste de HA, tendo havido uma resposta adequada à estimulação com ACTH em todos.

### **3.2. Apresentação e sinais clássicos de leishmaniose**

Todos os casos apresentavam, ao exame físico, sinais clínicos frequentemente associados a leishmaniose (Solano-Gallego et al. 2009) como atrofia dos músculos mastigadores (casos #2 e #3), baixa condição corporal (todos os casos), palidez das mucosas (casos #1 e 2), letargia (casos #1 e #3) e hepatomegalia (caso #3).

Analiticamente, os casos #1 e #2 apresentavam hiperproteinémia, hipoalbuminémia, hiperglobulinémia e diminuição do rácio albumina-globulina. Estas são as alterações bioquímicas mais frequentemente associadas a cães com leishmaniose clínica. É particularmente frequente encontrar gamapatia policlonal, sendo a hiperglobulinemia beta policlonal a menos comum. Outros sinais como anemia (presente em todos os casos), assim como leucocitose e trombocitopenia (casos #1 e #3) também são comuns (Solano-Gallego et al 2011).

Os casos #1 e #2 apresentavam também alterações nos parâmetros renais e RPCU compatíveis com leishmaniose ativa. A proteinúria, tal como a uveíte presente no caso #1, está muito frequentemente presente devido à formação de imunocomplexos, podendo, com a progressão da doença desenvolver-se também síndrome nefrótico (Sykes et al. 2013).

Outros sinais como elevação das enzimas hepáticas e hepatomegalia (caso #3) também fazem parte do quadro clínico de leishmaniose (Solano-Gallego et al. 2011).

### **3.3. Sinais imagiológicos**

As ecografias realizadas durante o período de hospitalização do caso #2 revelaram espessamento das ansas intestinais com camadas mantidas pontuação hiperecogénica, esplenomegalia e hepatomegalia. Para além disso foi observada também uma diminuição da ecogenicidade pancreática, levantando a suspeita da presença de uma pancreatite concomitante – foi realizada avaliação da atividade da DGGR-Lipase em seguimento da ecografia, tendo sido obtido o valor de 133U/L. Utilizando o limite superior de 120 U/L, esta análise tem uma especificidade reduzida (Trivedi et al. 2011), tendo sido a hipótese de pancreatite considerada improvável na altura.

É importante notar, no entanto, que a presença de amastigotas de *Leishmania infantum* no pâncreas já foi previamente descrita. Para além disso, uma das apresentações mais raras de leishmaniose em cães inclui pancreatite aguda hemorrágica (Carroasco et al. 1997).

A esplenomegalia observada no caso #2 (tanto à ecografia como na radiografia – fig 9) é consistente com infeção por *Leishmania*, que adquire um caráter progressivo no baço com o desenvolvimento da doença, levando à destruição da arquitetura da polpa branca e substituição da polpa vermelha por plasmócitos. Ecograficamente, o baço de animais afetados com leishmaniose visceral pode ter uma variedade de apresentações, incluindo “favo-de-mel”, marmoreado ou rendilhado (“moth-eaten”), estando estas duas últimas ecotexturas associadas a infeção moderada a grave (Hermida et al. 2018).



**Figura 9 – Imagem retirada do arquivo GuruVet: radiografia realizada para despiste de corpo estranho no caso #2. Sem sinais obstructivos mas com esplenomegália evidente (seta cor-de-laranja).**

Em contraste com o baço, onde a infeção é progressiva, no fígado de cães afetados por leishmaniose, há algum controlo da doença. Em alguns casos, pode não haver alteração da arquitetura hepática excetuando a presença de macrófagos isolados ou em grupos nos capilares sinusoides. Mais frequentemente, surge infiltração granulomatosa e piogranulomatosa do parênquima hepático, especialmente em zonas periportais. Em situações esporádicas mais graves pode surgir fibrose periportal com

infiltração linfoplasmocítica marcada e invasão dos capilares sinusoides por plasmócitos e linfócitos (Rallis et al. 2005).

Os sinais ecográficos intestinais são compatíveis com enteropatia crônica apesar de a espessura da parede intestinal não ser considerada específica ou sensível para diagnóstico de EC. A maioria dos cães com infiltrados inflamatórios no trato gastrointestinal apresentam uma parede intestinal com arquitetura mantida, o que é consistente com o verificado no caso #2. Estrias ou pontuação hiperecogênicas na mucosa intestinal podem estar associadas a inflamação ou linfangiectasia, com dilatação dos ductos quilíferos (Gaschen and Kircher 2007).

### **3.4. Helicobacter**

As biópsias efetuadas no caso #3 foram também submetidas para pesquisa de *Helicobacter spp.* por PCR, a qual se revelou positiva. O impacto de *Helicobacter spp.* neste quadro é questionável. Há uma elevada percentagem de animais saudáveis (67%-100%) que apresentam *Helicobacter spp.* no trato digestivo, em particular no estômago. Os animais de companhia podem ser portadores de várias espécies de *Helicobacter spp.*, inclusivamente *H. pylori*, a espécie mais patogénica em seres humanos. No entanto, as espécies mais comumente relatadas em cães são *H. bizzozeronii* e *H. salomonis*, as quais correspondem a espécies de maiores dimensões que não aderem ao epitélio digestivo, colonizando o muco e as glândulas gástricas (Ettinger et al. 2017). Estas espécies são distintas das espécies enterohepáticas que colonizam o intestino delgado distal e o cólon. Espécies enterohepáticas como *H. hepaticus*, em seres humanos, foram inicialmente ligadas a lesões hepáticas, no entanto, colonizam primariamente o ceco e o cólon, podendo causar inflamação intestinal crônica grave, semelhante a Doença de Crohn em seres humanos e colite ulcerativa (Neiger and Simpson 2000).

Vários estudos indicam que cães infetados com *Helicobacter spp.* apresentam degenerescência glandular gástrica, anticorpos *anti-Helicobacter* circulantes e hiperplasia linfoide variável. No entanto, a função secretória gástrica e o grau de inflamação mononuclear são semelhantes aos de cães saudáveis. Para além disso, apesar de alguns animais apresentarem gastrite associada a este tipo de colonização bacteriana, a infeção por *Helicobacter* em animais de companhia não está associada a úlceras ou neoplasias gástricas, alterações na gastrina sérica ou hipersecreção de ácido gástrico (Neiger and Simpson 2000).

A limitada resposta inflamatória e ausência de sinais clínicos na maioria de cães infetados com espécies não-pylori de *Helicobacter*, apesar da presença de anticorpos

anti-*Helicobacter* e hiperplasia linfoide, sugere que a maioria das espécies que colonizam os animais de companhia são comensais e que sintomatologia gástrica pode surgir em sequência de perda de tolerância ou na presença de outras doenças concomitantes (Neiger and Simpson 2000, Jankowski et al. 2016).

Apesar dos sinais histopatológicos de gastrite observados no caso #3, as queixas iniciais não incluíam vômito ou náusea. Para além disso, o caso apresentava também inflamação entérica linfoplasmocítica, a qual não está associada a infeção por helicobacter em cães (Ettinger et al. 2017).

A infeção por helicobacter já foi também associada previamente a leishmaniose. Uma cadela com história de vômito intermitente, perda de peso e hipoalbuminémia foi diagnosticada com leishmaniose, helicobacteriose e doença de Ménétrier, uma gastropatia hipertrófica muito rara em cães. As biópsias gástricas realizadas na altura revelaram a presença de gastrite granulomatosa. Foi instituído tratamento para helicobacteriose (amoxicilina 15mg/kg PO q12h durante 14 dias, metronidazol 10mg/kg PO 12h durante 14 dias e subsalicilato de bismuto), o que reduziu ligeiramente os episódios de vômito, e para a leishmaniose, o que os reduziu mais significativamente. As biópsias realizadas após tratamento revelaram resolução da gastrite granulomatosa previamente observada, o que aponta tanto para o envolvimento de *Leishmania infantum* como de *Helicobacter* neste quadro (Lagerstedt et al. 2021).

### **3.5. Folatos, cobalamina, cTLI**

A absorção de ácido fólico e cobalamina (vitamina B12) é um processo complexo e clinicamente importante que auxilia na determinação da localização e gravidade da doença intestinal. O ácido fólico (vitamina B9) é absorvido no intestino delgado proximal enquanto a cobalamina, ligada ao fator intrínseco (FI), é absorvida no íleo (Ettinger et al. 2017).

Tradicionalmente, o sobrecrescimento bacteriano (SIBO) no intestino está ligado à diminuição de absorção de cobalamina por incorporação bacteriana e aumento de ácido fólico por síntese bacteriana. No entanto, estas alterações não são sensíveis e não podem ser utilizadas para fazer um diagnóstico definitivo. Para além disso, não se correlacionam com possível resposta da EC a antibioterapia (Ettinger et al. 2017).

No caso #1 foi detetada hipercobalaminemia, cTLI aumentada e ácido fólico no limite inferior do limite de referência. Na maioria dos casos, um valor de cTLI elevado permite excluir insuficiência pancreática exócrina (IPE) como diagnóstico diferencial. Por outro lado, valores elevados de cTLI podem estar associados a desidratação extrema, pancreatite aguda ou crónica (apesar de a sensibilidade deste parâmetro para

pancreatite ser muito baixa (Trivedi et al. 2011)), doença renal e obstrução do ducto pancreático (mesmo em casos com IPE).

A hipercobalaminémia, até recentemente, era considerada um sinal benigno. No entanto, atualmente, já foi ligada à presença de neoplasias e doenças crônicas, incluindo EC (Kather et al 2020).

A diminuição do ácido fólico sérico geralmente está associada a doença do intestino delgado proximal. O folato é fornecido pela alimentação na forma de poliglutamato, a qual não é facilmente absorvida. No intestino delgado proximal, a ação da enzima folato desconjugase leva à obtenção de monoglutamato, uma forma mais biodisponível de ácido fólico. Nos casos com EC, tanto os transportadores de folato como a desconjugase são destruídos, impedindo a sua absorção (Kather et al 2020).

A hipocobalaminémia detetada no caso #3 é consistente com doença do intestino delgado distal, má-absorção e possível disbiose. Em cães com doença crônica do intestino delgado distal, em particular do íleo, pode haver destruição de recetores de cobalamina, impedindo a sua absorção. IPE também pode causar hipocobalaminémia, uma vez que o FI é produzido quase em exclusividade pelo pâncreas exócrino nos cães (Kather et al 2020), no entanto, no caso #3 o valor de cTLI apresentava-se normal.

#### **4. Conclusão**

Assumindo que os sinais gastrointestinais evidenciados pelos casos se devem a infecção por *L. infantum*, pode-se afirmar que, clinicamente, a leishmaniose pode ter apresentações bastante distintas no aparelho digestivo: os casos #1 e #2 apresentavam diarreia de origem mista com um quadro de hemorragia gastrointestinal associado enquanto o caso #3 apresentava exclusivamente diarreia de intestino delgado e sinais compatíveis com má-absorção.

Histologicamente as lesões identificadas nas biópsias realizadas também são distintas – gastrite erosiva (caso #2) e enterite linfoplasmocítica associada a gastrite catarral (caso #3) – não parecendo haver padrão patognomónico para manifestação gastrointestinal de leishmaniose. Isto é concordante com a bibliografia, que descreve uma variedade de apresentações histopatológicas induzidas por *L. infantum*.

A leishmaniose com manifestação gastrointestinal está associada a parâmetros analíticos específicos que também estão presentes na enteropatia crónica, dificultando a sua associação – tanto a enteropatia crónica (enteropatia com perda de proteína) como a leishmaniose podem dar origem a hipoalbuminémia ambas apresentam significativamente pior prognóstico quanto maior o grau de hipovitaminose D que induzem.

Dada a natureza altamente variável da apresentação da infeção por *Leishmania infantum* no intestino do ponto de vista clínico, macroscópico e histopatológico, a leishmaniose deveria ser incluída sistematicamente na rotina clínica como diagnóstico diferencial de enteropatia crónica, especialmente quando é refratária ao tratamento.

## Bibliografia

- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2021. ESCCAP Guideline 01 Sixth Edition Worm Control in Dogs and Cats [Acedido em 25/02/2022] [xnqpgri2\\_0701\\_ESCCAP\\_Guideline\\_GL6\\_v7\\_1p.pdf](#)
- [ESCCAP] European Scientific Counsel Companion Animal Parasites. 2018. ESCCAP Guideline 06 Second Edition Control of Intestinal Protozoa in Dogs and Cats [Acedido em 25/02/2022] [xnqpgri2\\_0701\\_ESCCAP\\_Guideline\\_GL6\\_v7\\_1p.pdf](#)
- [TAMU] Texas A&M College of Veterinary Medicine & Biomedical Sciences. 2022. Cobalamin Information. [Acedido em 17/03/2022] [Cobalamin Information - Gastrointestinal Laboratory \(tamu.edu\)](#)
- Allenspach K, Mochel JP. Current diagnostics for chronic enteropathies in dogs. *Vet Clin Path* 50, 18–28 (2022).
- Allenspach, K. *et al.* P-glycoprotein Expression in Lamina Propria Lymphocytes of Duodenal Biopsy Samples in Dogs with Chronic Idiopathic Enteropathies. *J Comp Pathol* 134, 1–7 (2006).
- Ayala I, Bernal LJ, Garcia-Martinez JD, Gomez MA, Navarro JA, Bernabe A. An Atypical Case of Leishmaniasis Associated with Chronic Duodenitis in a Dog. *J Am Anim Hosp Assoc*; 53(2):101-106 (2017)
- Benvenuti E. *et al.* Immunosuppressant-Responsive Enteropathy and Non-Responsive Enteropathy in Dogs: Prognostic Factors, Short- and Long-Term Follow Up. *Animals Open Access J Mdpi* 11, 2637 (2021).
- Berlanda M. *et al.* Faecal Microbiome Transplantation as a Solution to Chronic Enteropathies in Dogs: A Case Study of Beneficial Microbial Evolution. *Animals* 11, 1433 (2021).
- Bostrom BM. *et al.* Chronic pancreatitis in dogs: A retrospective study of clinical, clinicopathological, and histopathological findings in 61 cases. *Vet J* 195, 73–79 (2013).
- Bybee, SN, Scorza AV, Lappin MR. Effect of the Probiotic *Enterococcus faecium* SF68 on Presence of Diarrhea in Cats and Dogs Housed in an Animal Shelter. *J Vet Intern Med* 25, 856–860 (2011)
- Carrasco L, Chacón F, Martín E, Hervás J, Molleda JM, Gómez-Villamandos JC, López R. Acute haemorrhagic pancreatitis associated with canine visceral leishmaniasis. *Veterinary Record* 141, 519-521 (1997)
- Casanova, MI, Martín S, Marco A, Solano-Gallego L. Detection of *Leishmania* spp. Infection by Immunohistochemistry in Archived Biopsy Samples from Dogs with Colitis in an Area Endemic for Leishmaniasis. *J Comp Pathol* 167, 12–17 (2019).
- Chaitman J, Ziese A-L, Pilla R, Minamoto Y, Blake AB, Guard BC, Isaiah A, Lidbury JA, Steiner JM, Unterer S and Suchodolski JS Fecal Microbial and Metabolic Profiles in Dogs With Acute Diarrhea Receiving Either Fecal Microbiota Transplantation or Oral Metronidazole. *Front. Vet. Sci.* 7:192 (2020)

- Chronic Enteropathies in Dogs: Evaluation of Risk Factors for Negative Outcome - Allenspach 2007 - Journal of Veterinary Internal Medicine - Wiley Online Library. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03011.x>.
- Dandrieux JRS, Mansfield CS. Chronic Enteropathy In Canines: Prevalence, Impact And Management Strategies. *Vet Medicine Res Reports* 10, 203–214 (2019).
- Dixon A. *et al.* Hypercoagulability in dogs with chronic enteropathy and association with serum albumin concentration. *J Vet Intern Med* 35, 860–866 (2021)
- Dossin, O. Laboratory Tests for Diagnosis of Gastrointestinal and Pancreatic Diseases. *Top Companion Anim M* 26, 86–97 (2011).
- Ettinger SJ, Feldman EC, Côte E. 2017. Textbook of Veterinary Internal Medicine: Diseases of the Cat and Dog. 8<sup>th</sup> Edition. St. Louis (Missouri): Elsevier
- Ferrer L, Juanola B, Ramos JA. Chronic Colitis Due to Leishmania Infection in Two Dogs. *VetPathol*; 28: 342-343 (1991)
- Figueiredo MM, Amorim IF, Pinto AJ, Barbosa VS, de Jesus Pinheiro L, Deoti B, Faria AM, Tafuri WL. Expression of Toll-like receptors 2 and 9 in cells of dog jejunum and colon naturally infected with *Leishmania infantum*. *BMC Immunol* 14:22 (2013)
- Figueiredo MM. *et al.* Expression of Regulatory T Cells in Jejunum, Colon, and Cervical and Mesenteric Lymph Nodes of Dogs Naturally Infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun* 82, 3704–3712 (2014).
- Gaschen, L, Kircher P. Two-Dimensional Grayscale Ultrasound and Spectral Doppler Waveform Evaluation of Dogs with Chronic Enteropathies. *Clin Tech Small An P* 22, 122–127 (2007).
- González JL, Fermin ML, Garcia P, Rollan E, Castano M. Erosive colitis in experimental canine Leishmaniasis. *J Vet Med.*, 37: 377-382 (1990)
- Grellet A. *et al.* Fecal calprotectin concentrations in adult dogs with chronic diarrhea. *Am J Vet Res* 74, 706–711 (2013).
- Heilmann, RM, Steiner JM. Clinical utility of currently available biomarkers in inflammatory enteropathies of dogs. *J Vet Intern Med* 32, 1495–1508 (2018).
- Hermida, M, Melo CVB. de Lima, IS, Oliveira, GGS, dos-Santos, WLC Histological Disorganization of Spleen Compartments and Severe Visceral Leishmaniasis. *Front Cell Infect Mi* 8, 394 (2018).
- Hernandez J, Dandrieux JRS. From bench top to clinics – How new tests can be helpful in diagnosis and management of dogs with chronic enteropathies. *Vet Clin. Small Anim* 51, 137-153 (2021),
- Honneffer JB, Minamoto Y, Suchodolski JS. Microbiota alterations in acute and chronic gastrointestinal inflammation of cats and dogs. *World J Gastroentero* 20, 16489–16497 (2014).
- Igarashi H. *et al.* Effect of Oral Administration of Metronidazole or Prednisolone on Fecal Microbiota in Dogs. *Plos One* 9, e107909 (2014).

- Jankowski M, Spużak J, Kubiak K, Glińska-Suchocka K, Biernat M. Detection of gastric *Helicobacter* spp. in stool samples of dogs with gastritis. *Pol J Vet Sci* 19, 237–243 (2016).
- Kather S, Grützner N, Kook PH, Dengler F, Heilmann, RM. Review of cobalamin status and disorders of cobalamin metabolism in dogs. *J Vet Intern Med* 34, 13–28 (2020).
- Koutinas, AF, Koutinas, CK. Pathologic Mechanisms Underlying the Clinical Findings in Canine Leishmaniosis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Vet Pathol* 51, 527–538 (2014).
- Lagerstedt E, Spillmann T, Airas N, Solano-Gallego L, Kilpinen S. Ménétrier-like disease in a Pointer with concurrent granulomatous gastritis, helicobacteriosis and leishmaniosis: a case report. *Bmc Vet Res* 17, 98 (2021).
- Lucena R., Olmedilla AB, Blanco B, Novales M, Ginel PJ. Effect of *Enterococcus faecium* SF68 on serum cobalamin and folate concentrations in healthy dogs. *J Small Anim Pract* 59, 438–443 (2018).
- Makielski K, Cullen J, O'Connor A., Jergens AE. Narrative review of therapies for chronic enteropathies in dogs and cats. *J Vet Intern Med* 33, 11–22 (2019).
- Manna L. et al. Long-term follow-up of dogs with leishmaniosis treated with meglumine antimoniate plus allopurinol versus miltefosine plus allopurinol. *Parasite Vector* 8, 289 (2015).
- Mathews, KA. et al. Cyclosporin treatment of perianal fistulas in dogs. *Can Vet J La Revue Vétérinaire Can* 38, 39–41 (1997).
- Murphy KF. et al. Fecal  $\alpha$ 1-Proteinase Inhibitor Concentration in Dogs Receiving Long-Term Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug Therapy. *Vet Clin Path* 32, 136–139 (2003).
- Neiger R., Simpson KW. *Helicobacter* Infection in Dogs and Cats: Facts and Fiction. *J Vet Intern Med* 14, 125–133 (2000).
- Oliveira, DM, Porto MR. Canine visceral leishmaniasis and available treatments – Literature review. *J. Vet. Sc. Public Health* 8, 97-111, (2021).
- Pinto, A. J. et al. Histopathological and parasitological study of the gastrointestinal tract of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Acta Vet Scand* 53, 67–67 (2011).
- Pinto, AJ. et al. Histopathological and parasitological study of the gastrointestinal tract of dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. *Acta Vet Scand* 53, 67–67 (2011).
- Rallis T. et al. Chronic Hepatitis Associated with Canine Leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a Clinicopathological Study of 26 Cases. *J Comp Pathol* 132, 145–152 (2005).
- Rao IS. Role of immunohistochemistry in lymphoma. *Indian J Medical Paediatr Oncol Official J Indian Soc Medical Paediatr Oncol* 31, 145–147 (2010).
- Rodriguez-Cortes A. et al. Canine Leishmaniasis Progression is Associated with Vitamin D Deficiency. *Sci Rep-uk* 7, 3346 (2017).

- Rosser, EJ. Diagnostic Workup of Food Hypersensitivity Veterinary Allergy. 119–123 (2013)
- Rudinsky AJ. *et al.* Dietary management of presumptive protein-losing enteropathy in Yorkshire terriers. *J Small Anim Pract* 58, 103–108 (2017).
- Ruiz G, Laloy E, Benchekroun G. Chronic gastritis and enterocolitis associated with Leishmania infection in an 18-month-old, intact female dog. *Veterinary Quarterly* (2015)
- Rutgers, HC, Batt RM, Elwood CM, Lampton A. Small intestinal bacterial overgrowth in dogs with chronic intestinal disease. *J Am Vet Med Assoc* 206, 187–93 (1995).
- Sampaio RNR. *et al.* A randomized, open-label clinical trial comparing the long-term effects of miltefosine and meglumine antimoniate for mucosal leishmaniasis. *Rev Soc Bras Med Tro* 52, e20180292 (2019).
- Schofield, I. *et al.* Hypoadrenocorticism in dogs under UK primary veterinary care: frequency, clinical approaches and risk factors. *J Small Animal Pract* 62, 343–350 (2021).
- Segarra S. *et al.* Randomized, allopurinol-controlled trial of the effects of dietary nucleotides and active hexose correlated compound in the treatment of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 239, 50–56 (2017).
- Silva DT *et al.* Correlation study and histopathological description of intestinal alterations in dogs infected with leishmania infantum. *Braz. J. Vet. Parasitol* 25, 24-36. (2016).
- Silva DT. *et al.* Neutrophils, eosinophils, and mast cells in the intestinal wall of dogs naturally infected with Leishmania infantum. *Revista Brasileira De Parasitol Veterinária* 27, 430–438 (2018).
- Solano-Gallego L, Koutinas AF, Miro G, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau P, Oliva G, Baneth G: Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. *Vet Parasitol* 2009; 165(1-2)
- Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas AF, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L, Bourdeau, P, Oliva G, Baneth G: LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniasis. *Parasites & Vectors*; 4:86 (2011)
- Solano-Gallego, Baneth G. (2010). Leishmaniasis. In CR. Green (Ed.), *Infectious Diseases of the Dog and Cat* (pp 734-749). Elsevier Saunders.
- Sugita, K. *et al.* Successful outcome after a single endoscopic fecal microbiota transplantation in a Shiba dog with non-responsive enteropathy during the treatment with chlorambucil. *J Vet Medical Sci* 83, 984–989 (2021).
- Sykes JE, Baneth G, Petersen CA. (2013). Leishmaniasis. In J. Sykes (Ed.), *Canine and Feline Infectious Diseases* (pp. 713-123). Elsevier Saunders. Solano-Gallego L, Roura X, Baneth G. (2016). Leishmaniasis. In MJ. Day (Ed.), *Arthropode-borne infectious Diseases of the Dog and Cat* (pp 125-140). CRC Press.
- Tabar M-D, Naranjo C, Dehesa A, Rodríguez M-C. Leishmaniasis in a cat with chronic diarrhea as the only clinical manifestation. *J Vet Intern Med.*;1-5 (2022)

- Titmarsh, H. *et al.* Association of Vitamin D Status and Clinical Outcome in Dogs with a Chronic Enteropathy. *J Vet Intern Med* 29, 1473–1478 (2015).
- Tolbert MK, Murphy M, Gaylord L, Witzel-Rollins A. Dietary management of chronic enteropathy in dogs. *J Small Anim Pract* (2022)
- Tørnqvist-Johnsen C. *et al.* Investigation of the efficacy of a dietetic food in the management of chronic enteropathies in dogs. *Vet Rec* 186, 26–26 (2020).
- Trivedi S, Marks SL, Kass PH. Sensitivity and specificity of canine pancreas-specific lipase (cPL) and other markers for pancreatitis in 70 dogs with and without histopathologic evidence of pancreatitis. *J Vet Intern Med.*; 25: 1241- 1247 (2011)
- Walker J, McMahon L. Investigating and treating chronic diarrhea in dogs. *In Practice* 41, 478 (2019).
- Ward, PM, McLauchlan G, Millins C, Mullen D, McBrearty AR. Leishmaniosis causing chronic diarrhea in a dog. *Vet Rec Case Reports* 7, e000768 (2019).
- Wennogle SA, Priestnall SL, Webb, CB. Histopathologic Characteristics of Intestinal Biopsy Samples from Dogs With Chronic Inflammatory Enteropathy With and Without Hypoalbuminemia. *J Vet Intern Med* 31, 371–376 (2017)
- Yamazaki C, Rosenkrantz W, Griffin C. Pilot evaluation of *Enterococcus faecium* SF68 as adjunctive therapy for oclacitinib-responsive adult atopic dermatitis in dogs. *J Small Animal Pract* 60, 499–506 (2019).
- Ziese AL, Suchodolksi JS. Impact of changes in gastrointestinal microbiota in canine and feline digestive diseases. *Vet Clin Salm Anim* 51, 155-169 (2021).

## Anexos

### Anexo 1: Poster e abstract – Enteropatia crónica refratária ao tratamento, associada a infeção natural por *Leishmania infantum* – Estudo de 3 casos



## ENTEROPATIA CRÓNICA REFRATÁRIA AO TRATAMENTO, ASSOCIADA A INFEÇÃO NATURAL POR *LEISHMANIA INFANTUM* – ESTUDO DE 3 CASOS

P. L. Marques<sup>1</sup>, M. J. Dias<sup>1,2</sup>, S. Prata<sup>1</sup>, M. T. Prego<sup>1</sup>, N. Santos<sup>1</sup>, R.O. Leal<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>HEV – Hospital Escolar Veterinário, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477, Lisboa, Portugal.

<sup>2</sup>Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, U.Lisboa, Lisboa, Portugal.

### INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Canina (CanLeish) é uma doença endémica na zona Mediterrânica, podendo ter uma apresentação visceral ou mucocutânea e exibir uma grande variedade de sinais clínicos tais como uveíte, atrofia dos mastigadores, claudicação, linfadenomegália, hepatopatia, doença renal ou dermatite esfoliativa. Contudo, pode ainda apresentar manifestações atípicas que dificultam o seu diagnóstico, nomeadamente alterações gastrointestinais: leishmaniose associada a colite linfo-plasmocitária e granulomatosa [1], enterocolite e gastrite linfoplasmocítica e histiocítica [2], duodenite granulomatosa [3], enterocolite neutrofílica e histiocítica [4].

### OBJETIVO

Este estudo tem como objetivo consciencializar a classe médico-veterinária para o facto de a leishmaniose poder surgir como causa de um quadro de enteropatia crónica.

### CASOS CLÍNICOS

- Três cães, dois machos inteiros (Labrador Retriever e Teckel) e uma fêmea inteira (Border Collie) foram referenciados por sinais de gastroenterite crónica refratária ao tratamento.
- Dois animais (Border Collie e Teckel) apresentavam vômito e diarreia de origem mista com presença episódica de hematoquézia e melena enquanto um (Labrador Retriever) tinha um quadro de diarreia crónica de intestino delgado (líquida, associada a perda de peso).
- Dois dos cães já tinham sido submetidos a biópsias - biópsias gástricas por laparotomia no Teckel e biópsias gástricas e duodenais por gastroduodenoscopia no Labrador - tendo-se obtido o diagnóstico histopatológico de gastrite erosiva e gastrite hiperplásica com enterite linfoplasmocitária, respetivamente.
- Todos os animais já tinham sido previamente tratados com prednisolona, metronidazole e dieta do tipo gastrointestinal ou hipoaergénica, sendo refratários à terapêutica.
- Ao exame clínico apresentavam:
  - Linfadenomegália (Border Collie);
  - Atrofia dos mastigadores (Teckel e Labrador Retriever).
- A nível das análises hematobioquímicas e urina tipo II revelavam:
  - Hipoalbuminémia (Teckel e Border Collie);
  - Hiperproteinémia (Teckel e Border Collie);
  - Hiperglobulinémia (Teckel e Border Collie);
  - Anemia hiporregenerativa (Teckel e Labrador Retriever);
  - Proteinúria (Teckel e Border Collie).



Fig. 1 - Labrador Retriever antes do tratamento - Anorxia e magreza evidentes



Fig. 2 - Border Collie com uveíte e nódulo cutâneo após recidiva

- Todos os animais foram submetidos a ecografia abdominal, a qual não revelou alterações significativas com exceção de hipomotilidade e distensão gástrica no Teckel.
- Foi efetuada serologia (Leiscan®) a qual se revelou positiva para os 3 casos - Razão positiva em todos os cães.
- Foi efetuado PCR para *Leishmania infantum* nas biópsias digestivas de um dos casos (Teckel), que se revelou positivo. O diagnóstico de gastroenteropatia crónica associada a infeção por CanLeish foi estabelecido.
- Todos os animais foram tratados com alopurinol e antimonioato de meglumina e o tratamento imunossupressor previamente instaurado foi progressivamente reduzido e descontinuado. Todos os casos resolveram os sinais digestivos após tratamento da CanLeish.
- Um dos casos (Labrador) seronegativou 6 meses mais tarde. O Teckel e o Border Collie resolveram os sinais digestivos, mantiveram-se estáveis do ponto de vista clínico após tratamento da Leishmaniose tendo ambos recidivado cerca de um ano depois, com um quadro de glomerulonefrite que justificou eutanásia.

### CONCLUSÃO

- Esta série de casos sublinha a necessidade de inclusão da CanLeish nos diagnósticos diferenciais de enteropatias crónicas, sobretudo as refratárias ao tratamento médico, mesmo aquando da ausência de sinais clássicos da doença.



A Leishmaniose Canina (CanLeish) é uma doença endêmica na zona Mediterrânea, podendo ter uma apresentação visceral ou mucocutânea e exibir uma grande variedade de sinais clínicos tais como uveíte, atrofia dos mastigadores, claudicação, linfadenomegália, hepatopatia, doença renal ou dermatite esfoliativa. Contudo, a leishmaniose pode ainda apresentar manifestações atípicas que dificultam o seu diagnóstico, nomeadamente alterações gastrointestinais: leishmaniose associada a colite linfo-plasmocitária e granulomatosa [1], enterocolite e gastrite linfoplasmocítica e histiocítica [2], duodenite granulomatosa [3], enterocolite neutrofílica e histiocítica [4]. Este estudo tem como objetivo consciencializar a classe médico-veterinária para o facto de a CanLeish poder surgir como causa de um quadro de enteropatia crónica. Três cães, dois machos inteiros (Labrador Retriever e Teckel) e uma fêmea inteira (Border Collie), foram referenciados por sinais de gastroenterite crónica refratária ao tratamento. Em detalhe, dois animais (Border Collie e Teckel) apresentavam vômito e diarreia de origem mista com presença episódica de hematoquécia e melena enquanto um (Labrador Retriever) tinha um quadro de diarreia crónica de intestino delgado (líquida, associada a perda de peso). Anteriormente à referência, dois cães já tinham sido submetidos a biópsias digestivas (biópsias gástricas por laparotomia no Teckel e biópsias gástricas e duodenais por gastroduodenoscopia no Labrador) tendo-se obtido o diagnóstico histopatológico de gastrite erosiva e gastrite hiperplásica com enterite linfoplasmocitária, respetivamente. Todos os animais já tinham sido previamente tratados com prednisolona, metronidazole e dieta do tipo gastrointestinal ou hipoalergénica, sendo refratários à terapêutica. Ao exame clínico, um cão apresentava linfadenomegália (Border Collie) e dois tinham atrofia dos mastigadores (Teckel e Labrador Retriever). Relativamente às análises hematobioquímicas e urina tipo II, os cães revelavam hiperproteinémia (Teckel e Border Collie), hipoalbuminémia (Teckel e Border Collie), hiperglobulinémia (Teckel e Border Collie), anemia hiporregenerativa (Teckel e Labrador Retriever) e proteinúria (Teckel e Border Collie). Todos os animais foram submetidos a ecografia abdominal, a qual não revelou alterações significativas com exceção de hipomotilidade e distensão gástrica no Teckel. Dadas as alterações clínico-patológicas observadas, foi efetuada serologia (Leiscan®) a qual se revelou positiva para os 3 casos (razão positiva em todos os cães). De forma complementar, foi efetuado PCR para *Leishmania infantum* nas biópsias digestivas de um dos casos (Teckel), que se revelou positivo. O diagnóstico de gastroenteropatia crónica associada a infeção por CanLeish foi estabelecido. Todos os animais foram tratados com alopurinol e antimonio de meglumina e o tratamento imunossupressor previamente instaurado foi progressivamente reduzido e descontinuado. Todos os casos resolveram os sinais digestivos após tratamento da CanLeish. Um dos casos (Labrador) seronegativou 6 meses mais tarde. O Teckel e o Border Collie resolveram os sinais digestivos, mantiveram-se estáveis do ponto de vista clínico após tratamento da Leishmaniose tendo ambos recidivado 6 meses e 11 meses depois, respetivamente, com um quadro de glomerulonefrite (associada a uveíte e nódulos cutâneos no Border Collie) que justificou eutanásia. Esta série de casos sublinha a necessidade de inclusão da CanLeish nos diagnósticos diferenciais de enteropatias crónicas, sobretudo as refratárias ao tratamento médico, mesmo aquando da ausência de sinais clássicos da doença.

## Bibliografia

[1] Ferrer L, Juanola B, Ramos JA. Chronic Colitis Due to *Leishmania* Infection in Two Dogs. *Vet Pathol* 1991; 28: 342-343

[2] Ruiz G, Laloy E, Benckekroun G. Chronic gastritis and enterocolitis associated with Leishmania infection in an 18-month-old, intact female dog. *Veterinary Quarterly* 2015, 35(4): 236-239

[3] Ayala I, Bernal LJ, Garcia-Martinez JD, Gomez MA, Navarro JA, Bernabe A. An Atypical Case of Leishmaniasis Associated with Chronic Duodenitis in a Dog. *J Am Anim Hosp Assoc* 2017; 53(2):101-106

[4] Ward PM, McLauchlan G, Millins C, Mullen D, McBrearty AR. Leishmaniosis causing chronic diarrhoea in a dog. *Veterinary Record Case Reports* 2019, 7(1)