



UNIVERSIDADE ESTADUAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

THAINARA BARROSO FREITAS

**ESTUDO RADIOGRÁFICO E PARASITOLÓGICO DAS ARTICULAÇÕES DE
CÃES POSITIVOS PARA LEISHMANIOSE VISCERAL**

São Luís - MA

2017

THAINARA BARROSO FREITAS

**ESTUDO RADIOGRÁFICO E PARASITOLÓGICO DAS ARTICULAÇÕES DE
CÃES POSITIVOS PARA LEISHMANIOSE VISCERAL**

Monografia apresentada ao Curso de
Medicina Veterinária da Universidade
Estadual do Maranhão para obtenção do
grau de bacharel em Medicina Veterinária.
Orientador: Prof. Dr. Porfírio Candanedo
Guerra
Co-Orientadora: MsC. Adriana Vívian
Costa Araujo

São Luís – MA

2017

Freitas, Thainara Barroso.

Estudo radiográfico e parasitológico das articulações de cães positivos para leishmaniose visceral. / Thainara Barrosos Freitas. – São Luís, 2017.

44 f.

Orientador: Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra

Co-orientadora: MsC. Adriana Vívian Costa Araujo

Monografia (Graduação) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual do Maranhão – UEMA, 2017.

1. Leishmaniose Visceral.
2. Articulação.
3. Exame radiográfico.
4. Líquido sinovial.
5. Cães.

CDU 636.7:616.993.161

THAINARA BARROSO FREITAS

**ESTUDO RADIOGRÁFICO E PARASITOLÓGICO DAS ARTICULAÇÕES DE
CÃES POSITIVOS PARA LEISHMANIOSE VISCERAL**

Monografia apresentada ao Curso de
Medicina Veterinária da Universidade
Estadual do Maranhão para obtenção do
grau de bacharel em Medicina Veterinária.

Monografia de Graduação defendida e aprovada em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Professor Dr. Porfírio Candanedo Guerra – UEMA
Departamento das Clínicas/CCA/UEMA
Orientador

Professor MsC. Danilo Brenno de Assis Torres - UEMA
Médico Veterinário
1° Examinador

MsC. Adriana Vívian Costa Araujo
Médica Veterinária
Co-orientadora
2° Examinador

DEDICATÓRIA

A Deus por tudo que me é dado, por todas as oportunidades e por ter colocado pessoas especiais que me ajudaram a concluir esta etapa da minha vida. A Nossa Senhora de Fátima por toda a intercessão nos momentos em que eu mais precisei. Aos meus avós Maria Francisca Silva Barroso, Júlio Gomes Barroso (in memorian), Maria Moiseta Campos Freitas e Ezequias Alcantara de Freitas (in memorian) por todo o exemplo de vida, por todo amor e cuidado. Aos meus pais José Raimundo Campos Freitas e Ruthlene Silva Barroso e a minha irmã Raissa Raab Barroso Freitas por tudo que representam para mim, vocês são a minha maior inspiração!

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pelo dom da vida, pelo seu infinito amor, por estar sempre comigo e me capacitar a alcançar os meus sonhos, agradeço por tudo o que eu sou e tenho.

A Nossa Senhora de Fátima por interceder por mim sempre e iluminar meus caminhos.

Ao meu pai José Raimundo Campos Freitas, por todo amor e dedicação, pelos exemplos de força e trabalho, por tudo que fez para que eu me tornasse quem eu sou hoje. Obrigada por sempre acreditar em mim e não medir esforços para me oferecer o melhor.

A minha amada mãe Ruthlene Silva Barroso, pela incansável e imensurável dedicação, por ser a minha maior incentivadora, por não permitir que as dificuldades fossem obstáculos em meio a minha caminhada. Obrigada por todas às vezes que pronunciou a frase “vai e faz” e me mostrar que tudo é possível quando se tem amor e fé. Sem seu carinho e dedicação eu não seria quem eu sou hoje.

A minha irmã Raissa Raab Barroso Freitas, por todo apoio, incentivo e amor, por sempre acreditar em mim e me ajudar nos momentos mais difíceis, obrigada por tudo. A minha família, todo o meu amor e eterna gratidão, vocês são a base da minha vida.

Ao meu namorado João Gabriel S. Araujo, por todo amor, companheirismo e paciência. Obrigada por entender minhas ausências em dias corridos e por acima de tudo me incentivar a alcançar meus sonhos e acreditar em mim sempre, mesmo quando eu não acredito ser capaz.

Aos meus sogros José Roberto e Rosário de Maria pelo incentivo e amor que sempre me deram.

Aos meus amigos Ana Vitória Oliveira, Ana Carolina Muniz, Raissa M. Brandão, Rildon P. Candeira e Thaynan Karolline A. Parga, por estarem comigo ao longo desses anos, obrigada pela amizade e carinho, por terem tornado os meus dias melhores, sem vocês essa caminhada teria sido bem mais difícil.

Ao meu orientador Prof. Dr. Porfírio Candanedo Guerra por ter aceito me orientar. Obrigada pela confiança, oportunidade e pelos ensinamentos passados.

Ao Danilo Brenno de Assis Torres por ter aceito participar da banca avaliadora e ter contribuído para o aperfeiçoamento desse trabalho.

A minha co-orientadora, Prof^a. MsC Adriana Vivian Costa Araujo, por ter aceito a missão de me co-orientar. Por toda paciência, disposição e ensinamentos passados durante a realização desse trabalho. Obrigada por toda dedicação e simplicidade, por estar sempre disposta a ajudar e ensinar, por ser a minha referência profissional e pessoal dentro da graduação. Obrigada por todo incentivo e por me fazer acreditar que tudo daria certo mesmo em meio as dificuldades encontradas. À você minha eterna gratidão e admiração.

Ao Médico Veterinário Dglan Firmo Dourado, pela imensa ajuda na realização das coletas, por estar sempre disposto a ensinar e colaborar, seu auxílio foi essencial na realização desse trabalho.

A Elizabeth Silveira Guimarães por toda ajuda na realização dos exames radiográficos e por todo cuidado e paciência com os animais.

A Médica Veterinária Isabel S. Oliveira e ao Médico Veterinário Gustavo S. M. Ramos por terem me ajudado na confecção e leitura das lâminas, por toda paciência e dedicação, o apoio de vocês foi fundamental.

A Aline Joane B. Padilha por toda ajuda e parceria na realização dessa pesquisa. A Eslen Quézia Santos Miranda pela disponibilidade e por toda contribuição no desenvolver dessa pesquisa.

Ao Hospital Veterinário Francisco Edilberto Uchoa Lopes, na pessoa do Prof. Dr. José Arnodson Coelho de Sousa Campelo por ter permitido a realização desse trabalho.

Ao meu cachorro Nestor, simplesmente pelo seu amor incondicional e único, por me proporcionar a alegria de chegar em casa e ser recebida todos os dias com seu carinho.

A todos os proprietários que cederam gentilmente seus animais. E a todos os cães que participaram dessa pesquisa e permitiram serem avaliados, sem eles nada teria sido possível.

Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para minha formação.

Muito obrigada!

RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é causada pelo protozoário *Leishmania chagasi* tendo o cão como principal reservatório. Afeta ossos e articulações provocando o aparecimento de lesões simétricas e bilaterais com claudicação intermitente associadas a poliartrite erosiva/não erosiva. A sua etiologia deve-se ao próprio parasita, à circulação de imunocomplexos ou ao depósito de ambos na membrana sinovial. Partindo-se do pressuposto que cães infectados por *Leishmania* sp., apresentam distúrbios locomotores associados a doença, e que a avaliação parasitária do líquido sinovial não é considerado um método de diagnóstico de rotina, esta pesquisa objetivou caracterizar alterações articulares radiográficas e identificar por meio de exame parasitológico direto, formas amastigotas de *Leishmania* sp. no líquido sinovial das articulações fêmoro-tíbio-patelar e coxofemoral de cães positivos para leishmaniose visceral atendidos no HVU-UEMA. No presente estudo 60% dos cães apresentaram sinais clínicos do sistema locomotor, sendo claudicação, paresia dos membros posteriores e artralgia os mais frequentes. Foram avaliadas as articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral e coxofemoral dos 15 cães, totalizando 45 articulações estudadas. Na avaliação do líquido sinovial foram identificadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. em apenas um animal. Em 60% dos cães foi observado radiograficamente pelo menos uma lesão na articulação fêmoro-tíbio-patelar com envolvimento bilateral, caracterizadas por irregularidade em superfície articular, esclerose subcondral e aumento de densidade em cápsula articular.

Palavras-Chave: Leishmaniose, articulação, líquido sinovial.

ABSTRACT

Visceral canine leishmaniasis (LVC) is caused by the protozoan *Leishmania chagasi* with the dog as the main reservoir. It affects bones and joints causing the appearance of symmetrical and bilateral lesions with intermittent claudication associated with erosive / non-erosive polyarthritis. Its etiology is due to the parasite itself, to the circulation of immunocomplexes or to the deposit of both in the synovial membrane. Based on the assumption that dogs infected with *Leishmania* sp., Present locomotive disorders associated with disease, and that the parasitic evaluation of the synovial fluid is not considered a routine diagnostic method, this research aimed to characterize radiographic joint alterations and to identify by means of Direct parasitological examination, amastigote forms of *Leishmania* sp. In the synovial fluid of the femur-tibio-patellar and hip joints of dogs positive for visceral leishmaniasis seen in HVU-UEMA. In the present study, 60% of the dogs presented clinical signs of the locomotor system, being claudication, paresis of the hind limbs and artralgia the most frequent. The bilateral femur-tibiopatellar and coxofemoral joints of 15 dogs were evaluated, totaling 45 joints studied. In the assessment of synovial fluid, amastigote forms of *Leishmania* sp. In only one animal. In 60% of the dogs, at least one lesion was observed in the femur-tibial-patellar joint with bilateral involvement, characterized by irregularity in the articular surface, subchondral sclerosis and increased density in the joint capsule.

Key words: Leishmaniasis, articulation, synovial fluid.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Apresentação clínica de um cão infectado naturalmente por *Leishmania* sp.
..... 30
- Figura 2** - Frequência dos achados clínicos em cães com leishmaniose visceral canina
..... 31
- Figura 3** - Pesquisa parasitológica direta de líquido sinovial de um cão acometido por leishmaniose visceral, indicando formas amastigotas de *Leishmania* sp. (seta preta)
..... 31
- Figura 4** - (A) Incidência mediolateral da articulação fêmoro-tíbio-patelar indicando irregularidade em cápsula articular da tíbia (seta amarela). (B) Esclerose subcondral em tíbia (seta preta). 33

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Variáveis sexo, raça e faixa etária de 15 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral..... | 28 |
| Tabela 2 - Frequência dos achados clínicos osteoarticulares de 9 cães positivos para leishmaniose visceral..... | 30 |
| Tabela 3 - Lesões radiográficas encontradas nas articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral em nove cães positivos para leishmaniose visceral..... | 32 |

LISTA DE SIGLAS

- CEEA** - Comissão de Ética na Experimentação Animal
- CONCEA** - Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal
- CCZ** - Centro de Controle de Zoonoses
- ELISA** - Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- IFN- γ** - Interferon gama
- HVU** - Hospital Veterinário Universitário
- IgG** - Imunoglobina G
- IgM** - Imunoglobina M
- IL** - Interleucina
- LS** - Líquido sinovial
- LV** - Leishmaniose Visceral
- LVC** - Leishmaniose visceral canina
- ML** - Mediolateral
- PCR** - Polymerase chain reaction
- RIFI** - Reação de imunofluorescência indireta
- SRD** - Sem raça definida
- TNF** - Tumor necrosis fator
- Th** - T helper (linfócitos)
- VD** - Ventrodorsal
- UEMA** - Universidade Estadual do Maranhão

SUMÁRIO

| | |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO | 14 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA | 15 |
| 2.1 Histórico da doença | 15 |
| 2.2 Agente etiológico..... | 15 |
| 2.3 Vetor | 16 |
| 2.4 Reservatórios | 17 |
| 2.5 Ciclo biológico e transmissão..... | 17 |
| 2.6 Epidemiologia..... | 18 |
| 2.7 Patogenia..... | 19 |
| 2.8 Sinais clínicos | 21 |
| 2.8.1 Alteração Articular..... | 21 |
| 2.9 Diagnóstico | 23 |
| 2.10 Avaliação do Líquido sinovial | 24 |
| 2.11 Avaliação radiográfica..... | 25 |
| 3 JUSTIFICATIVA | 25 |
| 4 OBJETIVOS | 26 |
| 4.1 Objetivo geral | 26 |
| 4.2 Objetivos específicos | 26 |
| 5 MATERIAL E MÉTODOS | 26 |
| 5.1 Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) | 26 |
| 5.2 Animais | 27 |
| 5.3 Diagnóstico de LVC | 27 |
| 5.4 Avaliação radiográfica..... | 27 |
| 5.5 Protocolo anestésico | 27 |
| 5.6 Avaliação do Líquido sinovial | 28 |
| 6 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 28 |
| 7 CONCLUSÃO | 34 |
| 8 REFERÊNCIAS | 35 |

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma antropozoonose severa de alto predomínio mundial (DUPREY et al., 2006), endêmica no Brasil (SOLANO-GALLEGO et al., 2009) e um grave problema de saúde pública dada a sua incidência e alta letalidade. É causada pelo protozoário *Leishmania chagasi* (WHO, 2010), que acomete os cães, os quais são considerados os principais reservatórios, através do qual o homem pode se infectar (DESJEUX, 2004; SCHIMMING et al., 2012).

O ambiente característico e propício à ocorrência da LV é aquele de baixo nível socioeconômico, pobreza, promiscuidade, prevalente em grande medida no meio rural e na periferia das grandes cidades. No Maranhão, nordeste do Brasil, as intervenções ambientais, a migração desordenada de pessoas associadas as profundas alterações eco-epidemiológicas e a ausência de infraestrutura básica, vêm contribuindo para a urbanização do vetor (COSTA et al., 1995; BARROS et al., 2000; MENDES et al., 2002).

O reservatório considerado mais importante da leishmaniose visceral é o cão, onde apresenta fases subaguda ou crônica (CIARAMELLA & CORONA, 2003). Suas manifestações clínicas variam amplamente em consequência da resposta imunológica, dos numerosos mecanismos patogênicos e dos diferentes órgãos afetados (BANETH et al., 2008).

A LVC afeta também os ossos e articulações com o aparecimento de lesões simétricas e bilaterais, com claudicação intermitente (PUGLIESE 2006), associadas a poliartrite erosiva/não erosiva. A sua etiologia deve-se ao próprio parasita, à circulação de imunocomplexos ou ao depósito de ambos na membrana sinovial (KOUTINAS et al., 1999). Radiograficamente, nas diáfises de ossos longos, patela e pélvis pode-se observar uma reação perióstica com radiopacidade aumentada, com danos corticais e medulares, enquanto nas articulações pode-se observar lesões osteolíticas (PUGLIESE et al., 2006).

Amostras de medula óssea, linfonodos, baço e pele são usados atualmente para o diagnóstico parasitológico da leishmaniose em cães naturalmente infectados, no entanto, o uso de líquido sinovial (LS) para este propósito tem sido raramente relatado. Este método se faz importante especialmente em cães com alterações no

sistema locomotor que sejam clinicamente suspeitos de LVC (SARIDOMICHELAKIS et al., 2005 ; SILVA, 2009).

Contudo, são escassos os estudos sobre lesões osteoarticulares correlacionadas à presença do parasita no líquido sinovial na articulação desses animais. A fim de contribuir para o melhor estudo e entendimento do envolvimento do sistema locomotor em cães acometidos por leishmaniose visceral, o presente trabalho, avaliou as articulações coxofemoral e fêmoro-tíbio-patelar por meio de radiografias para verificar alterações na superfície articular e pesquisou a presença do parasita no líquido sinovial das articulações avaliadas de cães positivos para leishmaniose visceral.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico da doença

A leishmaniose visceral foi descrita pela primeira vez na Grécia em 1835, onde então era definida por “ponos”, que na mitologia grega significava “deus da dor”. Somente em 1869 na Índia, recebeu o nome de “Kala-jwar” (febre negra) e “Kala-azar” (pele negra) devido ao escurecimento cutâneo desenvolvido no decorrer da doença (MARZOCHI, 1981).

Os primeiros casos da infecção no Brasil, foram relatados em 1934 por Henrique Penna, patologista do Instituto Oswaldo Cruz, a partir de lâminas histológicas de fígado, examinadas *post mortem* para diagnóstico da febre amarela (LAINSON et al., 1987; GENARO, 2000; LAISON & RANGEL, 2005). Estudando a epidemiologia da doença, Evandro Chagas suspeitou que o mosquito transmissor da doença aos humanos fosse o flebotomíneo *Lutzomyia Longipalpis* devido a sua presença contínua ao redor e dentro das residências de pacientes doentes (LAINSON & RANGEL, 2005). Castro e Ferreira, em 1937, identificaram o cão como reservatório da LVC (FEITOSA et al., 2000).

2.2 Agente etiológico

A leishmaniose visceral é causada por protozoários da família *Trypanosomatidae* do gênero *Leishmania*. Que apresentam uma forma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor e outra aflagelada ou

amastigota encontrada nos tecidos dos vertebrados. *Leishmania* sp é um parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear (BRASIL 2006).

No mundo, existem três espécies principais relacionadas a leishmaniose visceral, variando de acordo com a região geográfica, são elas: *Leishmania (L.) donovani*, referidas na Ásia e África, *Leishmania (L.) infantum* na Ásia, Europa e África e *Leishmania (L.) chagasi* nas Américas, incluindo o Brasil (CAMARGO et al., 2007). Semelhanças estruturais verificadas em estudos moleculares sugerem que *Leishmania chagasi* e *Leishmania infantum* sejam da mesma espécie, permitindo a denominação *Leishmania infantum chagasi* também ao agente etiológico nas Américas (MAURICIO ET AL., 2000; SHAW, 2006).

2.3 Vetor

No Brasil, a leishmaniose visceral tem como vetores insetos denominados flebotomíneos. Atualmente apenas duas espécies estão associadas com a transmissão da doença, *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*, que popularmente são conhecidos por mosquito palha, birigui, tatuquiras. Portanto, *Lutzomyia longipalpis* é considerada a principal espécie transmissora da *L.(L.) chagasi* no Brasil e, atualmente *Lutzomyia cruzi* foi considerado o vetor específico da região do Mato Grosso de Sul (BRASIL, 2006).

A espécie *Lutzomyia longipalpis* é encontrada no Brasil, nas regiões Nordeste, Norte, Sudeste e Centro-Oeste. Nas regiões Norte e Nordeste, essa espécie era encontrada nas áreas de mata participando do ciclo primário de transmissão da leishmaniose visceral, porém houve uma adaptação desse inseto somada a presença de animais silvestres e sinantrópicos (BRASIL, 2006). Na década de 80, com a expansão dos centros urbanos, *L. longipalpis* se adaptou a esses ambientes e passou a ser encontrado nos ambientes domiciliares, peridomiciliares, abrigos de animais domésticos, entres outros ambientes (BRASIL, 2006).

Os insetos da espécie *Lutzomyia longipalpis*, são dípteros da família *Psychodidae*, sub-família *Phlebotominae*, também chamados de flebotomíneos (GONTIJO e MELO, 2004). São pequenos, medindo aproximadamente de 1 a 3 mm de comprimento, possuem o corpo revestido por pelos, coloração clara ou parda,

pernas longas e delgadas, apresentam voos saltitantes e mantêm as asas entreabertas mesmo quando estão em repouso, o que os diferencia de outros dípteros.

Esses insetos possuem o hábito de vida noturna e crepuscular, sendo as fêmeas responsáveis pela transmissão por apresentarem aparelho bucal adaptado para picar a pele dos vertebrados e sugar o sangue, apresentando portanto a hematofagia como hábito alimentar (CAMARGO E BARCISKIN, 2003). Ambos os sexos precisam de carboidratos como fonte energética, porém as fêmeas necessitam do sangue para a maturação dos ovos. Na fase adulta esses insetos estão adaptados a diversos lugares, contudo na fase larvária seu desenvolvimento ocorre em lugares terrestres úmidos e ricos em matéria orgânica (BRASIL, 2006).

2.4 Reservatórios

O principal reservatório da doença é o cão (*Canis familiares*) no ambiente urbano e a raposa (*Dusicyon vetulus* e *Cerdocyon thous*) e os marsupiais (*Didelphis albiventris*) no ambiente rural. Porém os felinos e alguns roedores, também são considerados reservatórios da doença (LUPPI et al., 2008; NOÉ, 2008). Segundo o Ministério da Saúde (2006) as raposas, no Brasil, foram encontradas infectadas nas regiões Nordeste, Sudeste e Amazônia, enquanto os marsupiais didelfídeos foram encontrados infectados no Brasil e na Colômbia.

Dentre todos os animais identificados como reservatórios da doença, o cão até o presente momento, ainda é considerado o mais importante epidemiologicamente, constituindo-se como elemento principal da cadeia de transmissão da doença (SLAPPENDEL & FERRER, 1998) e também pelo convívio direto com o homem (GONTIJO & MELO, 2004; BARATA et al., 2005).

2.5 Ciclo biológico e transmissão

O ciclo biológico do parasita *L. chagasi* é heteroxênico, ou seja, necessita de dois hospedeiros diferentes para se completar: o hospedeiro invertebrado, o vetor flebotômíneo, que abriga o parasita na forma promastigota extracelular flagelada e o hospedeiro vertebrado mamífero onde a forma amastigota flagelada se desenvolve (TOMÁS & ROMÃO, 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2009).

O vetor se infecta quando as fêmeas ingerem macrófagos infectados por formas amastigotas de *L. chagasi* ao sugarem o sangue de mamíferos infectados. Os macrófagos se rompem no trato digestivo anterior, liberando as formas amastigotas que por divisão binária se reproduzem, diferenciando-se em seguida em formas flageladas ou promastigotas que também por divisão binária se reproduzem. Logo, as formas promastigotas são transformadas em paramastigotas que invadem o esôfago e a faringe do vetor ficando aderidas ao epitélio pelo flagelo, posteriormente se diferenciam e transformam-se em promastigotas metacíclicas, formas infectantes (BRASIL, 2006).

Logo, quando as fêmeas infectantes do flebotomíneo fazem o repasto sanguíneo no hospedeiro vertebrado, inoculam a forma promastigota metacíclicas do parasita liberadas na epiderme juntamente com sua saliva, que funciona como anticoagulante (MICHALICK, 2004). As formas promastigotas são fagocitadas pelas células do sistema mononuclear fagocitário do hospedeiro, dentro dos macrófagos elas se diferenciam em amastigotas, multiplicando-se de forma binária, culminando no rompimento dos macrófagos, que liberam grande quantidade das amastigotas que em seguida são fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo, então ocorre a dissipação por via hematogênica para outros tecidos do sistema mononuclear fagocitário como fígado, baço, linfonodo e medula óssea (BRASIL, 2006).

O modo de transmissão no Brasil, ocorre principalmente pela picada do inseto vetor, *L. longiplapis* ou *L. cruzi*, infectados por *Leishmania (L.) chagasi* (BRASIL, 2006). Porém, já foram descritos outros meios de transmissão como transfusão sanguínea através de doadores infectados (SHERDING, 2006), transmissão venérea e transplacentária (BOGGIATTO et al., 2011).

2.6 Epidemiologia

A leishmaniose visceral é uma antropozoonose de ampla distribuição mundial, endêmica em diversos países, distribuída em regiões do sul da Europa, Ásia, África, América do Sul e Central (SOLANO-GALLEGO et al., 2011). A LV apresenta características geográficas, climáticas e sociais diversificadas, devido sua ampla distribuição geográfica que ainda se encontra em expansão (SILVA, 2007).

O estado do Maranhão e a cidade de São Luís, apresentam características favoráveis a epidemiologia da doença, condições sócio-econômicas baixas, características ambientais como clima tropical quente e úmido, favorável ao desenvolvimento e manutenção do ciclo biológico do vetor, indicadores inadequados de saúde e saneamento básico, em conjunto com a intensa mobilização de reservatórios silvestres e cães infectados, que contribuem para expansão da doença no estado, aumentando o número de casos em cães. (SILVA et al., 1997)

Abreu-Silva et al., (2008) em um estudo em área endêmica no município de São Luís, no estado do Maranhão, com características favoráveis ao desenvolvimento do flebotomíneo, detectaram infecção por *Leishmania chagasi* em 31 dos 62 cães avaliados na pesquisa. Concluíram que a área em estudo reunia condições de transmissão ativa de leishmaniose visceral, tendo em vista a soroprevalência e a presença de *L. longipalpis* como a espécie de flebotomíneo mais prevalente.

Os focos da doença, na ilha de São Luís, antes eram centralizados nas áreas rurais e peri-urbanas, onde os domicílios foram construídos em áreas desmatadas, aumentando a exposição ao vetor da doença contribuindo para sua expansão. Devido a adaptação do mosquito ao meio urbano, atualmente os focos da LV são encontrados tanto em áreas rurais quanto urbanas do estado do Maranhão (NASCIMENTO, 1996).

Em zonas onde a doença não é endêmica, a presença do cão contribui para a manutenção do parasita na população canina por meios de transmissão não dependentes de vetor (SOLANO-GALLEGO et al., 2009). Vias de transmissão não vetoriais tal como a transmissão vertical, venérea (SILVA et al., 2009), horizontal por contato direto com sangue infectado e iatrogênica por transfusão, foram referidas em zonas onde vetor está ausente. Entretanto, estes meios de transmissão são relativamente incomuns na epidemiologia da leishmaniose (ANDRADE et al., 2002; BANETH et al., 2008; SOLANO-GALLEGO et al., 2009; FREEMAN, 2010).

2.7 Patogenia

Por apresentar maior número do parasita na pele, o cão é considerado o principal reservatório da doença fora do ambiente silvestre, e a leishmaniose visceral

nos cães superam os casos da doença em humanos (FONSECA; SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997; FEITOSA et al., 2000;).

Na LV, diversos órgãos podem ser acometidos, dependendo do grau de parasitismo do tecido afetado, da resposta imune e da evolução da doença no hospedeiro. Em geral, as lesões teciduais são causadas devido a deposição de imunocomplexos e por inflamação granulomatosa (MULLER et al., 2001).

Leishmania chagasi, é um parasita do sistema mononuclear fagocitário, uma vez inoculado na pele do hospedeiro, inicia-se uma reação inflamatória atraindo macrófagos, histiócitos, neutrófilos e monócitos que fagocitam as formas promastigotas do parasita que dentro dos macrófagos se diferenciam em amastigotas onde rapidamente se multiplicam. A partir daí, ocorre a disseminação do parasita por via hemática e linfática para diversos órgãos do hospedeiro, concentrando-se no fígado, baço, linfonodos, pele, rins e medula óssea (MARQUES, 2008).

A resposta imune apresentada pelo animal à infecção será fundamental para definir a resistência ou suscetibilidade a doença (ROCHA, 2012). No hospedeiro resistente, a resposta imune está associada a resposta celular (Th1) onde ocorre liberação de IFN- γ , TNF, IL-2 e IL-12, produzindo uma reação inflamatória do tipo proliferativa. No hospedeiro suscetível, a resposta imune é do tipo humoral (Th2), na qual decorre a formação IL-4, 5, 6 e 10 que impulsionam o sistema complemento promovendo a produção de IgG e IgM (MARQUES, 2008).

O parasita *L. chagasi* tem a capacidade de transformar o sistema imunológico do hospedeiro, logo a LV pode ser considerada uma doença imunomediada. As células do sistema mononuclear fagocitário parasitadas, quando ocorre a infecção, funcionam como células apresentadoras de antígeno impulsionando os linfócitos (CD4+) T auxiliares do tipo (Ta1), ou T auxiliares do tipo 2 (Ta2). As células Ta1, quando ativadas, produzem citocinas tais como interferon, o fator de necrose tumoral e a interleucina 2, que ativam os macrófagos. Em seguida, os macrófagos ativados, estimulam a imunidade celular através da ativação de outras células ou por sua proliferação e, assim podem eliminar a infecção. Porém, a infecção quando em associação a indução de linfócitos Ta2, ocasiona a multiplicação de célula B e a produção de anticorpos (LOPEZ et al., 1996).

A resposta das imunoglobulinas é grande, portanto é nociva e não benéfica, ocasionando assim, a evolução da infecção. A regulação de linfócitos T afetada e o funcionamento excessivo de linfócitos B, produzem imunocomplexos circulantes em um número elevado, que se depositam nas paredes dos vasos sanguíneos e podem causar vasculite, uveíte, dermatite, poliartrite e glomerulonefrite. A linfadenopatia generalizada e hepatoesplenomegalia são consequências da proliferação de linfócitos B, histiócitos e macrófagos (LOPEZ et al., 1996).

2.8 Sinais clínicos

A LVC é de evolução lenta e início insidioso, é caracterizada por uma diversidade de sinais clínicos, que varia de um aparente estado sadio a um grave estágio final. O tipo de resposta imunológica do animal, determina a manifestação clínica da doença (BRASIL, 2006). De acordo com o quadro clínico observado nos cães, estes podem ser classificados em assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos (GENARO, 1993; FEITOSA, et al., 2000), sendo os assintomáticos considerados um grande problema para a manutenção da doença, pois são importantes reservatórios do parasita (BARBIÉRI, 2006).

Os sinais clínicos da LVC são inespecíficos (MARZOCHI et al., 1985; RIBEIRO, 1997), comumente os cães apresentam lesões cutâneas e intensa descamação, encontradas na região periocular, narinas e na ponta das orelhas, ou disseminada por todo o corpo, úlceras rasas localizadas na orelha, narinas, cauda e articulações, além de pelos opacos com queda abundante, a alopecia expõe grandes áreas da pele amplamente parasitadas e lesionadas (GENARO, 1993; BRASIL, 2006). Também são encontradas, onicogribose e emagrecimento progressivo, esplenomegalia, linfadenopatia, diarreia, vômito, hemorragia intestinal, epistaxe, edema de patas, hiperqueratose. Alguns animais podem apresentar paresia das patas posteriores associados a atrofia muscular (FEITOSA et al, 2000).

2.8.1 Alteração Articular

As manifestações osteoarticulares surgem como sinais atípicos da infecção (FEITOSA et al., 2000; BLAVIER et al., 2001; FEITOSA, 2001; LIMA et al., 2003, SILVA et al., 2005; FEITOSA, 2006; RIBEIRO, 2007). O desenvolvimento de

poliartrites geralmente está associado ao aumento de uma ou mais articulações e dor à palpação, além de anormalidades na locomoção que podem ser observadas em cães acometidos pela doença (AUGUT et al., 2003; SOUZA, 2005; FREITAS et al., 2012).

Em cães, observa-se que a articulação do joelho (DURANA, 2009), a articulação do ombro (MATERA & TATARUNAS, 2007) e a articulação coxofemoral (ROCHA, 2012) são as mais acometidas e, invariavelmente desencadeiam processos inflamatórios e degenerativos compatíveis com doença degenerativa articular (DENNY & BUTTERWORTH, 2006).

Clinicamente, a relação da LVC com alterações osteoarticulares, pode ser caracterizado por claudicação, rigidez articular, artralgia, edema, atrofia muscular e dor na parte distal dos membros que podem ser decorrentes de poliartrites (BURACCO et al., 1997; FEITOSA 2000; BEVILACQUIA et al., 2002; MCCONKEY et al., 2002; AGUT et al., 2003; BANETH, 2006). Em regiões endêmicas, a ocorrência de distúrbios locomotores, pode chegar a 30% dos cães afetados (TURREL; POOL, 1982; YAMAGUCHI et al., 1983; SPPLANDEL, 1998; WOLSCRHIJN et al., 1996; BURACCO et al., 1997).

A poliartrite é um processo inflamatório localizado em duas ou mais articulações. Dependendo da sua origem, pode ser classificada como uma patologia infecciosa, causada por depósito de cristal ou imunomediada (HOPPER, 1993; BENNETT, 1995).

Acredita-se que a poliartrite causada por *Leishmania chagasi*, seja consequente de uma reação inflamatória granulomatosa devido a presença do parasita ou por uma resposta celular e humoral (MCCONKEY et al., 2002; GUINCHETTI et al., 2008; REIS et al., 2009). No passado, alguns estudos indicaram que a patogenia da lesão articular em cães com leishmaniose visceral é em função das citocinas liberadas por macrófagos infectados, gerando a absorção e destruição da cartilagem óssea (FERRER, 1992) ou ao depósito de imunocomplexos circulantes na sinóvia (CUCINOTTA et al., 1991; FERRER, 1992), que podem originar uma reação de hipersensibilidade tipo III, causando uma ativação local de complemento e síntese de fatores quimiotáticos para neutrófilos (BENNETT & MAY, 1995). As enzimas

hidrolíticas produzidas por neutrófilos desencadeiam destruição articular, vasculite e elevação da permeabilidade capilar (GORMAN, 1995).

Em 2002, McConkey descreveu um caso de um cão que apresentava claudicação e dor nas articulações que progrediu em um período de dois anos, diagnosticado como poliartrite erosiva, subluxação e colapso dos espaços articulares dos carpos, com alterações também na articulação do cotovelo, demonstrando aumento discreto de celularidade no líquido sinovial que constituiu no aumento de 23% de neutrófilos, 16% de células mononucleares e 61% de pequenos linfócitos, além de muitos macrófagos que apresentavam micro-organismos com cinetoplastos, compatíveis com *Leishmania* sp.

Oliveira (2012) relatou um caso de um cão positivo para leishmaniose visceral que apresentou claudicação dos membros posteriores, com tarsos tumefados e dolorosos à palpação. No exame radiográfico foi observado destruição e erosão óssea em ambos os tarsos, sugerindo início de artrite inflamatória erosiva. No exame parasitológico do líquido sinovial foi observado aumento de neutrófilos polimorfonuclear e formas intracelulares e extracelulares compatíveis com amastigotas de *Leishmania* sp.

2.9 Diagnóstico

Atualmente, muitos métodos de diagnósticos da LVC estão sendo utilizados. O diagnóstico laboratorial pode ser feito pelo exame parasitológico direto, testes sorológicos, como imunofluorescência direta (RIFI) ou ensaios imunoenzimático (ELISA), por meio da imunohistoquímica e, também por técnicas moleculares de amplificação de ácido nucléico (PCR ou PCR-Real Time) (MOREIRA et al., 2007; QUEIROZ et al, 2010; SOLCÁ, 2012).

O diagnóstico parasitológico é baseado na visualização direta do parasita na forma amastigota em lâminas preparadas a partir de material biológico colhido através de punções da medula óssea, linfonodo, fígado, rins e também de líquido sinovial (FEITOSA, 2001; BRASIL, 2006; MOREIRA et al., 2007; MARCONDES et al., 2011). Embora esse método seja considerado simples, é tido como invasivo e oferece possíveis riscos aos animais (BRASIL, 2006). A especificidade é de aproximadamente 100%, no entanto a sensibilidade dependerá do grau de

parasitemia, tipo de material biológico coletado, tempo de preparo e leitura da lâmina (BRASIL, 2006).

2.10 Avaliação do líquido sinovial

O líquido sinovial é um fluido transparente e viscoso, amarelo claro, límpido, livre de partículas, presente nas cavidades articulares e bainhas dos tendões (BIASE et al., 2001; BARNABÉ, 2004), que contém proteínas as quais se aderem ao ácido hialurônico, secretados pelas células sinoviais quando o plasma se difunde pelas paredes dos capilares (VAN PELT, 1962 e 1967). Com pH entre 7 e 7,8 e concentração de proteína de 2 a 2,5 g/dl (PERMAN, 1980), o líquido sinovial é desprovido de fibrinogênio e outros fatores de coagulação (SAWYER, 1963).

A avaliação do LS tem sido frequentemente efetuada para distinção da inflamação aguda e crônica, assim como para eliminação de processo infeccioso imunomediado (DE BIASE et al, 2001; AKLERBOM, 2007). As análises podem ser difíceis, devido a problemas na colheita, que muitas vezes geram pequeno volume por ser viscoso, causando limitações nos testes laboratoriais (FISHER, 2003; FERNANDES, 2009).

O aumento na quantidade de líquido sinovial é causado pelo processo inflamatório articular, resultando na diminuição da viscosidade do fluido, devido a diluição ou degradação do ácido hialurônico por hialuronidase produzido por células ou agentes inflamatórios (PEDERSEN, 1978; WILKINS, 1993; LOZIER & MENARD, 1998; TODHUNTER & JOHNSTON, 2003). Em cães com LV, têm sido observado, na avaliação do líquido sinovial, um grande número de neutrófilos (CUCINOTA et al, 1991; SPRENG, 1993; BURACCO et al, 1997). Além de alta concentração de proteínas em conjunto com edema tecidual, que pode ser atribuído a uma elevação da permeabilidade vascular da membrana sinovial, fato que indica uma doença inflamatória (BOON, 1997).

Para buscar a causa da doença inflamatória articular, é necessário a associação da avaliação do líquido sinovial a outros métodos de diagnóstico, como radiografias além do histórico clínico detalhado e exame clínico minucioso do paciente (FERNANDES, 2009).

2.11 Avaliação radiográfica

As lesões osteoarticulares, têm sido descritas e classificadas em diferentes estudos, dependendo da resposta imune do animal e da evolução da doença, como erosivas (WOLSCHRIN et al., 1996; KOUTINAS et al., 1999; BLAVIER et al., 2001; McCONKEY et al., 2002; AGUT et al., 2003) e não erosivas (SPRENG, 1993; KOUTINAS et al., 1999; AGUT et al., 2003). Outros estudos descrevem que as lesões podem ser de duas formas, osteolítica e osteogênica concomitante (SILVA et al., 2007; SILVA, 2009; SILVA et al., 2011; SILVA et al., 2012).

Lesões ósseas causadas por leishmaniose visceral canina, podem progredir em qualquer região óssea, como diáfises dos ossos longos, corpos de ossos irregulares (carpos e tarsos), patela, sesamóides, ossos chatos (pelve e escápula) e crânio. Frequentemente se desenvolvem bilateralmente, entretanto geralmente são observadas nas regiões distais do esqueleto apendicular (SPRENG, 1993; BURACCO et al., 1997; AGUT et al., 2003; SILVA et al. 2007; SILVA, 2009; SILVA et al., 2011; SILVA et al., 2012).

De acordo com a literatura, os achados radiográficos em cães acometidos por LV, incluem esclerose difusa ou localizada na medula óssea de ossos longos, podendo progredir para uma reação periosteal com ou sem a presença de áreas osteolíticas. As lesões do tipo erosivas, indicam cronicidade do processo e a maior parte das alterações radiográficas articulares não estão associadas a presença do parasita na sinóvia, sugerindo que a etiopatogenia das lesões articulares não é apenas decorrente da presença do parasita, mas supostamente ao depósito de imunocomplexos na sinóvia (SILVA, 2009).

No entanto, existem relatos na literatura que referem alguns pacientes com quadros de artrite ou poliartrites, acometidos pela doença, que não apresentavam alterações radiográficas ósseas dignas de nota, pressupondo que o tempo de evolução da enfermidade não fora suficiente para tanto (SPRENG, 1993; JACQUES et al., 2002; EUGÊNIO et al., 2008; PARABONI et al., 2008).

3 JUSTIFICATIVA

O município de São Luís é considerado uma região endêmica para a Leishmaniose Visceral Canina, apresentando altos índices de infestação entre os

cães, considerados os principais reservatórios do parasita. Causas de diversas naturezas podem levar um cão a um quadro de claudicação por alterações articulares, tais como doenças inflamatórias, degenerativas, traumáticas ou parasitárias. Estudos comprovam a presença da *Leishmania* sp no líquido sinovial, possivelmente causando danos à articulação parasitada. Os sinais clínicos de um cão infectado por *Leishmania chagasi* são alopecias localizadas, emagrecimento progressivo, onicogribose e aumento de órgãos abdominais. A claudicação surge como um sinal clínico possivelmente presente em animais infectados por este parasita. Diante do exposto, o presente estudo avaliou radiograficamente a ocorrência de lesões articulares e verificou, por exame parasitológico direto, a presença do parasita no líquido sinovial das articulações coxofemoral e fêmoro-tíbio-patelar.

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

Avaliar por meio de exames radiográfico e parasitológico do líquido sinovial, as articulações de cães naturalmente infectados por *Leishmania* sp.

4.2 Objetivos específicos

- Caracterizar as alterações radiográficas das articulações coxofemoral e fêmoro-tíbio-patelar em cães positivos para leishmaniose visceral.
- Pesquisar a presença de *Leishmania chagasi* no líquido sinovial das articulações coxofemoral e fêmoro-tíbio-patelar por meio do exame parasitológico direto.
- Relacionar os achados radiográficos com a presença do parasita no líquido sinovial das articulações avaliadas.

5 MATERIAL E MÉTODOS

5.1 Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEAA)

O presente estudo foi realizado de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de

Experimentação Animal (CONCEA) e pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Estadual do Maranhão, *campus* Paulo VI, Brasil, estando registrado sob o protocolo n° 08/2017.

5.2 Animais

Foram utilizados 15 animais, de ambos os sexos, de diferentes idades, sintomáticos ou assintomáticos, atendidos no HVU-UEMA, infectados naturalmente por *Leishmania chagasi*.

5.3 Diagnóstico de LVC

O diagnóstico da doença foi baseado no teste imunocromatográfico rápido para detecção qualitativa de anticorpos anti *Leishmania chagasi* em amostra de sangue total canino, e posteriormente confirmados pelo teste de pesquisa direta utilizando como material biológico a medula óssea.

5.4 Avaliação radiográfica

Para a realização dos exames radiográficos foi utilizado o aparelho de Raios-X marca CRX, modelo DF-125- VET, 200 mAs, fixa. Para tanto foram usados chassi e ecrans de tamanhos 24x30 cm com filmes radiográficos de tamanho igual as dimensões do chassi. A técnica radiográfica utilizada foi aquela adequada ao porte do animal, levando em consideração o tamanho e espessura da região a ser radiografada. Para avaliação das articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral foi realizada a incidência mediolateral (ML) e para as articulações coxofemoral a ventrodorsal (VD). As radiografias foram realizadas obedecendo-se as normas de proteção radiológica. A revelação dos filmes se deu por processamento manual. Posteriormente, os filmes radiográficos foram avaliados ao negatoscópio.

5.5 Protocolo anestésico

A coleta do líquido sinovial nas articulações é um procedimento doloroso, assim, os animais foram submetidos a sedação, seguindo o protocolo do setor de anestesia do HVU-UEMA, onde foi aplicado a associação dos anestésicos Acepromazina 0,2% na dose 0,1 mL/kg e Meperidina 50 mg/mL na dose 1,0 mg/kg e

na indução se utilizou Quetamina 100 mg/mL e Diazepam 5 mg/mL, associados, nas doses 3 mg/kg e 0,25 mg/kg respectivamente.

5.6 Avaliação do líquido sinovial

As amostras do líquido sinovial foram obtidas por meio de artrocentese das articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral e coxofemoral, onde obteve-se o volume de aproximadamente 0,5 mL, processadas dentro de um período máximo de 50 minutos, evitando-se a degeneração celular.

A confecção das lâminas foi realizada logo após o término da colheita do líquido, onde se utilizou citocentrifugação, sob aproximadamente 380 G, por um período de cinco minutos. As lâminas foram coradas com corante hematológico para posterior avaliação à microscopia de luz no aumento de 40x e 100x, com imersão, objetivando pesquisar a presença de formas amastigotas de *Leishmania* sp.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

No estudo foram utilizados 15 cães, os quais foram atendidos no HVU-UEMA, positivos para leishmaniose visceral por meio do teste de imunocromatografia para avaliação rápida de triagem, confirmados pelo teste de pesquisa direta utilizando como material biológico a medula óssea.

Na amostra estudada, 60% dos cães eram machos e 40% fêmeas. 80% dos animais eram sem raça definida. A população apresentou idade entre oito e 65 meses, com maior número de animais no intervalo entre 24 e 36 meses (tabela 1).

Tabela 1: Variáveis sexo, raça e faixa etária de 15 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral.

| Variável | Categoria | Número |
|--------------|-----------------|--------|
| Sexo | Fêmea | 7 |
| | Macho | 8 |
| Raça | SRD* | 12 |
| | Fox Paulistinha | 1 |
| | Akita | 1 |
| | Dachshund | 1 |
| Faixa etária | ≤ 1 ano | 4 |
| | 2 a 4 anos | 9 |
| | ≥ 4 anos | 2 |

Sem raça definida*

Foi observada maior ocorrência de leishmaniose visceral canina em animais com idade acima de 12 meses, resultados esses parecidos com os descritos por Spreng (1993), McConkey et al., (2002), Augut et al., (2003) e Silva (2009), que mencionaram maior positividade da doença em cães adultos jovens, embora tenham utilizado metodologia distinta ao trabalho aqui apresentado, diferente dos informados por Ferrer (1992), Noli (1999) e Feitosa et al., (2000) que não encontraram predisposição quanto a faixa etária em estudo realizado com amostras de cães com diferentes idades, selecionados ao acaso.

Não se verificou predisposição racial na amostra estudada, sendo 80% composta por cães sem raça definida (SRD), corroborando com o estudo de Silva (2009) onde 66% dos cães analisados eram SRD. Por se tratar de um estudo clínico em um hospital veterinário que tem o maior público cães errantes e oriundos de famílias carentes, o número de cães sem raça definida atendidos é maior que o número de cães com raça definida, fato que pode justificar no presente estudo, a positividade da leishmaniose visceral ser maior em cães SRD. Dos 15 animais avaliados 60% eram machos e 40% fêmeas, não havendo predisposição sexual confirmando os achados de Ferrer (1992), Noli (1999) e Feitosa et al., (2000), Sonoda (2007) e Miranda et al., (2008) que não observaram propensão quanto a sexualidade nos animais avaliados em seus estudos.

De acordo com os estudos de Koutinas et al. (1999) a ocorrência de LVC não é influenciada pela idade dos animais, porém há trabalhos, como os de Buracco et al., (1997), Souza et al., (2005), Santos et al., (2006), Paraboni et al., (2008), que demonstraram casos de cães com idade inferior a um ano. Tal fato pode estar relacionado com a resistência do hospedeiro onde os sinais clínicos podem se manifestar em um período de um mês a vários anos. (SLAPPENDEL, 1988; KOUTINAS et al., 1999; CARDOSO et al., 2004; ROZE 2005).

No presente estudo 60% dos cães apresentaram sinais clínicos no sistema locomotor. Os mais frequentes foram claudicação, paresia dos membros posteriores e artralgia (tabela 2), semelhante aos achados por Silva (2014) em um estudo com 46 cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* oriundos do Centro de Controle

de Zoonoses (CCZ) da cidade Bauru no estado de São Paulo, que referiu estes, como principais sinais clínicos do sistema locomotor. Foi observado ainda mais de uma alteração em um mesmo animal concomitantemente. Limitações de movimento ocorrem em grande parte dos animais naturalmente infectados por *Leishmania* sp. (NOLI, 1999; FEITOSA et al., 2000).

Tabela 2: Frequência dos achados clínicos osteoarticulares de 9 cães positivos para leishmaniose visceral.

| Animal | Sinais clínicos | | | | Total/animal |
|-----------------------|-----------------|---------------------------------|-----------|------------|--------------|
| | Claudicação | Paresia dos membros posteriores | Artralgia | Crepitação | |
| 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 2 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 4 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 6 | 0 | 1 | 0 | 0 | 1 |
| 7 | 1 | 0 | 0 | 1 | 2 |
| 8 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 |
| 11 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| 13 | 1 | 0 | 1 | 0 | 2 |
| Total da lesão | 7 | 2 | 4 | 1 | - |

*0 = ausência

1 = presença

Além de sinais osteoarticulares, os animais apresentaram sinais clínicos clássicos da leishmaniose visceral canina (figura 1), dentre estes os principais foram lesão periocular, lesões cutâneas generalizadas, alopecia e onicogribose (figura 2), similar aos achados de Dias et al., (2008) e Oliveira (2012) onde os sinais clínicos mais frequentes foram onicogribose e lesões cutâneas.



Figura 1: Apresentação clínica de cão positivo para leishmaniose visceral.

Em 60% da amostra analisada dos cães apresentaram ao menos um sinal clínico relacionado a LVC, enquanto 40% apresentaram-se assintomáticos. Segundo Slappendel (1988) animais com leishmaniose visceral apresentam sinais clínicos inespecíficos e diferentes além de não apresentarem nenhum sinal clínico, ou seja, podem ser sintomáticos ou assintomáticos.

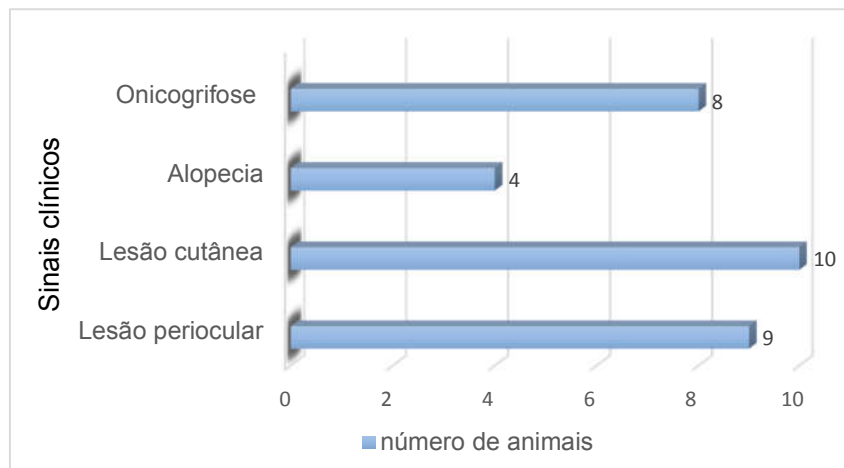


Figura 2: Frequência dos achados clínicos em cães com leishmaniose visceral.

No que tange a avaliação do líquido sinovial, a presença do parasita ocorreu em apenas um animal, onde foi identificada a forma amastigota da *Leishmania* sp (figura 3). Esse animal, ao exame clínico apresentou apenas alopecia e ausência de sinal osteoarticular. Nenhuma alteração radiográfica nas articulações avaliadas desse animal foi observada, o que está de acordo com os achados de Augut et al., (2003) e Feitosa (2006) que identificaram *Leishmania* sp. em amostras de LS porém não identificaram lesões ósseas e articulares nas radiografias.

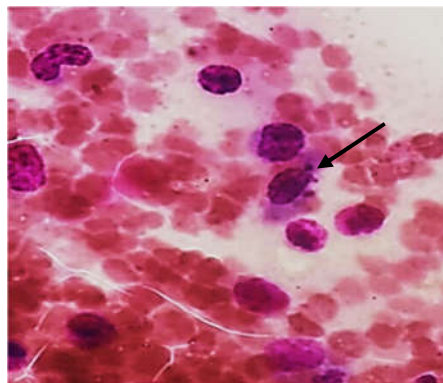


Figura 3: Pesquisa parasitológica direta do líquido sinovial de um cão acometido por leishmaniose visceral, indicando formas amastigotas de *Leishmania* sp. (seta preta).

A visualização de *Leishmania* sp. em LS já havia sido descrita por Yamaguchi et al., (1983), Spreng (1993), Buracco et al., (1997) e Augut et al., (2003), Silva (2009), Oliveira (2012). Neste estudo, as amostras de LS apresentaram baixa quantidade de volume, dificultando a pesquisa do parasita no material colhido, limitação também relatada por Augut et al., (2003) e Silva et al., (2009) associado a dificuldade de colheita. Contudo, a não visualização do parasita no LS não exclui a presença deste na sinóvia, visto que pode ocorrer que a amostra colhida não tenha apresentado nenhum parasita, fato comum em exames de pesquisa direta de parasitas em material biológico, podendo ser agravada pelo baixo volume de material disponível, conforme já demonstrado em estudo anterior (SILVA, 2009).

No estudo radiográfico, foram avaliadas radiograficamente as articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral e coxofemoral dos 15 cães, totalizando 45 articulações estudadas. Avaliou-se o fêmur, tíbia e fíbula por meio de uma observação geral das radiografias com o objetivo de se detectar qualquer alteração óssea possível.

Em 60% dos cães foi visualizado pelo menos uma lesão na articulação fêmoro-tíbio-patelar com envolvimento bilateral (tabela 3), os demais não apresentaram alterações dignas de nota. As lesões foram caracterizadas por irregularidade em superfície articular, esclerose subcondral (figura 4) e aumento de densidade em cápsula articular. As articulações coxofemoral não apresentaram alterações em nenhum dos cães avaliados no presente estudo.

Tabela 3: Lesões radiográficas encontradas nas articulações fêmoro-tíbio-patelar bilateral em nove cães positivos para leishmaniose visceral

| Animal | Sinal clínico osteoarticular | Esclerose subcondral | Irregularidade em superfície articular | Aumento de densidade em cápsula articular |
|-----------------------|---------------------------------|----------------------|--|---|
| 4 | Claudicação | 1 | 1 | 0 |
| 5 | Assintomático | 1 | 0 | 1 |
| 6 | Paresia dos membros posteriores | 0 | 0 | 1 |
| 8 | Claudicação | 1 | 0 | 0 |
| 10 | Assintomático | 0 | 0 | 1 |
| 11 | Claudicação e artralgia | 1 | 1 | 1 |
| 12 | Assintomático | 1 | 0 | 0 |
| 13 | Claudicação e artralgia | 1 | 0 | 0 |
| 15 | Assintomático | 1 | 0 | 1 |
| Total da lesão | – | 7 | 2 | 5 |

*0 = ausência 1 = presença

Esclerose subcondral é um achado radiográfico que também foi encontrado por Silva (2009), em um estudo realizado no Centro de Controle de Zoonoses do município de Araçatuba no estado de São Paulo, em cães positivos para leishmaniose visceral encaminhados para eutanásia. No estudo acima citado foi observado esclerose subcondral nas articulações fêmoro-tíbio-patelar em apenas 11 dos 100 animais avaliados. Segundo Turrel & Pool (1982) esclerose subcondral pode ser interpretada como uma evidência de infecção inicial.

As alterações caracterizadas por irregularidade em superfície articular e aumento de densidade em cápsula articular, totalizaram 13% e 33% respectivamente. Esses achados não foram observados nos estudos de Silva (2009) e Silva (2014) com cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. Os mesmos informaram outros achados radiográficos, como colapso articular, trabeculado ósseo grosseiro e osteólise.

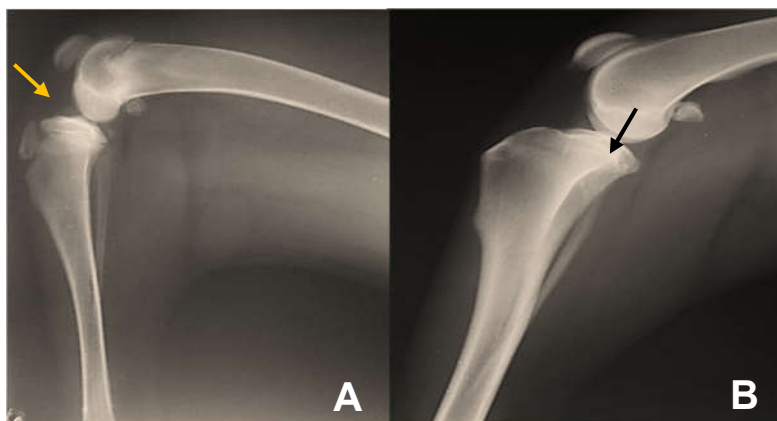


Figura 4: (A) Incidência mediolateral da articulação fêmoro-tíbio-patelar indicando irregularidade em cápsula articular da tibia (seta amarela). (B) Esclerose subcondral em tibia (seta preta).

Segundo Kontos & Koutinas (1993) alterações ósseas e articulares têm sido descritas como incomuns em cães com leishmaniose visceral, fato também descrito por Feitosa et al., (2000) que relataram alterações no sistema locomotor em apenas 9 de 215 animais analisados. Diferente dos achados de Buracco (1997) Augut et al., (2003) e Silva (2009) que descrevem lesões ósseas como frequentes em cães com LV. Porém, no presente estudo, sete cães apresentaram claudicação, sendo que em três destes não visualizou-se alterações radiográficas e houve ausência do parasita no LS, levando a acreditar que o tempo de evolução da infecção ainda não

tenha sido suficiente para o desenvolvimento das lesões (SPRENG, 1993; JACQUES et al., 2002; EUGÊNIO et al., 2008; PARABONI et al., 2008). Verificou-se que 60% dos cães apresentaram alteração óssea, dentre estes, 40% apresentaram sinais clínicos osteoarticular e 20% foram assintomático. O parasita foi observado em uma articulação do total estudado, levando a acreditar que as alterações articulares observadas em cães com leishmaniose visceral independem da presença do parasita no líquido sinovial ou que estas podem estar associadas ao desenvolvimento da doença. Em estudo realizado por McConkey et al., (2002) cães positivos para LV apresentaram quadro de claudicação com evolução lenta de um a dois anos antes dos sinais radiográficos de osteoartrite estarem evidentes, no estudo não se informou que tenham evidenciado a presença do parasita.

7 CONCLUSÃO

As articulações de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi*, podem sofrer diferentes injúrias que podem ser visualizadas ao exame radiográfico. Na presente pesquisa as alterações radiográficas mais evidentes foram esclerose subcondral, irregularidade em superfície articular e aumento de densidade em cápsula articular. Contudo, a ausência de alterações ósseas nas radiografias não exclui a presença de *Leishmania chagasi* no líquido sinovial, considerando-se o tempo da infecção pelo parasita, assim como lesões ósseas encontradas em cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral independem da presença do parasita na sinóvia.

O exame parasitológico de pesquisa direta de formas amastigotas de *Leishmania chagasi* em líquido sinovial é de difícil sensibilidade, não sendo, portanto, indicado como exame de rotina em cães positivos para leishmaniose visceral que apresentem sinais clínicos osteoarticulares.

8 REFERÊNCIAS

- ABREU-SILVA, A. L.; LIMA, T. B.; MACEDO, A. A.; MORAES-JÚNIOR, F. J.; DIAS, E. L.; BATISTA, Z. S.; CALABRESE, K. S.; MORAES, J. L. P.; REBÊLO J. M. M.; GUERRA, R. M. S. N. C. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, 17, Supl. 1, 197-203 (2008).
- AGUT, A.; CORZO, N.; MURCIANO, J.; LAREDO, F.G.; SOLER, M. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs whit leishmaniasis. **Veterinary Record**, v.153, n.21, p.648-652, 2003.
- AKERBLOM, S.; SJÖSTRÖM, L. Evaluation of clinical, radiographical and cytological findings compared to arthroscopic findings in shoulder joint lameness in the dog. **Veterinary and Comparative Orthopedics and Traumatology**, v.2, p.136-141,2007.
- ANDRADE, H. M., Toledo, V.P.C.P., Marques, M.J., Silva, J.C.F., Tafuri, W.L., Mayrink, W., Genaro, O., 2002. *Leishmania (Leishmania) chagasi* is not vertically transmitted in dogs. **Veterinary Parasitology** 103, 71-81.
- BANETH, G.; KOUTINAS, A.F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis- new concepts and insights on expading zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v.24, p.324-330, 2008.
- BARATA, R.A.; SILVA, J.C.F.; MAYRINK, W.; PRATA, A.; LOROSA, E. S.; FIUZA, J. A.; GONÇALVES, C.M.; PAULA, K.M.; DIAS, E.S. Aspectos da ecologia e do comportamento de flebotomíneos em área endêmica para leishmaniose visceral. Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.38, n.5, p.421-425, 2005.
- BARBIÉRI, C. L. Immunology of canine leishmaiasis. **Parasite immunology**, v. 28, p. 329-337, 2006.
- BARNABÉ, P. A.; CATTELAN, J. W; CADIOLI, F. A. Anatomofisiologia da bainha tendínea sinovial digital dos eqüinos. **Cienc. Rural**, v. 34, n.2, p. 619-623, 2004.
- BARROS, V. L, REBÊLO, J. M. M.; SILVA, F. S. Flebotomíneos (Diptera, Psychodidae) de capoeira do município do Paço do Lumiar, Estado do Maranhão, Brasil. Área endêmica de leishmanioses. **Caderno de Saúde Pública**, v.16, p. 265-270, 2000.
- BENNETT, D.B.; MAY, C. Joint diseases of dogs and cats. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine**. 4.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1995. p.2032-2077.

BEVILACQUA, L.; MAIA, C.A.A.; ZANETTI, M.F. Ocorrência de osteoartrite em cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. In: CONGRESSO PAULISTA DE CLÍNICOS DE PEQUENOS ANIMAIS, 2007, São Paulo, São Paulo, **Anais...** São Paulo, 2002. p.10.

BIASE, F; RAHAL, S. C; LOPES, R. S. et al. Alterações no líquido sinovial do joelho de cães com osteoartrite induzida pelo modelo Pond e Nuki. **Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.** v. 53, n. 5, p. 563-567, 2001.

BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE, P.; GOY-THOLLOT, I.; CHABANNE, L.; CADORÉ, J.L.; BOURDOISEAU, G. Atypical forms of canine leishmaniosis. **Veterinary Journal.** v.162, n.2, p.108-120, 2001.

BOGGIATTO, P. M. et al. Transplacental transmission of leishmania infantum as a means for continued disease incidence in north america. **PLoS. Negl. Trop. Dis.** **5(4)** e **1019**. Abril 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3075227/pdf/pntd.0001019.pdf>>. Acesso em 20 de fevereiro, 2017.

BOON, D. Synovial fluid analysis: A guide for small-animal practitioners. **Veterinary Medicine.** v.92, p.443-451, 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.** Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 122p.

BURACCO, P.; ABATE, O.; GUGLIELMINO, R.; MORELLO, E. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with leishmania donovani infection in a dog. **Journal of Small Animal Practice,** v.38, n.1, p.29-30, 1997.

CAMARGO, J. B.; TRONCARELLI, M. Z.; RIBEIRO, M. G.; LANGONI, H. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle. **Clínica Veterinária,** São Paulo, ano 12, n.71, p.86-92, 2007.

CAMARGO, L. M. A.; BARCINSKI, M. A. Leishmanioses; feridas bravas e Kalazar. **Ciênc. Cult.,** v. 55, n. 1, p. 34-37, 2003.

CARDOSO, L.; RODRIGUES, M.; SANTOS, H.; SCHOONE, G.J.; CARRETA, P.; VAREJÃO, E.; van BENTHEM, B.; AFONSO, M.O.; ALVES-PIRES, C.; SEMIÃO-SANTOS, S.J.; RODRIGUES, J.; SCHALLIG, H.D. Seroepidemiological study of canine Leishmania spp. infection in the municipality of Alijó. **Veterinary Parasitology,** v.121, n.1-2, p.21-32, 2004.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **Compendium,** v.25, n.5, p.358-369, 2003.

COLOMBO, F. A. et al. Detection of leishmania (leishmania) infantum RNA in fleas and ticks collected from naturally infected dogs. **Parasitology research** (2011). doi: 10.1007/s00436-010-2247-6.

COSTA, J. M. L.; VIANA, G. M. C.; SALDANHA, A. C. R.; NASCIMENTO, M. D. S. B.; ALVIM, A. C.; BURATTINI, M. N. & SILVA, A. R. Visceral Leishmaniasis in the State of Maranhão, Brazil: Evolution of an Epidemic. **Caderno de Saúde Pública**, v. 11, n. 2, p.321-324, 1995.

COUTINHO, C.E.R et al. Evaluation of *Leishmania (Leishmania) chagasi* strain isolated from dogs originating from two visceral leishmaniasis-endemic areas in Brazil using multilocus enzyme electrophoresis. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 44, n. 5, p. 572-575, 2011.

CUCINOTTA, G.; IANNELLI, N.; MUSICÒ, M.; LOMBARDO, N. Singolare forma di leishmaniosi: lesioni osteo-articolari bilaterali del carpo e del tarso in un cane. **Praxis Veterinaria**, v.12, n.3, p.12-14, 1991.

DE BIASE, F; RAHAL, S. C; LOPES, R. S. et al. Alterações no líquido sinovial do joelho de cães com osteoartrite induzida pelo modelo Pond e Nuki. **Arquivo Brasileiro Medicina e Zootecnia**, v. 53, n. 5, p. 563-567, 2001.

DENNY, H. R.; BUTTERWORTH, S. J. Joelhos. In:_____. **Cirurgia ortopédica em cães e gatos**. São Paulo: Editora Roca, 2006. cap. 42, 427p.

DESJEUX P. 2004. Leishmaniasis: Current situation and new perspectives. **Comparative Immunology Microbiology and Infectious Diseases**. v. 27, p.305-318.

DUPREY, Z.; STEURER, F.; ROONEY, J.; KIRCHHOFF, L.; JACKSON, J.; ROWTON, E.; DCHANTZ, P. Canine visceral leishmaniosis, United States and Canada, 2000-2003. **Emerging Infectious Diseases**, v.12, p.440-446, 2006.

DURANA, J.N. **Caracterização da Clínica Cirúrgica da Ruptura do Ligamento Cruzado Cranial em Canídeos**. 2009. 94f. Dissertação (Mestrado em medicina veterinária), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa.

EUGÊNIO, F.R.; SILVA, A.A.L.; LUVIZOTTO, M.C.R.; PERRI, S.H.V.; LIMA, V.M.F.; BONELLO, F.L. Estudo clínico-laboratorial das articulações na leishmaniose experimental em cães. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.2, p.278-287, 2008.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; PERRI, S.H.V. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, ano V, n.28, p.36-44, 2000.

FEITOSA, M. M. Leishmaniose visceral: um desafio crescente. **Revista inter. vet pet**, p. 1-15, 2001.

FEITOSA, M.M. Avaliação clínica de animais naturalmente infectados. In: FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA. COLÉGIO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, FACULDADE DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E VETERINÁRIA DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA, 1; 2006, Jaboticabal, São Paulo, **Anais...** Jaboticabal, 2006.

FERNANDES, P.J. Análise de líquido sinovial. In: CROWELL, R.L.; TYLER, R.D.; MEINKOTH, J.H.; DENICOLA, D.B. **Diagnóstico citológico e hematologia de cães e gatos**. 3.ed. São Paulo: Med.Vet, 2009. p.193-209.

FERRER, L. Leishmaniasis. In: KIRK, R. W.; BONAGURA, J. D. Kirk's **Current Veterinary Therapy XI**. Philadelphia: W.B. Saunders, p. 266-270, 1992.

FISHER, D.J. Sistema musculoesquelético. In: RASKIN, R.E.; MEYER, D.J. **Atlas de citologia de cães e gatos**. 1. ed. São Paulo: Roca, 2003. cap. 12, p. 265-268.

FONSECA, V. L.; SANTUCCI, S. G. Leishmaniose visceral americana. Vigilância Epidemiológica de Doenças e Agravos. **Guia de vigilância epidemiológica específica**, 2001. Cap.5, p. 1-2.

FREEMAN, K., 2010. Update on the diagnosis and management of *Leishmania* spp infections in dogs in the United States. **Topics in Companion Animal Medicine** 25, 149-154.

FREITAS, J. C. C. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Revista da sociedade brasileira de medicina tropical**, jan-fev, 2012: 24-29.

GENARO, O. **Leishmaniose visceral canina experimental**. Belo Horizonte. 1993. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

GENARO, O.; MARQUES, M.J.; REIS, A.B.; SILVA, A.L.F.F.; MICHALICK, M.S.M.; COSTA, C.A.; MAYRING, W.; DIAS, M. Leishmaniose visceral americana. In: NEVES, D.P. **Parasitologia Humana**. 10.ed. São Paulo: Atheneu, 2000, p.56-72.

GIUNCHETTI, R.C.; MARTINS-FILHO, O.A.; CARNEIRO, C. M.; MAYRINK, W.; MARQUES, M.J.; TAFURI, W.L.; CORRÊA-OLIVEIRA, R.; REIS, A.B. Histopathology, parasite density and cell phenotypes of the popliteal lymph node in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v.121, p.23-33, 2008.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. **Leishmaniose visceral no Brasil**. Revista Brasileira de Epidemiologia, São Paulo, v. 7, n. 3, p. 338-249, 2004.

GORMAN, N.T. Immunology. In: ETTINGER, S.J.; FELDMAN, E.C. **Textbook of Veterinary Internal Medicine. Diseases of the Dog and Cat**. 4.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 1995. p.1978-2002.

HOPPER, P.E. Immune-mediated joint diseases. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, 1993. p.1928-1937.

JACQUES, D.; CAUZINILLE, L., BOUVY, B.; DUPRE G. A retrospective study of 40 dogs with polyarthritis. **Veterinary Surgery**, v.31, n.5, p.428-434, 2002.

KONTOS, V.J.; KOUTINAS, A.F. Old World Canine Leishmaniasis. **Compendium on Continuing Education Small Animal**, v.15, n.7, p.949-959, 1993.

KOUTINAS, A.F. POLIZOPOULOU, Z.S.; SARIDOMICHELAKIS, M.N.; ARGYRIADIS, D.; FYTIANOU, A.; PLEVRAKI, K.G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of American Animal Hospital Association**, v.35, p.376-383, 1999.

LAINSON, R.; SHAW, J.J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICH, R. ed. **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, p.1-121, 1987.

LAISON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of american visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – A Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, n.8, p. 811-827, 2005.

LIMA, V.M.F.; GONÇALVES, M.E.; IKEDA, F.A.; LUVIZOTO, M.C.R.; FEITOSA, M.M. Anti-leishmania antibodies in cerebrospinal fluid from dogs with visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, n.4, p.485-489, 2003.

LOPEZ, R.; LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P.J.; MARTIN, E.; MOLLEDA, M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medicine**. v. 43, p.469-474, 1996.

LOZIER, S.M.; MENARD, M. Arthrocentesis and synovial fluid analysis. In: BOJRAB, M.J. **Current techniques in small animal surgery**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1998. p.1057-1062.

LUPPI, M. M.; MALTA, M. C. C.; SILVA, T. M. A.; SILVA, F. L.; MOTTA, R. O. C.; MIRANDA, I.; ECCO, R.; SANTOS, R. L. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 55, n. 1/2, p. 146-151, 2008.

MARCONDES, M. **Envolvimento do sistema nervoso central na leishmaniose visceral canina**. 2008. 154f. Tese (Livre-docência). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista Araçatuba, 2008.

MARQUES, Maria Inês Lopes de Moura. **Leishmaniose canina**. Dissertação de Mestrado, Universidade Técnica de Lisboa, Faculdade de Medicina Veterinária, Lisboa, 2008.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W.J.; AMENDOEIRA, M .R. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**, v. 41, n. 5, p. 61-84, 1981.

MATERA, J.M.; TATARUNAS, A.C. Duas abordagens artroscópicas para a articulação escapuloumeral no cão. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.37, n.2, p.432-437, 2007.

MAURICIO, I.L.; STOTHARD, J.R.; MILES, M.A. The strange case of *Leishmania chagasi*. **Parasitology today**, v.16, n.5, p.188-189, 2000.

MCCONKEY, S. E. LÓPEZ, A.; SHAW, D.; CALDER, J. Leishmanial polyarthritis in a dog. **Canadian Veterinary Journal**, v.43, p.607, 2002.

MENDES, W.S; TROVÃO, J. R.; COSTA, J. M. L. Expansão espacial da leishmaniose visceral americana em São Luís, Maranhão, Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, p.227-231, 2002.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D. P. **Parasitologia Humana**, Ed Atheneu, 2004. 11a ed, pg. 41-46.

MIRANDA, I.; ECCO, R.; SANTOS, R. L. Visceral leishmaniasis in captive wild canids in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 55, n. 1/2, p. 146-151, 2008.

MOREIRA, M.A.B; LUVIZOTTO, M.C.R.; GARCIA, J.F.; CORBETT, C.E.P.; LAURENTI, M.D. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. **Veterinary Parasitology**, v.145, p.245, 2007.

MÜLLER K, VAN ZANDBERGEN G, HANSEN B, LAUFS H, JAHNKE N, SOLBACH W, LASKAY T. Chemokines, natural killer cells and granulocytes in the early course of *Leishmania major* infection in mice. **Med Microbiol Immunol**. Nov; 190 (1-2): 73-6. 2001.

NASCIMENTO, M.D.S.B.; COSTA, J.M.L., FIORI, B.I.P.; VIANA, G.M.C.; FILHO, M.S.G.; ALVIM, A.C.; BASTOS, O.C.; NAKATANI, M.; REED, S.; BADARÓ, R.; SILVA, A.R.; BURATTINI, M.N. Aspectos Epidemiológicos determinantes na manutenção da Leishmaniose Visceral no Estado do Maranhão – Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.29, n.3, p.230-240, 1996.

OLIVEIRA, F. V. **Leishmaniose canina: Casos clínicos do Hospital Veterinário Montenegro**. Dissertação (Mestrado integrado em Medicina Veterinária) Universidade de Trás-Os-Montes e Alto Ouro, Vila Real, 2012.

NOÉ, P. **Infecção por *Leishmania* sp. em gatos (*Felis domesticus*) na cidade de Campo Grande, MS, Brasil.** Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) Universidade Federal de Mato Grosso do Sul. Campo Grande, 2008.

NOLI, C. Leishmaniosis canina. **Waltham Focus**, v.9, n.2, p.16-24, 1999.

PARABONI, C.; FRANCO, P.A.; MATTEI, D.R. Poliartrite por leishmaniose visceral canina: relato de caso. In: Congresso brasileiro de medicina veterinária (conbravet), 2008, Gramado, Rio Grande do Sul. **Anais...** Gramado, 2008.

PEDERSEN, N.C. Synovial fluid collection and analysis. **Veterinary Clinics North America**, v.8, p.495-499, 1978.

PERMAN, V. Synovial fluid. In: KANEKO, J.J. (Ed.). **Clinical biochemistry of domestic animal**. 3 ed. New York: Academic, 1980. p.749-83.

PUGLIESE, A., DI PIETRO, S., GIUDICE, E., 2006. Clinical and diagnostic patterns of leishmaniasis in the dog. **Veterinary Research Communications**, v.30, 39–43.

QUEIROZ, N. M. G. P. et al. Diagnóstico da leishmaniose visceral canina pelas técnicas de imunistoquímica e PCR em tecidos cutâneos em associação com a RIFI e ELISA teste. **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, Jaboticabal, v. 19, n. 1, p. 32-38, jan-mar. 2010.

REIS, A.B.; MARTINS-FILHO, O.A.; TEIXEIRA-CARVALHO A.; GIUNCHETTI, R.C.; CARNEIRO, C.M.; MAYRINK, W.; TAFURI, W.L.; CORRÊA-OLIVEIRA, R. Systemic and compartmentalized immune response in canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v.128, n.1-3, p.87-95, 2009.

REY, L. **Parasitologia**. 3.ed. Rio de Janeiro. Guanabara Koogan, 2001. p.214-240.

RIBEIRO, C.R. **Aspectos clínicos, epidemiológicos, laboratoriais de cães sororreagentes para leishmaniose visceral, em foco de transmissão do Distrito Federal DF Brasil.** 2007. 93f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2007.

RIBEIRO, V.M. Leishmanioses. **Revista do Conselho Federal de Medicina Veterinária**, Ano 3, n.11, p.13-14, 1997.

ROCHA, Alessandra Guizzo da. **Leishmaniose visceral canina no Rio Grande do Sul – Revisão Bibliográfica.** Monografia (Graduação em Medicina Veterinária) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2012.

ROCHA, B.D. **Estudo cinemático associado ao estudo radiográfico na avaliação da displasia coxofemoral em cães da raça Pastor Alemão.** 2012. 59f. Tese

(Doutorado em Ciência Animal) pela Escola de Veterinária da Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

ROZE, M. Canine leishmaniasis. A spreading disease. Diagnosis and treatment. **European Journal of Companion Animal practice**, v.15, p.39-52, 2005.

SANTA ROSA, I.C.A.; OLIVEIRA, I. C. S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Rev. Clín. Vet.**, v. 2, n. 11, p. 28, 1997.

SANTOS, M.; MARCOS, R.; ASSUNÇÃO, M.; MATOS, A. J. F. Polyarthritides associated with visceral leishmaniasis in a juvenile dog. **Veterinary Parasitology**, v.141, p.340-344, 2006.

SARIDOMICHELAKIS, M.N. et al. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.73, p.82-86, 2005. Available from: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16014839>>. Accessed: Jul. 07, 2013.

SAWYER, D. C. Synovial fluid analysis of canine joints. **J. Am. Vet. Med. Assoc.**, v. 143, n.6, p. 609-612, 1963.

SCHIMMING, B. C. PINTO E SILVA, J. R. C. LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA – Revisão de literatura. **Revista científica eletrônica de medicina veterinária**. N. 19, p. 1-17, Julho de 2012 – Periódicos Semestral.

SHAW, J.J. Further thoughts on the use of the name *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n.5, p.577-579, 2006.

SHERDING, R. G. Toxoplasmosis and other systemic protozoal infections. In: **Saunders Manual of Small Animal Practice**, 3th ed. St Louis: Saunders Elsevier, 2006.

SILVA, A. R.; VIANA, G. M. C.; VARONIL, C; PIRES, B.; NASCIMENTO, M. D. S.D. ; COSTA, Jackson M.L. Leishmaniose visceral (calazar) na ilha de são luís, maranhão, brasil: evolução e perspectivas **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.** vol.30 n.5 Uberaba Sept./Oct. 1997.

SILVA, A. V. M. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 21, n. 1, p. 324-328, 2005.

SILVA, A. A. L. **Estudo clínico-laboratorial das articulações de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral e experimentalmente inoculados com *Leishmania chagasi* por via intra-articular**. 2007. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) – Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Julio de mesquita Filho”, Araçatuba, SP.

SILVA, A. R. S.; **Avaliação radiográfica das articulações dos membros locomotores de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral no município de Araçatuba-SP**, 2009. 65f. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal / Fisiopatologia Clínica e Cirúrgica). Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, São Paulo, 2009.

SILVA, A.R.S.; GOMES, A.A.D.; VIEIRA, R.F.C.; BIONDO, A.W.; MARCONDES, M.; LIMA, V.M.F.; CIARLINI, P.C.; CIARLINI, L.D.R.P. Lesões osteoarticulares em cães naturalmente acometidos por leishmaniose. In: CONGRESSO BRASILEIRO DA ANCLIVEPA. 32, 2011, Goiânia, Goiás, **Anais...** Goiânia, 2011.

SILVA, A. R. S.; ZULIM-LIMA, R. M. I.; MAMPRIM, M. J.; RAHAL, S. C.; CIARLINI, L. D. R. P. Osteomyelitis canine caused by *Leishmania* spp. In: EUROPEAN SOCIETY OF VETERINARY ORTHOPAEDICS AND TRAUMATOLOGY CONGRESS - ESVOT. 16, 2012, Bologna, Italy. **Proceedings...** Bologna, 2012.

SLAPPENDEL, R.J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. 2.ed. Philadelphia: W.B.Saunders, 1998. p.450-458

SOLCÁ, M. D. S.et al. Qualitative and quantitative polymerase chain reaction (PCR) for detection of *Leishmania* in spleen samples from naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 184, p. 133-140, 2012.

SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.;BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.1-18, 2009.

SONODA, M. C. **Leishmaniose visceral canina: aspectos clínicoepidemiológicos de casos atendidos no período de 1997 a 2007, no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo**. São Paulo, 2007. 115p. Dissertação (Mestrado) Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SPRENG, D. Leishmanial polyarthritis in two dogs. **Journal Small Animal Practice**, v.34, n.11, p.559-563, 1993.

SOUZA, A.I.; JULIANO, R.S.; GOMES, T.S.; DINIZ, S.A.; BORGES, A.M.; TAFURI, W.L.; SANTOS, R.L. Osteolytic osteomyelitis associated with visceral leishmaniasis in a dog. **Veterinary Parasitology**, v.129, n.1-2, p.51-54, 2005.

TODHUNTER, R.J.; JOHNSTON, S.A.; Osteoarthritis. In: SLATTER, D. **Textbook of small animal surgery**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, 2003. p.2208-2246.

TOMÁS, A.M.; ROMÃO, S. F. **Biologia do parasita**. In: Santos-Gomes, G. & Fonseca, I. P. (Eds.), *leishmaniose Canina*. Lisboa: Chaves Ferreira. 2008, p. 7-26.

TURREL, J.M.; POOL, R.R. Bone lesions in four dogs with visceral leishmaniasis. **Veterinary Radiology**, v.23, n.6, p.243-249, 1982.

VAN PELT, R. W. Properties of equine sinovial fluid finding in the hourse. **Journal American Veterinary Medical Association**, v.141, p.1051-1061, 1962.

VAN PELT, R. W. Characteristics of normal equine tarsal sinovial fluid. **Can J. Comp. Med. Vet. Sci.**, v.31, n.12, p.342-347, 1967.

World Health Organization (WHO). Executive Board 118th Session. **Control of leishmaniasis**. 2006.

WILKINS, R.J. Joint Fluid analysis. In: BOJRAB, M.J. **Disease mechanisms in small animal surgery**. 2.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1993. p.705-710.

WOLSCHRIJN, C.F.; MEYER, H.P.; HAZEWINDEL, H.A.W.; WOLVEKAMP, W.Th.C. Destructive polyarthritis in a dog with leishmaniasis. **Journal of Small Animal Practice**, v.37, n.12, p.601, 1996.

YAMAGUSCHI, R.A.; FRENCH, T.W.; SIMPSON, G.F.; HARVEY, J.W. *Leishmania donovani* in the synovial fluido of a dog with visceral leishmaniasis. **Journal of American Animal Hospital Association**, v.19, p.723-726, 1982.