

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ASPECTOS DOPPLER E ELASTOGRÁFICOS RENAL E ESPLÊNICO
NA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

CARMEL REZENDE DADALTO

Botucatu – SP

2020

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

ASPECTOS DOPPLER E ELASTOGRÁFICOS RENAL E ESPLÊNICO
NA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

CARMEL REZENDE DADALTO

Tese apresentada junto ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia Animal, área de concentração Radiologia Veterinária, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP – Campus de Botucatu para obtenção do título de Doutora.

Orientadora: Prof^a Associada Maria Jaqueline Mamprim

Botucatu – SP
2020

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Dadalto, Carmel Rezende.

Aspectos Doppler e elastográficos renal e esplênico na
Leishmaniose visceral canina / Carmel Rezende Dadalto. -
Botucatu, 2020

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista
"Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina
Veterinária e Zootecnia

Orientador: Maria Jaqueline Mamprim
Capes: 50501038

1. Cães - Doenças. 2. Leishmaniose visceral. 3. Rins -
Doenças. 4. Zoonoses. 5. Diagnóstico por imagem.

Palavras-chave: Diagnóstico por imagem; Doença renal;
Leishmania; Saúde pública; Zoonose.

Autora: Carmel Rezende Dadalto

Título: Aspectos Doppler e elastográficos renal e esplênico na Leishmaniose visceral canina

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a Dra. Maria Jaqueline Mamprim

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP - Botucatu

Prof. Dr. Alexandre Redson Soares da Silva

Membro

Universidade Federal do Vale do São Francisco

Profa. Dra. Raquel Sartor Marcelino

Membro

FATEC- Botucatu

Prof. Dr. Hugo Salvador Oliveira

Membro

Centro Universitário Max Planck

Dra. Letícia Rocha Inamassu

Membro

Médica Veterinária Autônoma

Data da Defesa: 06/05/2020

*“Não é o que você faz, mas quanto amor você
dedica no que faz que realmente importa”*

Madre Teresa de Calcutá

Aos meus pais, João Batista e Marisa, sem vocês nada seria possível.

Dedico

AGRADECIMENTOS

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de financiamento 001;

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro para desenvolvimento processo 2018/21048-5;

À Deus por iluminar minha trajetória.

*À minha orientadora, **Prof^ª. Dr^ª. Maria Jaqueline Mamprim** pela oportunidade e o privilégio de compartilhar seus conhecimentos e experiência, sendo responsável pelo meu crescimento profissional e pessoal. Meu eterno agradecimento pela amizade, conselhos e acolhimento materno que proporcionou durante esses anos na UNESP.*

*À **Prof^ª Dr^ª Priscylla Tatiana C. Guimarães-Okamoto** pela colaboração nesse estudo.*

*Ao **Prof^º Dr. Sérgio Britto Garcia** e **Dr^a Isabella Marques** na contribuição para as análises histopatológicas.*

*Aos professores doutores **Sheila Canevese Rahal** e **Bruno César Schimming** pelas sugestões na qualificação desse trabalho.*

*Aos funcionários do Setor de Diagnóstico por Imagem, pela companhia e convivência durante os últimos anos, em especial **Heraldo, Maurício, João, Marcos e Gilda**.*

*Aos veterinários **Valéria Medina Camprigher, Cláudia Cilene Barbosa Gomiere, Mário Silva e Luiz Ricardo Paes de Barros Cortez**, e ao Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Bauru, proporcionarem a realização deste projeto e pelo excelente trabalho realizado na rotina de atendimento com cães acometidos por leishmaniose e com todos os outros animais resgatados pelo CCZ.*

*À amiga que a UNESP me proporcionou conhecer **Shayra Peruch Bonatelli**, obrigada pelo companheirismo durante a realização dos projetos de mestrado e doutorado, por dividir conhecimentos e pela parceria.*

*Aos docentes membros da banca **Professores e Doutores. Alexandre Redson Soares, Raquel Sartor Marcelino, Hugo Salvador Oliveira e Leticia Rocha Inamassu** pela disponibilidade e contribuições feitas para o enriquecimento dessa tese de doutorado.*

*Aos colegas pós-graduandos do Setor de Diagnóstico por Imagem que fizeram parte da minha trajetória e pela troca de conhecimento diária, em especial a **Shayra P. Bonatelli, Danuta P. Doiche, Letícia R. Inamassu, Alexandra F. Belotta, Fernanda G. Oliveira, Ísis Costa, Fernanda Michelin, Stela Bonadia e Jeana Pereira da Silva.***

*Aos meus pais, **Marisa Rezende Dadalto e João Batista Dadalto**, por acreditarem, investirem e incentivarem minha formação profissional e todas as minhas decisões, obrigada por serem exemplo de família, caráter e amor incondicional, sem vocês nada seria possível.*

*Ao meu irmão, **Rafael R. Dadalto** (in memorian) pela força espiritual que posso sentir nos momentos de fraqueza, obrigada por acalantar meu coração fazendo com que eu seja capaz de finalizar minhas jornadas.*

*Ao meu irmão, **Marcel R. Dadalto**, pelo companheirismo, carinho, conversas e risadas.*

*Ao meu marido **Diogo C. Scheifer** pelo amor, companheirismo e compreensão das minhas escolhas, por ser o alicerce da nossa casa e sempre buscar o melhor para nossa família. Obrigada por proporcionar a vinda do nosso maior presente, Alécio, que mesmo ainda no ventre posso sentir as mudanças que ele já faz em nossas vidas.*

*Aos meus sogros **Júlio C. Scheifer e Ana Emília Scheifer**, pelo acolhimento familiar, por todo auxílio e carinho.*

*Aos meus familiares, em especial, minha avó **Alice Rezende** e minha madrinha **Silmara Barbosa** por sempre me incentivarem e acompanharem de perto minha trajetória de conhecimento.*

A Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP - campus Botucatu que permitiu aprofundar meus conhecimentos

Muito Obrigada por estarem ao meu lado nessa trajetória!

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO 1

Tabela 1 Média e desvio-padrão dos valores de índice de resistividade (IR) de cães hípidos e com alterações encontradas na literatura revisada.....	24
Tabela 2 Uso da elastossonografia na literatura veterinária consultada.....]27

CAPÍTULO 2

Tabela 1 - Distribuição dos achados ultrassonográficos renais ao modo B em cães soropositivos para leishmaniose visceral..	46
Tabela 2 - Distribuição dos parâmetros hemodinâmicos das artérias interlobares e análise bioquímica das amostras em cães soropositivos para leishmaniose visceral.....	46
Tabela 3 - Distribuição do escore elastográfico renais e esplênicos em cães soropositivos para leishmaniose visceral.....	47

CAPÍTULO 3

Tabela 1 - Distribuição dos achados ultrassonográficos do parênquima esplênico ao modo B em cães soropositivos para leishmaniose visceral.....	55
--	----

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1 - Casos reportados de Leishmaniose visceral nos países Sul Americanos no período de 2001-2017.....	5
Figura 2 - Amplificação de casos reportados de Leishmaniose visceral por estado brasileiro.....	5
Figura 3 - Número de casos por região brasileira.....	5
Figura 4 - Municípios com transmissão autóctone da Leishmaniose visceral e classificação da intensidade de transmissão no estado de São Paulo.....	6
Figura 5 - Ilustração do ciclo biológico da <i>Leishmania ssp</i>	8
Figura 6 - Tabela da classificação e estadiamento da doença renal crônica pela Sociedade Internacional de Interesse Renal de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão.....	11

CAPÍTULO 2

Figura 1 - Ultrassonografia modo B de cães com leishmaniose visceral demonstrando em a: Rim sem alterações, manutenção da ecogenicidade, relação e definição corticomedular (C/M). b: Rim com bordos irregulares e perda da definição C/M. c: Rim apresentando hiperecogenicidade de cortical e pielectasia. d: Perda da relação C/M, com espessamento cortical. Ultrassonografia modo Doppler em e: Vascularização habitual. f: Hipovascularização.....	47
Figura 2 - Elastograma renal de cães a: modo B. a': é possível identificar a escala de compressão satisfatória (seta), e a córtex renal com mais de 80% da área total preenchida por coloração verde (macio), correspondendo ao escore 1 em cão hígido sem alterações renais. b: a córtex renal com mais	

de 80% da área total preenchida por coloração verde (macio), correspondendo ao escore 1 em cão soropositivo para LV. c: parênquima renal com 50 a 80% da área total verde ou azul (intermediário macio), correspondendo ao escore 2 em cão soropositivo para LV. d: parênquima renal com 50 a 80% da área total preenchida por vermelho ou azul (intermediário rígido), correspondendo ao escore 3, em cão soropositivo para LV..... 48

Figura 3 - Fotomicrografia renal, coloração hematoxilina eosina. a: Esclerose glomerular (seta). b: Glomerulonefrite membranoproliferativa (*)..... 48

CAPÍTULO 3

Figura 1 - Cães sintomáticos soropositivos para Leishmaniose Visceral. A: Lesões cutâneas com úlceras crostosas na orelha e plano nasal. B: Úlceras crostosas em região periorcular. C: Alopecia multifocal com descamação furfurácea. D: Lesões ulceradas em cauda e articulações. E: Onicogribose..... 53

Figura 2 - Ultrassonografia modo B demonstrando em A: Imagem esplênica sem alterações ao exame ultrassonográfico. B: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo. C: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo e áreas micronodulares discretas hipocogênicas difusas no parênquima (seta). D: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo e áreas micronodulares hipocogênicas evidentes difusas no parênquima. E: Hipocogênicidade difusa com áreas puntiformes hiperecogênicas. F: Avaliação macroscópica esplênica com áreas nodulares em superfície... 55

Figura 3 - Escore elastográfico de cães soropositivos para leishmaniose visceral (B/C/D) é possível identificar, na lateral inferior direita a escala de compressão foi satisfatória (seta). A: modo B. A':

parênquima esplênico de cão hígido sem alterações ultrassonográficas esplênicas. B: parênquima esplênico com 50 a 80% da área total preenchida por azul (intermediário) e discretas áreas verdes (macio), correspondendo ao escore 2. C: parênquima esplênico com 50 a 80% da área total preenchida por vermelho (rígido) e azul (intermediário), correspondendo ao escore 3. D: parênquima esplênico com mais de 80% da área total preenchida por coloração vermelha (rígida), discretas áreas verdes (macia), correspondente ao escore 4..... 56

LISTA DE ABREVIATÖES

ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
ARFI	Acoustic Radiation Force Impulse
CAAF	Citologia aspirativa por agulha fina
cc	Centímetros
CCZ	Centro de controle de zoonoses
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
CONCEA	Concelho nacional de controle de experimentação animal
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DRC	Doença Renal Crônica
ELISA	Ensaio de imunoabsorção enzimática
HE	Hematoxina e Eosina
IR	Índice de Resistividade
IRIS	International Renal Interest Society
IP	Índice de Pulsatilidade
LC	Leishmaniose Cutânea
LV	Leishmaniose Visceral
LVA	Leishmaniose Visceral Americana
LVC	Leishmaniose Visceral Canina
MAPA	Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento
mg/dL	Miligrama por decilitros
µg/dL	Micrograma por decilitros
mmHg	Milímetros de mercúrio; unidade usada para medir pressão
MS	Ministério da Saúde
m/s	Metros por segundos
OMS	Organização Mundial da Saúde
OPAS	Organização Pan-Americana de Saúde
PA	Pressão Arterial
PCR	Proteína C-reativa
PRF	Frequência de repetição do pulso
RIFI	Reação de Imunofluorescência Indireta
SDMA	Dimetilarginina simétrica

SVS	Secretaria de Vigilância em Saúde
TIC	Teste imunocromatográfico
UPC	Proteína-creatinina urinária
VDF	Velocidade diastólica final
VPS	Velocidade de pico sistólico

SUMÁRIO

	Página
RESUMO	xvii
ABSTRACT	xviii
CAPÍTULO 1	
1. INTRODUÇÃO	2
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1 Leishmaniose Visceral.....	4
2.1.1 Epidemiologia.....	4
2.1.2 Agente etiológico.....	7
2.1.3 Ciclo biológico e transmissão.....	7
2.1.4 Patogenia.....	8
2.1.4.1 Condições associadas a Doenças Renais.....	10
2.1.5 Diagnóstico.....	11
2.1.5.1 Parasitológico.....	11
2.1.5.2 Molecular.....	12
2.1.5.3 Testes Sorológicos.....	12
2.1.6 Estratégia de controle para saúde pública.....	13
2.2 Exames complementares.....	14
2.2.1 Alterações laboratoriais.....	14
2.2.2 Dimetilarginina simétrica (SDMA).....	16
2.2.3 Histopatologia esplênica e renal.....	17
2.2.4 Ultrassonografia modo B.....	18
2.2.5 Ultrassonografia Doppler.....	21
2.2.6 Elastossonografia.....	24
CAPÍTULO 2	
Resumo.....	29
Introdução.....	30
Material e Métodos.....	31

Resultados.....	35
Discussão.....	37
Conclusão.....	41
Referências.....	42
CAPÍTULO 3	
Resumo.....	51
Introdução.....	51
Material e Métodos.....	52
Resultados.....	54
Discussão.....	56
Conclusão.....	58
Referências.....	59
CAPÍTULO 4	
DISCUSSÃO GERAL.....	65
CONCLUSÕES GERAIS.....	65
REFERÊNCIAS.....	66
ANEXO.....	79

DADALTO, C.R. **Aspectos Doppler e elastográficos renal e esplênico na Leishmaniose visceral canina**. Botucatu, 2020. 96p. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP “Júlio de Mesquita Filho”.

RESUMO

O diagnóstico da Leishmaniose visceral é complexo, devido à infinidade de sinais clínicos inespecíficos e por vezes os cães apresentam-se assintomáticos por longos períodos de incubação, contribuindo para a disseminação da doença. Com a finalidade de auxiliar o diagnóstico, o presente estudo tem por objetivo descrever alterações ultrassonográficas ao modo B, Doppler e elastográficos em rim e baço de cães soropositivos para LV. Foram avaliados ao exame ultrassonográfico rins de 33 animais naturalmente infectados por LV, sendo as alterações mais relevantes observadas: o aumento da ecogenicidade cortical (75,75%) e a perda da definição corticomedular (27,27%). O índice de resistividade apresentou-se elevado 0,70 e 0,71, para o rim esquerdo e direito, respectivamente. A dimetilarginina simétrica se mostrou elevada em apenas 12 animais. O escore elastográfico observado com maior frequência foi o dois, referente a tecidos de elasticidade intermediária, tendendo a macio. Também foram avaliados 36 baços de animais soropositivos, o sinal mais frequente foi a heterogeneidade do parênquima (77,77%) com áreas micronodulares hipoecogênicas (60,7%) e esplenomegalia (55,5%). O escore elastográfico esplênico mais observado foi o três, referente a tecidos de elasticidade intermediária tendendo a rígido. As alterações renais e esplênicas descritas no estudo devem ser inclusas como diagnóstico diferencial em cães provenientes de áreas endêmicas.

Palavras-chave: Diagnóstico por imagem, Doença renal, *Leishmania*, Saúde pública, Zoonose.

DADALTO, C.R. **Doppler and elastographic renal and splenic aspects in canine visceral leishmaniasis.** Botucatu, 2020. 96p. Tese (Doutorado)-Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista – UNESP “Júlio de Mesquita Filho”.

ABSTRACT

The diagnosis of visceral Leishmaniasis is complex, due to the infinity of nonspecific clinical signs and dogs are often asymptomatic for long incubation periods, which may contribute to the spread of the disease. In order to help early diagnosis, the present study aims to describe sonographic mode B, Doppler and elastographic changes in kidney and spleen of VL seropositive dogs. Kidneys of 33 animals naturally infected with VL were evaluated by ultrasound examination. The most relevant changes were the increase in cortical echogenicity (75.75%) and the loss of corticomedullary definition (27.27%). The resistivity index remained high 0.70 and 0.71 for the left and right kidney respectively. Symmetric dimethylarginine was elevated in only 12 animals. The most frequently observed elastographic score was two, referring to tissues of intermediate elasticity. Thirty-six spleens from seropositive animals were also evaluated, the most frequent sign being parenchymal heterogeneity (77.77%) with hypoechogenic micronodular areas (60.7%), followed by splenomegaly (55.5%), and these changes could appear concomitant or not. The most observed splenic elastographic score was three (47.22%), referring to intermediate elasticity tissues tending to rigid. The renal and splenic changes described in the study should be included as differential diagnosis in dogs from endemic areas.

Keywords: Imaging diagnosis, Kidney disease, Leishmania, Public health, Zoonosis.

CAPÍTULO 1

Introdução e Revisão da Literatura

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infectocontagiosa, causada por protozoários do gênero *Leishmania spp.* e pode apresentar diferentes manifestações clínicas de acordo com a espécie do parasita envolvido e a capacidade imunológica do hospedeiro (BANETH et al., 2008; WHO, 2019). Essa doença apresenta três formas de ocorrência: cutânea, muco-cutânea e visceral (BANETH et al., 2008; WHO, 2019).

Estas três formas estão presentes em 18 países nas Américas, e a forma clínica mais comum é a leishmaniose cutânea (LC), porém a leishmaniose visceral (LV) é a mais severa e reconhecida pela Organização Mundial da Saúde como uma das endemias mundiais prioritárias, devido ao grande impacto na Saúde Pública (VOLPINI et al., 2004; OPAS/OMS, 2019; WHO, 2019). Estudos demonstram que a maioria das pessoas infectadas permanecem assintomáticas se não sofrerem imunossupressão, servem como reservatório e contribuem para manutenção a longo prazo desse patógeno em áreas endêmicas (JERONIMO et al., 2004; LIMA et al., 2018).

Diversas espécies de protozoários estão descritas na literatura, porém a de importância epidemiológica na LV das Américas é a *Leishmania infantum*, atualmente considerada sinônimo de *Leishmania chagasi* (NOLI e SARIDOMICHELAKIS, 2014; ALEMAYEHU e ALEMAYEHU, 2017). A LV é uma doença de transmissão vetorial pelo flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, principalmente, com o ciclo de transmissão zoonótico, e o cão (*Canis familiaris*) é considerado o principal reservatório epidemiológico urbano (TEIXEIRA et al., 2016; WERNECK, 2016; ALEMAYEHU e ALEMAYEHU, 2017), sendo um importante hospedeiro e fonte de infecção para os vetores, mesmo quando assintomático, fato agravante na disseminação da enfermidade (SILVA, 2007; GALLEGU et al., 2009; TEIXEIRA et al., 2016).

É uma doença tropical negligenciada que possui evolução crônica, com acometimento sistêmico, que leva ao óbito 90% dos casos não tratados (WERNECK, 2014). A LV afeta populações economicamente vulneráveis e a distribuição geográfica limita-se pela presença do vetor (MAHMOUD, 2014). A principal alteração no organismo está relacionada ao parasitismo dos macrófagos, com disseminação hematogênica e linfática para tecidos ricos em

células do sistema mononuclear fagocitário, e notáveis lesões em linfonodos, baço, fígado e medula óssea, que conseqüentemente gera uma reação crônica intensa composta por células mononucleares (BOURDOISEAU et al., 1997; TAFURI et al., 2001; FERRER, 2002; IKEDA-GARCIA e MARCONDES, 2007).

As manifestações clínicas da doença nos cães e humanos são similares, com febre, hepatomegalia, esplenomegalia, adenomegalia generalizada e sinais clínicos inespecíficos, que muitas vezes contribuem para o diagnóstico tardio da doença (GIUNCHETTI et al., 2008; LOPES et al., 2010). O baço é um dos órgãos linfoides incluso nos eventos da patogênese da LV Canina (LVC), devido à intensa e persistente replicação parasitária no parênquima, resultando em lesões granulomatosas difusas com os macrófagos infectados pela forma amastigota do parasita (SILVA, 2007; PIMENTEL et al., 2008). A progressão da doença pode gerar alterações esplênicas mais graves como congestão, hiperplasia, hipertrofia de cordões esplênicos, hiper celularidade de polpa vermelha e esplenomegalia por infiltrado celular plasmohistiocitário (TASCA et al., 2009).

Diferentemente das lesões parasitárias diretas, o envolvimento renal na LV ocorre devido à deposição de imunocomplexos nas membranas basais glomerulares e tubulares do parênquima renal (BANETH et al., 2008; RIGO et al., 2013). A avaliação dessas lesões apresenta importância como fator prognóstico da doença, já que a letalidade está correlacionada com o desenvolvimento de doença renal crônica dos pacientes acometidos (BANETH et al., 2008; RIGO et al., 2013).

Diante de uma variedade de sinais clínicos inespecíficos e, por vezes ausentes, o diagnóstico dessa enfermidade pode ser difícil e dependente de exames específicos complementares, tais como imunológico, parasitológico e/ou molecular (GALLEGO et al., 2009; MARCONDES et al., 2011).

Com o objetivo de detecção precoce da doença, diversas técnicas de diagnóstico por imagem estão sendo estudadas. Poucos foram os relatos encontrados na literatura consultada pelo autor em relação a contribuição dos exames de imagem no diagnóstico da LVC, os encontrados apresentam baixo número amostral. Diante do exposto, justifica-se o presente estudo com a finalidade de descrever, por meio de técnicas ultrassonográficas e elastossonográficas, as alterações esplênicas e renais de cães infectados

naturalmente por *Leishmania* spp. e buscar a contribuição destas técnicas para o diagnóstico, contribuindo para a saúde pública.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Leishmaniose Visceral

2.1.1 Epidemiologia

A LV foi reportada em todos os continentes com exceção da Oceania, em cerca de 66 países localizados em regiões tropicais e subtropicais, tendo ampla distribuição global, com a maioria dos casos ocorrendo na África, Ásia e Américas (DESJEUX, 2004; ALVAR et al., 2006; WHO, 2019). Nas Américas é endêmica em 12 países e foram registrados 59.769 casos novos no período de 2001-2017, resultando na média de 3.516 casos humanos por ano, estes valores se tornam mais alarmantes por serem subestimados, uma vez que a afecção é de notificação compulsória em apenas 40% dos países em que ocorre (DESJEUX, 2004; ALVAR et al., 2006; WHO, 2019).

O Brasil reportou 96% (57.582) dos casos ocorridos em países Sul Americanos (Figura 1), com o primeiro caso diagnosticado em necropsia no ano de 1913, oriundo de Boa Esperança (Mato Grosso), desde então, a doença vem sendo descrita em diversos municípios brasileiros, com mudança no padrão de transmissão, inicialmente predominando em ambientes silvestres e rurais, mas com a urbanização do vetor e a disseminação facilitada por reservatórios, como os cães errantes, recentemente ocorre em centros urbanos (SVS/MS, 2017; WHO, 2019).

Segundo a Organização Pan-Americana da Saúde (2019), de 2016 para 2017, houve um aumento de 28,5% (914) dos casos no Brasil, com uma incidência de 1,98 casos a cada 100.000 habitantes. A região Nordeste ainda é a mais afetada, porém regiões que anteriormente não eram acometidas passaram a notificar casos, como a Região Sul, onde houve surto da doença nos últimos anos (Figura 2 e 3) (SVS/MS, 2017; WHO, 2019).

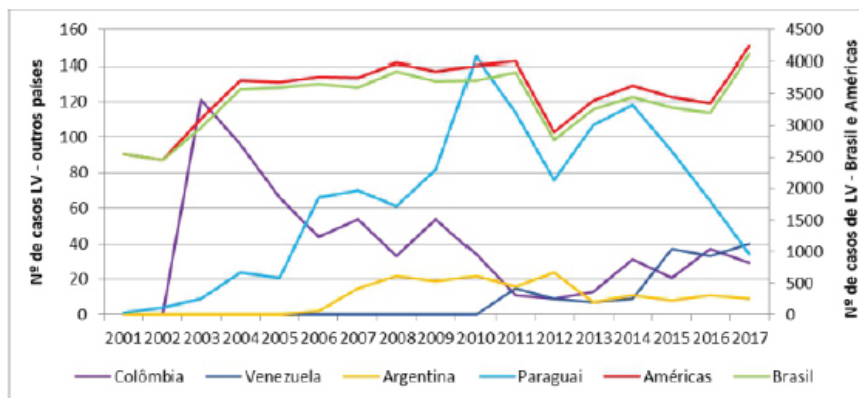


FIGURA 1. Casos reportados de leishmaniose visceral nos países Sul Americanos no período de 2001-2017. Fonte: SisLeish-OPAS/OMS (2019)

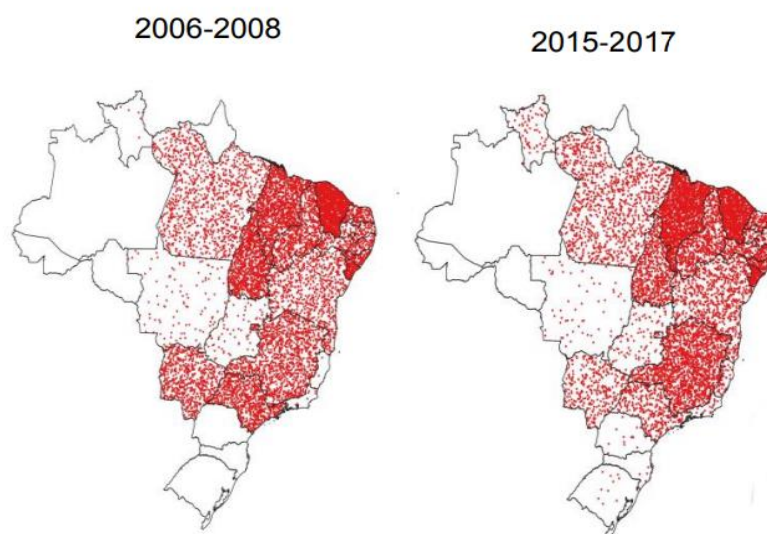


FIGURA 2. Amplificação de casos reportados de leishmaniose visceral por estado brasileiro. Fonte: SVS/MS (2017)

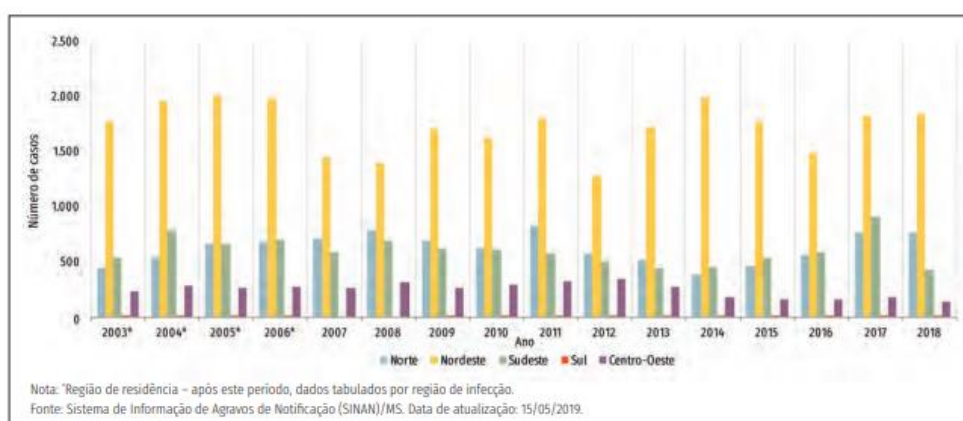


FIGURA 3. Número de casos por região brasileira. Fonte: Boletim Epidemiológico (2019).

O panorama epidemiológico é inquestionável sobre a gravidade da situação e expansão geográfica da LV, uma doença negligenciada com alto grau de letalidade, com maior ocorrência em populações com condições precárias de saneamento, habitação, ocupação urbana não planejada e clima favorável que facilita a presença do vetor (WERNECK, 2010). Até 2013, foram confirmados casos autóctones em 80 municípios do estado de São Paulo, com letalidade de 8,7% (202/2.328) (RANGEL et al., 2015). Bauru encontra-se dentre os 12 municípios com transmissão intensa para doença (Figura 3) (RANGEL et al., 2015).

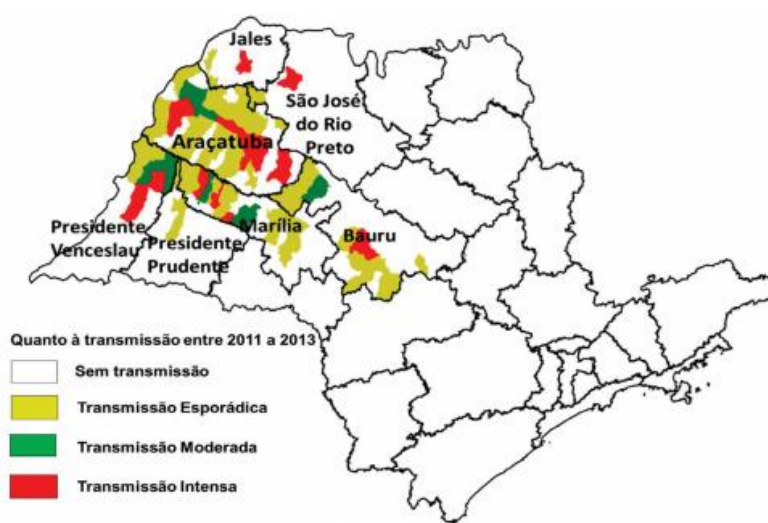


FIGURA 4. Municípios com transmissão autóctone da LV e classificação da intensidade de transmissão no estado de São Paulo. Fonte: RANGEL et al, 2015.

Dados preocupantes favoreceram a criação do programa de controle da LV no Brasil, que baseia sua estratégia na detecção e tratamento de casos humanos, controle dos reservatórios domésticos e vetores, porém nota-se que, estas medidas são insuficientes para impedir a disseminação da doença (WERNECK, 2010; SVS/MS, 2017). Desta forma a LV causa um impacto na saúde pública, devido a alta incidência, letalidade e pouco investimento para cura clínica (BORASCHI e NUNES, 2007). São necessários muitos estudos para o conhecimento sobre a LV, sendo necessário um compromisso social a fim de impedir que a doença se torne definitivamente uma mazela sanitária (ALVAR et al., 2006; WERNECK, 2010).

2.1.2 Agente etiológico

Os agentes etiológicos da LV são classificados como protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania* (ROSS, 1903; ALEMAYEHU e ALEMAYEHU, 2017). Cerca de 53 espécies do parasita já foram descritas e desses, 20 espécies são patogênicas para os seres humanos (GRAMICCIA e GRADONI, 2005; ALVAR et al., 2012). As *Leishmanias* podem ser zoonóticas, transmitidas entre animais e seres humanos ou antroponóticas, em que os seres humanos representam como único reservatório e a transmissão de pessoa a pessoa ocorre pela picada do vetor infectado (ALVAR et al., 2012).

As principais espécies são *Leishmania donovani*, encontrada na África e Ásia, a *Leishmania infantum* descrita na Ásia, Europa e África (Velho Mundo) e *Leishmania chagasi* nas Américas (Novo Mundo) (GRAMICCIA e GRADONI, 2005). Atualmente, devido às semelhanças moleculares do DNA, uma nova proposta taxonômica, sugeriu unificar essas espécies, propondo a nomenclatura *L. infantum* e *L. chagasi* como sinônimas, ou até mesmo fusionadas *Leishmania infantum chagasi* (MAURICIO et al., 2000). Porém na comunidade científica ainda há discordância nessa alteração de nomenclatura, já que a *L. chagasi* tem sido reconhecida por mais de cinquenta anos comumente como leishmaniose visceral americana (LVA), justificando que somente a similaridade do DNA não confirma as características taxonômicas que deve levar em consideração como critérios de patogenicidade, ecoepidemiologia e morfologia (SILVEIRA e CORBETT, 2010).

2.1.3 Ciclo biológico e transmissão

Humanos e diversas espécies de mamíferos domésticos e silvestres podem se infectar a partir da picada do flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, pertencente à ordem Díptera, principal vetor da LV no Brasil (MATTOS et al., 2004; GRAMICCIA, 2011).

O ciclo biológico no hospedeiro invertebrado varia de quatro a 20 dias (GRAMICCIA, 2011). A forma amastigota ingerida pelo vetor se transforma em promastigotas no intestino do flebotomíneo, onde se multiplicam e migram para a probóscide (IKEDA-GARCIA e MARCONDES, 2007; GRAMICCIA, 2011). Após a picada, os parasitas são inoculados por via cutânea promovendo uma

resposta inflamatória local e são fagocitados por células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente macrófagos (FERRER, 2002; BANETH et al., 2008). No interior dos macrófagos densamente parasitados, as promastigotas perdem o flagelo e se diferenciam em amastigotas. Esses macrófagos se rompem e são novamente fagocitados e ocorre a disseminação hematogena e linfática, acometendo principalmente linfonodos, baço, fígado e medula óssea (FERRER, 2002; CIARAMELLA e CORONA, 2003). Enquanto ocorre a disseminação hematogena, o hospedeiro vertebrado contamina as fêmeas do mosquito, com formas amastigotas de *Leishmania* spp., durante o repasto sanguíneo, e o ciclo se reinicia (Figura 5) (BANETH et al., 2008).

Outras vias de transmissão já foram descritas na literatura, como a transplacentária, a venérea e a iatrogênica, esta última por meio da transfusão de sangue contaminado (BOGGIATTO et al., 2001; ROSYPAL et al., 2005; NAUCKE, 2012).

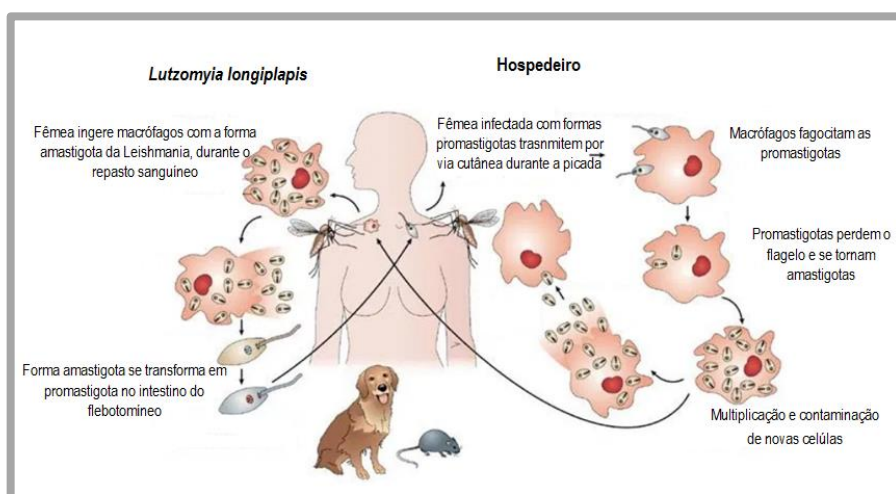


FIGURA 5. Ilustração do ciclo biológico da *Leishmania* spp. Adaptado de Lipoldová e Demant (2006).

2.1.4 Patogenia

Uma das características mais marcantes da LV é a diversidade de manifestações clínicas inespecíficas, tanto nos cães como nos humanos (PEREIRA et al., 2001; BANETH et al., 2008; VIDES et al., 2009). A LVC pode ser categorizada em três formas de apresentações distintas: assintomática, na qual não se observa a presença de sinais clínicos sugestivos da doença; clínica oligossintomática, em que os animais apresentam sinais clínicos brandos;

forma clínica sintomática, caracterizada por mais de três sinais clínicos graves (MANCIANTI et al., 1988; REIS et al., 2009).

As manifestações clínicas da doença são similares no cão e no homem, apresentando febre regular por longos períodos, adenomegalia generalizada, hepatomegalia e esplenomegalia devido à proliferação de linfócitos B, plasmócitos, histiócitos e macrófagos (GIUNCHETTI et al., 2008; SALZO, 2008; LOPES et al., 2010). Quando as leishmanias se multiplicam no fígado podem gerar uma hepatopatia ativa com aumento das dimensões, vômitos, anorexia e perda de peso (FEITOSA et al., 2000; SMITH, 2008). A progressão da doença gera alterações esplênicas mais graves como congestão, hiperplasia, hipertrofia de cordões esplênicos e hiperplasia de polpa vermelha (TASCA et al., 2009).

Lesões cutâneas ocorrem com o aparecimento de úlceras crostosas na orelha, plano nasal e região periorbital, com descamação furfurácea, alopecia multifocal e eczema, podendo ainda apresentar lesões ulceradas em cauda e articulações, e quando em fase mais crônica é comum observar onicogribose, ceratoconjuntivite e hiperqueratose (FEITOSA et al., 2000; LINDOSO, 2006).

Em geral o dano tecidual da LVC é causado por uma inflamação granulomatosa e deposição de imunocomplexos (FERRER, 2002). No rim essa deposição ocorre nas membranas basais glomerulares e tubulares do parênquima, desenvolvendo doença renal crônica, com insuficiência renal e aumentando a letalidade (FERRER, 2002; RIGO et al., 2013). Animais com lesões renais podem apresentar poliúria e polidipsia, gastrites urêmicas, perda de peso, edema de membros, vômitos, diarreia crônica e melena devido à presença de ulcerações na mucosa gástrica e intestinal (LUVIZIOTTO, 2006; RIGO et al., 2013).

Outras alterações podem ocorrer como poliartrites, alterações encefálicas, pneumonites e miocardites crônicas, porém são menos relatadas (GONÇALVES et al., 2003; TORRENT et al., 2005; MENDES et al., 2014; SILVA, 2014). Diante da infinidade de alterações clínicas inespecíficas da doença o diagnóstico se torna dificultoso e conseqüentemente tardio, necessitando de exames específicos como imunológicos, parasitológicos e/ou moleculares (GALLEGO et al., 2009; MARCONDES et al., 2011).

2.1.4.1 Condições associadas a doenças renais

O envolvimento renal na LV tem sido demonstrado por diversos estudos, devido sua importância como fator prognóstico da doença, já que a letalidade está correlacionada com o desenvolvimento doença renal crônica com insuficiência renal nos pacientes acometidos (RIGO et al., 2013). O acometimento renal é muito comum em cães com LV, devido à deposição de imunocomplexos nas membranas basais glomerulares e tubulares do parênquima renal (BANETH et al, 2008; RIGO et al., 2013).

Estudos sobre a repercussão dos aspectos clínicos da lesão renal no humano ainda são escassos, e há poucas evidências clínicas e laboratoriais do dano renal, antes e após o tratamento (FILHO et al., 2003). A maioria dos estudos têm relatado alterações histopatológicas e sinais clínicos secundários como edema de membros, hematuria, proteinúria e elevação dos níveis de pressão arterial (FILHO et al., 2003). Um marcador de mortalidade para doentes renais crônicos é a hipertensão associada à proteinúria (JEPSON et al., 2007). Os resultados obtidos no exame histopatológico das lesões renais revelaram que a LV provoca lesões renais intersticiais e tubulares graves, específicas da doença, estreitamente relacionadas com alterações da função renal (GOMES et al., 2008).

Como a doença renal crônica (DRC) é a principal causa de óbito em cães portadores da LV, seu diagnóstico deve ser baseado no exame clínico, laboratorial e de imagem (RIGO et al., 2013). Entretanto, na maioria das vezes, a causa base de lesão renal não é identificada (CHEW et al., 2011). Os cães que apresentam DRC são analisados de acordo com a *Internacional Renal Interest Society* (IRIS), que permite a classificação e estadiamento segundo os níveis séricos de creatinina e da concentração da Dimetilarginina simétrica (SDMA), já a subclassificação é baseada nos valores da razão proteína-creatinina urinária (UPC), se o indivíduo apresenta ou não proteinúria, e a partir dos valores pressóricos, ou seja, da pressão arterial sistólica (PA), dessa forma é possível definir o diagnóstico, tratamento e prognóstico da enfermidade renal (IRIS, 2019) (Figura 6).

Precocemente na doença renal a primeira alteração é o aspecto histopatológico de inflamação e fibrose, ou seja, supõe-se que o exame ultrassonográfico é primordial na avaliação de tamanho, relação cortico-

medular ecogenicidade, valores dopplerfluxometricos e elastográficos, dessa forma devem ser realizados para avaliação de medicina preempitiva (BALTAZAR et al., 2016).

	ESTÁGIO 1 Sem azotemia	ESTÁGIO 2 Discreto	ESTÁGIO 3 Moderado	ESTÁGIO 4 Grave
CREATININA (mg/dL)	< 1,4	1,4-2,8	2,9-5,0	> 5,0
SDMA (µg/dL)	< 18	18-35	36-54	> 54
UPC (Subestadiamento com base na proteína)	Não <u>proteinúrico</u> < 0,2 / Proteína limítrofe 0,2 - 0,4 / <u>Proteinúrico</u> > 0,4			
Pressão Sanguínea Sistólica (mmHg) (Subestadiamento com base na pressão)	Normotenso < 140 / <u>Pré hipertensivo</u> 140 – 159 / Hipertensivo 160-179 / Severamente hipertensivo > 180			

FIGURA 6. Tabela da classificação e estadiamento da doença renal crônica pela Sociedade de Internacional de Interesse Renal de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a subclassificação como proteinúria e hipertensão em cães (Adaptado IRIS, 2019).

2.1.5 Diagnóstico

Os testes de diagnósticos ideais devem ser de fácil execução, baixo custo, com especificidade e sensibilidade elevadas, porém o diagnóstico da LVC ainda enfrenta desafios, pois mesmo com avanços em novos métodos diagnósticos e antígenos mais específicos é necessária a validação em estudos a campo (FARIA, 2012).

2.1.5.1 Parasitológico

O diagnóstico parasitológico envolve a identificação direta do parasita na forma amastigota, observados em biópsia de pele ou hepática, aspirados de linfonodos, medula óssea ou baço, sendo os mais usados aspirados medulares e de linfonodos superficiais (GONTIJO e MELO, 2004). Esse método apresenta uma especificidade de 100%, por fazer a análise direta do parasita, porém a

sensibilidade é variável, já que a distribuição tecidual não é homogênea e depende do grau de parasitemia, podendo gerar resultados falso-negativos, sendo encontrados altos valores de sensibilidade na aspiração esplênica, atingindo até 98% (SUNDAR e RAI, 2002; GOMES et al., 2008; LAURENTI, 2009).

2.1.5.2 Molecular

A principal técnica molecular utilizada é a reação em cadeia polimerase (PCR), capaz de detectar oligonucleotídeos, apresentando uma sequência específica do parasita com quantidades mínimas do DNA de *Leishmania spp.* (SANTOS et al., 2010). Este método é considerado sensível e específico, porém a sensibilidade é inferior em amostras de sangue total (GOMES et al., 2008; SANTOS et al., 2010). O tecido cutâneo vem mostrando em estudo que deve ser utilizado devido ao alto parasitismo, a facilidade de obtenção de amostras e distribuição homogênea dos parasitas, podendo até mesmo utilizar material exfoliativo do epitélio lesionado para realização da PCR (GOMES et al., 2008). Outra amostragem não invasiva e de fácil acesso é a realização de swabs conjuntivais, que se mostrou técnica eficaz mesmo em cães assintomáticos (LEITE et al., 2010).

2.1.5.3 Testes sorológicos

Os testes sorológicos constituem métodos indiretos, não indicados na fase aguda da doença (ALMEIDA et al., 2005). A técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) é bastante útil em estudos epidemiológicos, entretanto, o alto custo com equipamentos, habilidade na execução, diluições seriadas tornam o teste laborioso e inviável para triagem (SUNDAR e RAI, 2002). Contudo, é uma técnica com alta especificidade (80%) e sensibilidade (83 a 100%) (SUNDAR e RAI, 2002; ALMEIDA et al., 2005).

O ensaio imunoenzimático que permite a detecção de anticorpos específicos (ELISA) é muito utilizado no diagnóstico de LV apresentando sensibilidade e especificidade acima de 90%, com fácil padronização devido a leitura por um espectrofotômetro, porém pode detectar falsos positivos por reações cruzadas com outros tripanossomatídeos (JAFFE e ZALIS, 1988).

O teste imunocromatográfico rápido (TIC) (TR DPP® - Bio-Manguinhos/Fiocruz) é um teste de triagem fundamentas para ações de campo e serviços municipais, amplia consideravelmente o nível de sensibilidade e agilidade comparada a outras metodologias, possibilitando a detecção da doença de forma mais rápida, com 62% de sensibilidade e 87% especificidade, considerado um bom preditos de infecção para LVC (SANTIS et al., 2013).

Apesar da grande variedade de métodos disponíveis no Brasil, o Ministério da Saúde preconizou que a confirmação da LVC utiliza-se de duas técnicas sorológicas: o teste imunocromatográfico (TIC) como teste rápido de triagem e o teste ELISA como confirmatório (GONTIJO e MELO, 2004). Caso apresente divergência nestas metodologias pode-se realizar a contraprova após um mês ou realizar outro teste controle: parasitológico ou PCR. (GONTIJO e MELO, 2004; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2019).

Deve-se levar em consideração, ao aplicar essas técnicas sorológicas, que até seis meses após a primopprofilaxia o animal pode ser soropositivo erroneamente (MARCONDES et al., 2013). A vacinação está disponível no Brasil e tem mostrado redução na prevalência da leishmaniose visceral canina e humana, entretanto, devido ao elevado custo ainda é um obstáculo na aplicação de políticas públicas (SEVA et al., 2016).

As alterações ultrassonográficas podem sugerir a suspeita de LV, mas o diagnóstico definitivo é sempre por método laboratorial parasitológico, sorológico ou molecular (GONTIJO e MELO, 2004).

2.1.6 Estratégia de controle para saúde pública

Como forma preventiva deve-se fazer o controle dos vetores realizando a limpeza de quintais e terrenos, drenagem de água, eliminação de matéria orgânica, usar repelentes e telas de malha fina em canis e residência (DIVE, 2018).

O decreto 51.838/1963 propunha como ação no controle da LVC a eutanásia de cães soropositivos, auxiliando na redução dos cães reservatórios da doença e evitando que o protozoário criasse resistência à droga utilizada no tratamento humano (SUNDAR, 2001). Diversos estudos epidemiológicos buscaram evidências científicas para comprovar que a eutanásia não

apresentava uma estratégia eficaz no controle da doença e a proibição do tratamento começou a ser contestada (SVS, 2009).

A portaria ANVISA – MAPA 1.426 de 11/07/2008 proibia o tratamento da LVC com drogas de uso humano como a anfotericina B, anfotericina lipossomal e antimoniato ou outras drogas não registradas. Por meio da nota técnica conjunta nº 001/2016 emitiu-se o registro do produto Milteforan 2% para o tratamento clínico de cães soropositivos (MAPA, 2016). Desta forma o medicamento passou a ser comercializado a partir de janeiro de 2017.

No cenário atual, o Ministério da Saúde (MS) propõe submeter à eutanásia os cães sorologicamente reagentes. Caso o tutor recuse o procedimento, recomenda-se assinatura do termo de responsabilidade para a recusa da eutanásia e do termo de compromisso para o tratamento do cão portador de LV, seguido da realização do tratamento com a medicação miltefosina e de exames periódicos para cada protocolo estipulado pelo médico veterinário responsável pela condução do caso (DIVE, 2018). O proprietário deverá encaminhar um atestado de saúde animal a cada seis meses para o MS, indicando a redução da carga parasitária (DIVE, 2018).

O MS ressalta ainda que mesmo animais tratados e com melhora clínica dos sintomas, se mantêm como reservatórios, destacando que a liberação do tratamento não configura uma medida de saúde pública para controle da doença (DIVE, 2018). Contudo, ainda assim, os cães submetidos ao tratamento deverão utilizar de forma ininterrupta coleiras impregnadas com Deltametrina 4% (DIVE, 2018).

A vacinação é indicada para animais saudáveis, maiores de quatro meses, com sorologia negativa (TR-DPP e ELISA), porém a vacinação não confere 100% de proteção e, assim como os animais tratados, os animais vacinados devem utilizar coleiras de deltametrina como controle e prevenção (SVS/MS, 2017).

2.2 Exames complementares

2.2.1 Alterações laboratoriais

Além dos achados clínicos, os exames laboratoriais podem apoiar o médico veterinário na suspeita de LVC (PALTRINIERI et al., 2016). As anormalidades hematológicas incluem neutrofilia, secundária à inflamação

sistêmica, associado à anemia crônica normocítica e normocrômica arregenerativa, devido à redução na produção de eritropoietina, ações tóxicas urêmicas e perda de ferro em insuficientes renais e em alguns casos pode estar associada à hemólise (REIS et al., 2006; MEDEIROS et al., 2008). Trombocitopenias leve a moderada são frequentes em cães sem infecções concomitantes, em caso de trombocitopenia acentuada provavelmente há coinfeção com outros patógenos como *Ehrlichia canis*, *Anaplasma phagocytophilum* ou *Anaplasma platys* (CORTESE et al., 2011). Na LVC, a trombocitopenia acontece pela destruição periférica imunomediada por anticorpos anti-plaquetários, hipercoagulabilidade, coagulação vascular disseminada (CID) e/ou supressão na medula óssea (TERRAZZANO et al., 2006; CORTESE et al., 2011; HONSE et al., 2013).

Nos exames bioquímicos pode-se observar a azotemia que ocorre secundariamente, pois a deposição de imunocopexos em nível glomerular induz a uma resposta inflamatória com conseqüente desenvolvimento de nefropatia proteinúrica, resultando em doença renal crônica (DRC), glomeruloesclerose, nefrite túbulo-intersticial, hipertensão renal e sistêmica (ZATELLI et al., 2003; BRAGA et al., 2015). Portanto, a abordagem clínica e laboratorial para cães com LV e nefropatia é o mesmo recomendado pela IRIS: avaliação da pressão arterial sistêmica, quantificação de proteínas urinárias, marcadores da função renal e concentração sérica de creatinina (RIBEIRO et al., 2013). No entanto, a creatinina não é um marcador confiável de lesão renal em estágios iniciais de insuficiência, outros biomarcadores estão sendo estudados para avaliar sua real contribuição na doença renal em cães leishmanióticos (VON HENDY-WILLSON e PRESSLER, 2011; RIBEIRO et al., 2013).

A concentração sérica de cistatina C foi avaliada em cães com leishmaniose, mas não foi um bom biomarcador precoce na identificação de DRC (PASA et al., 2009). Recentemente foi proposta a utilização de um marcador mais precoce, a dimetilarginina simétrica (SDMA), porém ainda não existem estudos que validem sua utilização em cães soropositivos para LV com DRC inicial, proteinúricos e com concentração normal de creatinina (JEPSON et al., 2008; NABITY et al., 2015).

Na urinálise, os cães apresentam proteinúria, com densidade urinária reduzida devido à lesão túbulo-intersticial e perda da concentração, bem como glicosúria secundária a dano tubular (PALTRINIERI et al., 2016). Todo processo de lesão renal resulta da deposição de imunocomplexos, pois a lesão direta pelo parasita ainda não foi identificada nos rins (PALTRINIERI et al., 2016). A avaliação da proteinúria é determinante para acompanhamento da progressão da nefropatia, sendo ideal classificar o nível por meio da razão entre proteína e a creatinina urinária (UPC) (JACOB et al., 2005).

Por ser uma reação inflamatória intensa, vários fatores ligados a resposta imune e anticorpos estão presentes, pode-se realizar o teste de análise sérica proteica e eletroforese, observando um aumento das globulinas (RIBEIRO et al., 2013). A albumina pode estar reduzida devido à albuminúria em nefropatas, dessa forma um teste sensível na identificação de leishmaniose é a relação albumina/ globulina (A/G) que estará diminuída em cães soropositivos para doença (ALMEIDA et al., 2005; RIBEIRO et al., 2013). O aumento na concentração de globulinas totais é frequente e pode favorecer a hipercoagulabilidade, que também ocorre comumente em animais nefropatas devido à perda de proteínas, lesão glomerular com redução da antitrombina III, que é um anticoagulante fisiológico, e sua redução favorece trombozes e coagulopatias (HONSE et al., 2013; LENNON et al., 2013).

2.2.2 Dimetilarginina simétrica (SDMA)

SDMA é um aminoácido metilado formado em decorrência da degradação proteica, segunda variante da dimetilação da arginina, é o biomarcador utilizado em doenças renais, por apresentar eliminação exclusiva pela urina (KIELSTEIN et al., 2011; NABITY et al., 2015). Estudos demonstram o emprego do SDMA em cães, com detecção precoce de DRC, identificando perda de 30% dos néfrons, enquanto a creatinina sérica se eleva apenas com perda de 66% a 75% da massa de néfrons (NABITY et al., 2015).

Além desse biomarcador ser precoce no diagnóstico de injúrias renais, já que ele não se altera em cães e gatos com baixo índice de massa muscular, uma das limitações encontradas na análise da creatinina sérica (HALL et al., 2016). Dessa forma, a creatinina se torna um marcador limitado, tardio e

insensível para o monitoramento da função renal em cães idosos e com baixo escore corporal (NABITY et al., 2015; HALL et al., 2016).

2.2.3 Histopatologia renal e esplênica

A atividade excessiva de linfócitos B como resposta à infecção desencadeia a formação de complexos imunes nos rins e a deposição desses complexos pode causar uma falência renal crônica, principal causa de óbito relacionado à enfermidade (SANTOS et al., 2013).

As lesões renais não são observadas macroscopicamente só em nível microscópico (COSTA et al., 2003). Segundo a literatura, as alterações histológicas mais evidentes descritas em cães com LV é a glomerulonefrite membranoproliferativa difusa (COSTA et al., 2003; ZATELLI et al., 2003; SANTOS et al., 2013; BALTAZAR et al., 2016; OLIVEIRA, 2018). A glomerulonefrite membranoproliferativa geralmente apresenta-se de graduação leve a moderada, associada à nefrite intersticial, com infiltração de linfócitos e células plasmáticas como macrófagos e neutrófilos perivasculares, periglomerulares e peritubulares, e em alguns casos pode-se identificar glomérulos atróficos e espessamento da cápsula de Bowman (BALTAZAR et al., 2016; OLIVEIRA, 2018).

Não foi possível a identificação, histopatológica, de formas amastigotas em tecido renal, somente com imuno-histoquímica utilizando o complexo estreptavidina-peroxidase foi possível à detecção, em 8% das amostras, de formas amastigotas em epitélio renal tubular (SANTOS et al., 2013).

O baço é um dos órgãos de preferência para análise devido à carga parasitária alta, sendo a esplenomegalia a alteração macroscópica esplênica mais observada (BARROUIN-MELO et al., 2006; TASCA et al., 2009; OLIVEIRA, 2018). Métodos de punção como a citologia aspirativa por agulha fina (CAAF) que tem se mostrado eficaz na detecção direta para exames parasitológicos, além de ser um método seguro (BARROUIN-MELO et al., 2006).

Na avaliação histopatológica foi possível identificar hiperplasia de polpa branca, áreas hemorrágicas, aumento de linfócitos e macrófagos, com espessamento e fibrose da região trabecular (TASCA et al., 2009). A coloração imuno-histoquímica utilizando o complexo avidina-biotina peroxidase com

cromógeno *New Red*, possuiu melhor eficácia na detecção de amastigotas que nem sempre eram identificadas em amostras histopatológicas (TASCA et al., 2009).

2.2.4 Ultrassonografia modo-B

A ultrassonografia abdominal proporciona a avaliação dos diversos órgãos da cavidade, incluindo rins e baço. É um procedimento rotineiro na medicina veterinária e fornece informações importantes como topografia, contorno, dimensões, arquitetura, ecogenicidade e ecotextura dos órgãos (PENNINCK e D'ANJOU, 2011).

Nos rins é possível avaliar o comprimento renal, que é dependente do peso do animal, sendo utilizado em média para normalidade 4,00 centímetros (cm) para cães de porte pequeno, 4,00 cm a 6,00 cm médio e 6,00 cm a 9,00 cm para grande (BARR et al., 1990). Deve-se ainda observar a simetria entre os rins, se os contornos estão regulares ou irregulares, se há definição da região cortical e medular e a manutenção da relação 1:1 entre elas (PENNINCK e D'ANJOU, 2011). O córtex renal deve se apresentar hipoecogênico ao parênquima esplênico, e hipoecogênico ou isoecogênico ao parênquima hepático, sendo que a cápsula e divertículos são hiperecogênicos (SILVA et al., 2008; PENNINCK e D'ANJOU, 2011).

O aumento da ecogenicidade renal é um dos achados mais comuns em cães e gatos com doença renal, e doenças como nefrites intersticiais, glomerulares e necrose tubular aguda podem gerar essa alteração ultrassonográfica (PENNINCK e D'ANJOU, 2011). A hiperecogênicidade difusa renal pode estar associada com a perda da definição corticomedular, alteração já descrita em pacientes com displasia renal congênita e doenças crônicas em estágios terminais, sendo que estes também apresentam redução nas dimensões e contornos irregulares (PENNINCK e D'ANJOU, 2011; NYLAND et al., 2015).

O processo de remodelamento renal envolve a substituição do parênquima lesionado por fibrose causando distorção da arquitetura e contornos irregulares (NYLAND et al., 2015). As alterações ultrassonográficas detectadas por meio do modo B do rim, por si só, não possibilitam uma caracterização de qual doença está acometendo o órgão, pois doenças

glomerulares com perda de proteína, glomerulonefrites e amiloidose renal não são distinguíveis de outras desordens difusas renais (NYLAND et al., 2015).

Outra característica das doenças renais parenquimatosas é a presença de banda hiperecogênica em região medular, paralela à borda corticomedular, que já foi descrita em diversas doenças como necrose tubular aguda, nefrocalcinose, leptospirose e vasculite piogranulomatosa causada por peritonite infecciosa felina, apesar de também já observada em animais hígidos, principalmente felinos (BARR et al., 1989; BILLER et al., 1992; FOREST et al., 1998; SONET et al., 2017). Quando ocorre em uma área maior é descrita como banda medular, secundário a áreas de necrose, congestão, hemorragia ou mineralização. Essa banda medular hiperecogênica tem sido correlacionada com lesão em túbulos renais em região medular profunda, que é metabolicamente mais susceptível a isquemia (BILLER et al., 1992).

A hiperecogênicidade de cortical renal e sinal da medular não podem ser considerados marcadores precisos de doença renal (VAC, 2004). Dessa forma, os resultados ultrassonográficos devem ser correlacionados com achados clínicos e laboratoriais para investigar a significância clínica (VAC, 2004).

Na medicina veterinária, poucos estudos foram encontrados que descreveram as alterações ultrassonográficas renais na leishmaniose. Já na medicina humana, a incidência de alterações quanto à ecogenicidade renal em pacientes portadores de LV foi baixa, e as corticais renais apresentaram-se hiperecogênicas somente oito semanas após o diagnóstico (ABDALLA et al., 2014).

Nos estudos em animais encontrados na literatura revisada observou-se hiperecogênicidade de cortical, perda da definição e relação córtex-medular, sendo que a cortical se torna espessa e os contornos irregulares, e presença de pontos hiperecogênicos nas regiões de divertículos caracterizando mineralizações distróficas (BALTAZAR et al., 2016; OLIVEIRA, 2018). Baltazar et al. (2016) também ressaltaram aumentos significativos no comprimento renal, quando comparados com animais soronegativos. Dessa forma, é possível evidenciar que as alterações ultrassonográficas observadas na LVC são semelhantes às identificadas ultrassonograficamente nas DRC (PENNINCK e D'ANJOU, 2011).

No exame ultrassonográfico esplênico deve-se avaliar a dimensão, ecogenicidade, ecotextura, regularidade de bordos e cápsula esplênica (PENNINCK e D'ANJOU, 2011). Dimensões aumentadas do baço podem ser correlacionadas com diversas alterações, tais como hematopoiese extramedular, doenças infecciosas, torção esplênica, sedação com acepromazina ou até mesmo infiltrações malignas como ocorre no linfoma e mastocitoma (HECHT, 2011).

A esplenomegalia generalizada pode ser classificada em quatro tipos, baseando-se no mecanismo patológico envolvido: inflamação ou infecção, hiperplasia linfocítica, congestão ou infiltração (NEER, 1996). A esplenomegalia inflamatória é resultante de um agente infeccioso subagudo ou crônico, a hiperplasia linfocítica refere-se ao aumento da função do sistema mononuclear fagocitário e componentes linfoides, a congestiva ocorre quando a circulação venosa do baço está comprometida em casos de insuficiência cardíaca congestiva, hipertensão portal e torção esplênica e por fim a infiltrativa que é observada em casos de hematopoiese extramedular e infiltrações neoplásicas (NEER, 1996; HECHT, 2011).

Em pessoas e cães soropositivos para *Leishmania* spp., o achado ultrassonográfico mais comum foi a esplenomegalia (ABDALLA et al., 2014; MAHMOUD, 2014; MELCHIONDA et al., 2014; OLIVEIRA, 2018). Além da alteração nas dimensões esplênicas, Mahmoud (2014) observou parênquima hipoecogênico (19%) e lesões focais (34%). Os achados esplênicos descritos por Oliveira (2018) demonstram que 58,4% dos cães com LVC apresentavam ecotextura do baço heterogênea de forma difusa, provavelmente relacionada ao curso crônico da doença. A cronicidade das lesões descritas é validada pelos achados publicados por Abdalla et al. (2014) que observaram a esplenomegalia como acentuada após oito semanas do diagnóstico e antes do primeiro mês um baço sem alterações a discretamente aumentado.

Outra alteração esplênica relatada na literatura humana acomete crianças portadoras de LV, que apresentam um padrão ecográfico incomum, caracterizado por múltiplos nódulos, inferiores a um centímetro, isoecogênico ou hipoecogênico difusos no parênquima e associados a esplenomegalia (MELCHIONDA et al., 2014). Esses autores acreditam que esses nódulos esplênicos associados a suspeita de LV em pacientes sintomáticos são

marcadores característicos da doença em crianças (MELCHIONDA et al., 2014).

Outros achados ultrassonográficos na medicina humana têm sido correlacionados com LV: hepatomegalia, adenomegalia, adrenomegalia, pancreatite e ascite (ABDALLA et al., 2014; MAHMOUD, 2014). Menos comum, porém já descrito na literatura, observa-se dilatação da veia porta, dilatação da veia cava caudal e presença de trombo em grandes vasos (FONT e CLOSA, 1997; ABDALLA et al., 2014).

Como as alterações observadas nas imagens ultrassonográficas convencionais não são específicas, acredita-se que a associação de outras modalidades ultrassonográficas auxilie o diagnóstico dessa doença ou ainda sejam ferramentas eficazes no acompanhamento e prevenção da evolução da doença.

2.2.5 Ultrassonografia Doppler

A junção da ultrassonografia modo-B com a ultrassonografia Doppler apresenta grande potencial na aquisição de informações anatômicas e da hemodinâmica do fluxo (MELO et al., 2006; BRAGATO et al., 2017). A associação dessas técnicas pode estimar de forma indireta as alterações na perfusão renal e a presença de lesões renais precoces (MELO et al., 2006; BRAGATO et al., 2017).

Para entendimento da avaliação vascular renal é necessário saber que o suprimento vascular arterial dos rins se faz por meio dos ramos renais direito e esquerdo da aorta abdominal. Cada artéria renal se ramifica em artérias interlobares que atravessam a região medular e seguem na direção cortical (LAHUNTA, 2013). Na junção corticomedular esses vasos curvam-se dando origem as artérias arqueadas, que emitem ramos de menor calibre para periferia denominadas artérias interlobulares (LAHUNTA, 2013). A margem medial ao rim é identificada como região hilar, onde se encontram a artéria renal, a veia renal e ureter no pedículo renal (PENNINCK e D'ANJOU, 2011; LAHUNTA, 2013).

No estudo Doppler colorido, é observado, sobrepondo ao modo-B, um mapeamento de cores e intensidades que por convenção considerou-se que os fluxos que se aproximam em direção ao transdutor são demonstrados no

monitor na coloração vermelha e em direção contrária azul e, em que cores mais claras apresentam fluxos de maiores velocidades (PENNINCK e D'ANJOU, 2011; NYLAND et al., 2015). Essa modalidade permite identificar a presença ou ausência de fluxo, qual direção, velocidade média e presença de turbulência intravascular (GAO et al., 2007). Uma boa perfusão do parênquima renal é indicada pelo preenchimento vascular até a região das artérias arqueadas (GAO et al., 2007). Em animais soropositivos para LVC, Baltazar et al. (2016) identificaram um fluxo vascular reduzido, com hipoperfusão e redução na visualização das artérias arqueadas.

O Doppler pulsado é um traçado espectral que pode ser obtido colocando o cursor na vascularização de interesse (NYLAND et al., 2015). A amostra possui uma frequência específica de pulsação, denominada PRF (*pulse rate frequency*) que determina a frequência máxima detectável (PENNINCK e D'ANJOU, 2011; NYLAND et al., 2015). Qualitativamente, a onda espectral pode fornecer informações como presença ou ausência de fluxo, direção, diferenciar fluxos arteriais e venosos e caracterizar o fluxo em laminar ou turbilhonado (PENNINCK e D'ANJOU, 2011). As artérias renais possuem um fluxo laminar com pico sistólico largo e sem janela espectral, com diminuição gradual do fluxo ao longo da diástole e por apresentarem baixa resistência seu fluxo diastólico é alto e contínuo (SZATMÁRI et al., 2001).

Para obtenção de uma análise quantitativa do traçado Doppler, os aparelhos têm a capacidade de calcular dados como velocidade de pico sistólico (VPS) e velocidade diastólica final (VDF) por meio de um software (NYLAND et al., 2015). No entanto, informações sobre a impedância vascular não podem ser obtidas apenas pela velocidade, dessa forma foram desenvolvidos índices que são capazes de comparar fluxos sistólicos e diastólicos (NOVELLAS et al., 2007). Esses índices, ao contrário da análise isolada das velocidades, são independentes da correção do ângulo, ideal para avaliação de vasos tortuosos (NYLAND et al., 2015).

A resistência do fluxo sanguíneo nas artérias pode ser mensurada pelo índice de resistividade (IR) (NOVELLAS et al., 2007). O IR e o índice de pulsatilidade (IP) têm sido utilizados para detectar mudanças hemodinâmicas em casos de obstrução urinária, utilização de diuréticos, displasia renal congênita e insuficiências renais agudas ou crônicas (NOVELLAS et al., 2007).

Além da padronização dos valores normais, estudos já relataram valores para algumas afecções, incluindo a LVC (Tabela 1).

Como demonstrado na Tabela 1, valores entre 0,56 e 0,67 são considerados normais em cães saudáveis. O limite superior aceitável segundo Morrow et al., (1996) deve ser até 0,70. Os cães soropositivos para leishmaniose apresentaram um IR acentuadamente elevado (IR 1,08) (BALTAZAR et al., 2016), enquanto os descritos por outro estudo, obtiveram valores superiores ao grupo controle do autor, porém dentro da normalidade na literatura (IR 0,67) (OLIVEIRA, 2018).

Embora esses índices sejam úteis, é importante salientar que essas medidas hemodinâmicas não são influenciadas somente pela resistência ao fluxo nos vasos periféricos e alteração parenquimatosa do órgão avaliado, mas a frequência cardíaca, pressão sanguínea, comprimento e elasticidade dos vasos também são fatores relevantes nessa avaliação (GRANATA et al., 2009). Dessa forma, além das lesões renais, o IR da artéria renal ou seus ramos podem se alterar devido a hipotensão sistêmica, hipertensão, redução da frequência ou débito cardíaco, estenose, presença de fluido subcapsular e hidronefrose (GRANATA et al., 2009).

O IP é mais sensível que o IR para diferenciar espectros de ondas anormais, porque este considera a média de velocidade durante um ciclo (NOVELLAS et al., 2007). Os valores de IP já foram descritos na literatura, por Koma et al. (2006) em dez cães da raça Beagle em que observaram $IP\ 1,34 \pm 0,32$ para os cães normais e um aumento do IP para $1,6 \pm 0,38$ após a indução de anemia severa. Novellas et al. (2007) caracterizaram em 27 animais o IP de vasos intrarrenais obtendo $1,15 \pm 0,15$ como valores de normalidade. Na literatura consultada não se encontra valores de IP para cães com LVC.

Tabela 1. Média e desvio-padrão dos valores de índice de resistividade (IR) de cães hígdos e com alterações encontrados na literatura revisada.

Condição clínica	Cães (N)	IR	Referência (autor e ano)
Hígdos	(n=22)	0,61 ±0,06 (AR)	Morrow et al (1996)
Hígdos	(n=10)	0,66 ± 0,07 (AR) 0,64 ±0,09 (AI)	Koma et al. (2006)
Hígdos	(n=27)	0,62 ± 0,04 (AI/AA)	Novellas et al. (2007)
Hígdos	< 4 meses (n=22)	0,75 ± 0,05 (AR)	Chang et al. (2010)
Hígdos	> 5 meses (n = 33)	0,65 ± 0,05 (AR)	
Hígdos	(n = 28)	0,62 ± 0,05 (AI)	Chetboul et al. (2012)
Hígdos	(n=6)	0,55 ± 0,02 (AR)	Baltazar et al. (2016)
Hígdos	(n= 20)	0,61 ± 0,03 (AR)	Oliveira (2018)
Insuficiência Renal Aguda	(n=22)	> 0,70	Morrow et al. (1996)
Anemia severa	(n =10)	0,72 ± 0,06 (AR)	Koma et al. (2006)
Doença Valvar Mitral	(n= 8)	0,62 ± 0,05 (AI)	Chetboul et al. (2012)
Degenerativa Azotêmicos	(n= 16)	0,74 ± 0,08 (AI)	Chetboul et al. (2012)
Soropositivos LV	(n= 6)	1,08 ± 0,29 (AR)	Baltazar et al. (2016)
Soropositivos LV	(n= 44)	0,67 ± 0,06 (AR)	Oliveira (2018)

AR: Artéria Renal; AI: Artéria Interlobar; AA: Artéria arqueada.

Negrito: Valores referentes à LVC

2.2.6 Elastografia

A elastografia refere-se a uma técnica promissora na ultrassonografia, capaz de mensurar a complacência tecidual e dessa forma caracteriza a diferença na rigidez de tecidos alterados e normais (OPHIR et al., 2000; ALAM et al., 2008; ARDA et al., 2010). Há três métodos de mensuração da deformação tecidual, quantitativo, qualitativo ou semi-quantitativo, os quais estão disponíveis nos equipamentos ultrassonográfico a *ARFI (Acoustic*

Radiation Force Impulse) Elastography, a *Shear Wave Elastography* e a *Strain Elastography* respectivamente (BAMBER et al., 2013).

A imagem representativa da rigidez tecidual é obtida com um equipamento convencional que possui um software específico e após aplicação de uma força mecânica de compressão ou vibração a esse tecido produz-se escala da densidade tecidual (OPHIR et al., 2000; HALL, 2003). Na *Strain Elastography* ou elastossonografia qualitativa, o aumento na rigidez tecidual é disposto no monitor em escala de cores (ALAM et al., 2008). Embora não seja um método quantitativo, o mesmo possui vantagem de rapidez na execução e fácil reprodutibilidade (BAMBER et al., 2013). Porém, mesmo com uma boa acurácia, a técnica possui limitações como na avaliação de tecidos profundos, pois a compressão não é eficiente e a mensuração da elasticidade dos tecidos por meio de escores apresentou significativa variabilidade inter-observador (YING et al., 2012; OZTURK et al., 2018). Com essa possível variação de interpretação, foi proposto a utilização de escores de elasticidade de acordo com a porcentagem de cores no elastograma (ALAM et al, 2008; BHATIA et al., 2010).

Tan et al. (2010) propuseram um sistema de quatro escores, sendo escore 1 ou macio para elastogramas com predomínio das cores azul, verde ou amarelo, com menos de 10% da coloração vermelha; escore 2 ou moderadamente macio, em que haja predomínio das cores amarela ou verde, com 10 a 50% da área vermelha; escore 3 ou moderadamente rígido, em que o elastograma tem predomínio da coloração vermelho, com 10% a 50% da área com cores amarelo ou verde; e escore 4 ou rígido em que o elastograma demonstre predomínio da cor vermelha com apenas 10% das cores amarelo e verde . Estes escores foram utilizados na diferenciação de linfonodos malignos e benignos (TAN et al., 2010).

Os elastogramas coloridos translúcidos são sobrepostos às imagens em modo B, e dessa forma fornecem informações anatômicas complementares (OZTURK et al., 2018). Por outro lado, a variabilidade da escala de exibição entre fabricantes limita muitas vezes a comparação de imagens elastográficas de deformação entre diferentes equipamentos (OZTURK et al., 2018).

Embora na medicina humana seja uma técnica empregada rotineiramente e nos últimos anos, diversos estudos estão sendo realizados para aumentar a

acurácia diagnóstica, na medicina veterinária, ao conhecimento do autor há poucos relatos referentes a esta técnica. Com a elastografia já foram descritos padrões de normalidade de baço, próstata, testículo, fígado e rins (HOLDSWORTH et al., 2014; FELICIANO et al., 2015a; FELICIANO et al., 2015b; JEON et al., 2015; MARONEZI et al., 2015) Também foi utilizado como método auxiliar no diagnóstico de neoplasias mamárias, testiculares, distinção de nódulos esplênicos e lesão em linfonodos (ALDER et al., 2013; GLINSKA-SCHOCKA et al., 2013; FELICIANO et al., 2014; FELICIANO et al., 2016; SEILER e GRIFFITH, 2018; BELOTTA et al., 2019) (Tabela 2).

Holdworth et al. (2014) utilizaram a técnica elastográfica *Shear wave* na avaliação de baço, fígado e rins sem alterações. Os valores esplênicos medianos do estudo foram de 1,71 a 2,0 m/s dependendo da profundidade, discrepante dos valores em humanos que foram 2,33 a 2,39 m/s (SON et al., 2011). Os valores obtidos para o rim segundo Holdworth et al. (2014) foram de 2,72 m/s, elevados em relação aos descritos em humanos que foi de 2,24 m/s (SON et al., 2011).

Segundo descrito na literatura veterinária, ocorrem algumas limitações para se obter as medições, pois, ao contrario da medicina humana, os animais em movimento e ofegantes dificultavam a avaliação de regiões mais profundas, principalmente o fígado durante a respiração (HOLDWORTH et al., 2014). Esse fator não é limitante na medicina humana já que os pacientes retêm a respiração no momento do exame, o que gera maior confiabilidade nos resultados finais (SON et al., 2011; HOLDWORTH et al., 2014). Nos rins, devido à localização subcostal do rim direito foi mais difícil o posicionamento do transdutor, e o artefato de reforço acústico posterior formado pelas costelas interferiu na aquisição das medidas (HOLDWORTH et al., 2014).

Jeon et al. (2015) utilizaram a técnica *Strain* com compressão manual e avaliação semi-quantitativa pelo *software*, integrando valores médios de deformação e histograma, obtendo os valores de tensão para o baço de $141 \pm 9,03$; para córtex renal direita $141,26 \pm 7,50$; para medular renal direita; $51,19 \pm 4,54$, para cortical renal esquerda, $145,80 \pm 7,79$; e para medular renal esquerda $51,93 \pm 5,09$. Uma das limitações da técnica é que a compressão externa é dependente da habilidade operacional, devendo observar o gráfico

de deformação e selecionar imagens com compressão uniforme na região de interesse (JEON et al., 2015).

Tabela 2. Uso da elastografia na literatura veterinária consultada.

Referência (autor e ano)	Técnica	Órgão	Lesão/Normal
Alder et al. (2013)	<i>Strain</i>	Baço	Lesão
Glinska-suchocka et al. (2013)	<i>Shear wave</i>	Mama	Lesão
White et al. (2013)	<i>Strain</i>	Fígado, baço e rins	Normal
Feliciano et al. (2014)	<i>ARFI</i>	Mama	Lesão
Glinska-suchoka et al. (2014)	<i>ARFI</i>	Testículos	Lesão
Holdsworth et al. (2014)	<i>Shear wave</i>	Fígado/ baço/rins	Normal
Feliciano et al. (2015a)	<i>ARFI</i>	Baço	Normal
Feliciano et al. (2015b)	<i>ARFI</i>	Próstata e testículos	Normal
Jeon et al. (2015)	<i>Strain</i>	Fígado/ baço/rins / próstata	Normal
Maronezi et al. (2015)	<i>ARFI</i>	Baço	Normal
Feliciano et al. (2016)	<i>ARFI</i>	Testículos	Lesão
Seiler e Griffith (2018)	<i>Strain</i>	Linfonodos	Lesão
Belotta et al. (2019)	<i>Strain</i>	Linfonodos	Lesão
Tamura et al. (2019)	<i>Shear wave</i>	Fígado/ baço	Normal

Fonte: Belotta, 2018 modificado.

CAPÍTULO 2

Trabalho Científico 1

Trabalho a ser enviado para revista: Veterinary Pathology

Instruções para os autores: [https://journals.sagepub.com/pb-assets/cmscontent/VET/Veterinary Pathology Instructions to Authors 10.3.2019-1570134177123.pdf](https://journals.sagepub.com/pb-assets/cmscontent/VET/Veterinary_Pathology_Instructions_to_Authors_10.3.2019-1570134177123.pdf)

1 **Leishmaniose visceral canina: aspectos Doppler e elastográficos renal,**
2 **correlação com marcador renal precoce**

3 Canine visceral leishmaniasis: renal Doppler and elastographic aspects
4 compared to early renal marker

5 Carmel Rezende Dadalto^{1*}, Shayra Peruch Bonatelli¹, Isabela Marques de
6 Souza², Sergio Britto Garcia², Valéria Medina Campriger³, Priscylla Tatiana C.
7 Guimarães-Okamoto¹, Maria Jaqueline Mamprim¹

8 ¹ *Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária, Faculdade de Medicina*
9 *Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Campus*
10 *Botucatu, Distrito de Rubião Jr. s/n, Botucatu/SP Brasil.*

11 ² *Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto,*
12 *Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto/SP*

13 ³ *Centro de Controle de Zoonoses, Secretaria de Saúde do município de Bauru-Sp*

14 **Autora para correspondência; E-mail: carmel_dadalto@outlook.com*

15

16 **Resumo**

17 A Leishmaniose visceral é uma zoonose de caráter endêmico. O envolvimento
18 renal está relacionado à deposição de imunocomplexos e é um fator
19 prognóstico importante. O presente estudo teve por objetivo avaliar a
20 hemodinâmica e alterações elastográficas renais em cães acometidos por
21 leishmaniose visceral, buscando identificar a precocidade dos achados
22 ultrassonográficos em comparação ao biomarcador precoce dimetilarginina
23 simétrica (SDMA). Foram avaliados ao exame ultrassonográfico modo-B,
24 Doppler colorido, Doppler espectral e elastografia 33 cães sintomáticos para
25 leishmaniose visceral canina. Constatou-se aumento da ecogenicidade cortical
26 (25/33; 75,75%) como alteração mais relevante, seguido das alterações
27 crônicas como a perda da definição corticomedular (9/33; 27,27%). O índice de
28 resistividade apresentou-se aumentado, 0,70 e 0,71, para o rim esquerdo e
29 direito respectivamente, com fluxos vasculares reduzidos ao Doppler colorido
30 (18/33; 54,54%), menor visualização das artérias arqueadas. Utilizando a
31 classificação da Sociedade Internacional de Interesse Renal (IRIS), 53% dos
32 animais avaliados foram classificados sem lesões renais e 47% se
33 enquadraram entre os estágios 1 e 3, embora todos os rins analisados
34 ultrassonograficamente pelo modo B ou Doppler tenham apresentado pelo

35 menos um sinal de doença renal. Na elastografia a complacência tecidual se
36 manteve intermediária, tendendo a macio, com escore 2. A análise
37 histopatológica renal evidenciou esclerose glomerular (4/10; 40%) e
38 glomerulonefrite membranoproliferativa (6/10; 60%) com infiltrados
39 inflamatórios. Podemos concluir que a técnica Doppler fornece informações
40 sobre a hipoperfusão renal de forma precoce quando comparada com alteração
41 do biomarcador SDMA, ou mesmo em imagens ultrassonográficas modo B
42 normais. Por tanto a ultrassonografia Doppler deve ser incluída para prever e
43 identificar o acometimento renal em soropositivos para Leishmaniose visceral
44 canina.

45 **Palavras-chave:** Diagnóstico por imagem, dimetilarginina simétrica,
46 elastografia, hemodinâmica renal, SDMA, ultrassonografia.

47

48 A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose endêmica com grande
49 impacto na saúde pública, sendo responsável por alta morbidade e
50 mortalidade.^{33,36} É uma doença tropical negligenciada de evolução crônica com
51 acometimento sistêmico e ampla distribuição geográfica, limitada apenas pela
52 presença do vetor *Lutzomyia longipalpis*.^{18, 34}

53 É causada por protozoários do gênero *Leishmania* spp., com ciclo de
54 transmissão dependente do vetor hematófago.¹ Como hospedeiro, os cães
55 infectados são os principais reservatórios domésticos da doença, sendo que tal
56 fato se torna um agravante na transmissão da enfermidade para humanos^{10,31}

57 A principal alteração na LV está relacionada ao parasitismo dos
58 macrófagos com disseminação hematogênica e linfática ocasionando lesões
59 diretas em órgãos do sistema mononuclear fagocitário.^{4,8,14,30} Diferente das
60 lesões parasitárias diretas, o envolvimento renal, que ocorre na LV, é
61 secundário à deposição de imunocomplexos nas membranas basais
62 glomerulares e tubulares, e a avaliação dessas lesões apresenta importância

63 como fator prognóstico da doença, já que a letalidade está correlacionada com
64 o desenvolvimento de insuficiência renal.^{3,26}

65 A doença renal em cães tende a ter caráter lento e progressivo iniciando
66 com uma proteinúria leve com evolução para síndrome nefrótica, podendo levar
67 a lesões glomerulares com danos irreversíveis.² Distúrbios na perfusão podem
68 ser um sinal precoce de função renal alterada mesmo em animais
69 assintomáticos em fase inicial e a possibilidade de prever o agravamento e
70 prevenir disfunções renais tornam o exame ultrassonográfico Doppler uma
71 excelente técnica para monitoramento desses pacientes.^{2,19}

72 Estudos pretéritos correlacionaram achados ultrassonográficos modo B e
73 Dopplerfluxométricos com as alterações histopatológicas². Entretanto, não
74 foram encontrados estudos que indiquem a real contribuição das técnicas
75 Doppler e elastográficas comparadas ao estadiamento da doença renal com a
76 utilização de biomarcador precoce (SDMA). Portanto, diante do exposto, o
77 presente estudo objetivou descrever e comparar alterações hemodinâmicas e
78 função renal de cães sintomáticos e naturalmente infectados por LV por meio
79 do uso da ultrassonografia modo-B, Doppler, elastografia e SDMA.

80 **Material e Métodos**

81 *Animais*

82 Realizado estudo prospectivo observacional. Foram avaliados 33 cães
83 sintomáticos, sem predileção de raça, idade ou sexo, que apresentaram
84 diagnóstico positivo para *Leishmania* spp. no teste imunocromatográfico rápido
85 com o kit de antígenos recombinantes (TR DPP Leishmaniose Visceral Canina
86 – Bio-Manguinhos) e teste confirmatório ELISA (EIE Leishmaniose Visceral
87 Canina – Bio-Manguinhos). O presente estudo foi multiinstitucional e de acordo
88 com os Princípios Éticos em Experimentação Animal adotados pelo Conselho

89 Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA) e autorizado pela
90 Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da FMVZ, UNESP, Campus
91 Botucatu, sob protocolo 62/2017(Anexo).

92 Após o diagnóstico laboratorial positivo para leishmaniose visceral foi
93 realizada a aferição da pressão arterial e iniciou-se o exame ultrassonográfico
94 abdominal.

95

96 *Ultrassonografia*

97 O exame ultrassonográfico foi realizado com equipamento MyLab Alpha
98 (Esaote Healthcare do Brasil, São Paulo, SP) equipado com transdutor
99 multifrequencial linear (4-13 MHz). Utilizou-se contenção física dos animais
100 com a finalidade de evitar influências hemodinâmicas ocorridas em contenções
101 químicas.

102 Com o exame convencional modo-B nos rins avaliou-se a regularidade de
103 contornos, distinção da região cortical e medular, ecogenicidade relativa da
104 cortical renal e dilatação da pelve renal. Por meio do Doppler colorido a
105 vascularização renal foi avaliada com relação à sua intensidade, sendo
106 classificada em vascularização normal quando facilmente identificada até a
107 região de artérias arqueadas e rins hipovascularizados aqueles que dificilmente
108 se visualizava os vasos de menor calibre como as artérias arqueadas e
109 interlobulares. Ao Doppler pulsado foram analisadas as ondas espectrais das
110 artérias interlobares de ambos os rins, e os índices de resistividade (IR) e
111 pulsatilidade (IP) calculados pelo equipamento com a seleção dos picos
112 sistólico e diastólico, sempre após a obtenção de três picos arteriais,
113 sequenciais e regulares. Para cada rim, foi realizada a média aritmética para o
114 IR e IP após a obtenção de três mensurações adequadas.

115 *Elastografia*

116 Utilizando a função ElaXto Sonoelastography do equipamento
117 ultrassonográfico MyLabAlpha®, após obtenção de imagem bidimensional, no
118 plano longitudinal, dos rins foi iniciada a avaliação elastográfica *Strain* no
119 parênquima cortical renal e nos tecidos adjacentes, foi obtida com o monitor
120 dividido em duas partes. À esquerda do monitor foi obtida a imagem em plano
121 sagital modo B do rim avaliado e à direita a imagem elastográfica. Para
122 aquisição das imagens o transdutor foi posicionado perpendicularmente ao
123 parênquima e movimentos compressivos leves e rítmicos foram realizados na
124 área de interesse. As imagens foram analisadas no momento em que a escala
125 de compressão estivesse verde, demonstrando que a pressão exercida estava
126 regular, uniforme e satisfatória.

127 O grau de deformidade tecidual avaliado foi adquirido por meio de escala
128 cromática qualitativa, variando de verde, relativo a componente de alta tensão
129 elástica (macios), a vermelho, referente aos tecidos com baixa tensão (rígidos),
130 com coloração azul para tecidos de tensão intermediária. As imagens
131 elastográficas foram classificadas de forma subjetiva e graduadas em escores
132 adaptados conforme metodologia proposta por Tan et al. (2010):

- 133 1: 80% ou mais da área total analisada obteve coloração verde (macio)
- 134 2: 50 a 80% da área total verde ou azul (intermediário macio)
- 135 3: 50 a 80% da área total vermelho ou azul (intermediário rígido)
- 136 4: mais de 80% da área total vermelho (rígido)

137 *Coleta de Amostras*

138 Após o exame ultrassonográfico foi realizada venopunção jugular, o
139 sangue foi transferido para o tubo coletor, centrifugado, o soro armazenado em

140 alíquotas seladas e congelado para posterior análise bioquímica. Para cada
141 amostra foram determinados os valores séricos de creatinina (SCr) e
142 dimetilarginina simétrica (SDMA) utilizando uma técnica de imunoensaio com
143 analisador bioquímico de alta produtividade (Teste IDEXX SDMA®; IDEXX
144 Laboratories Inc., One IDEXX Drive, 208 Westbrook, Maine 04092, EUA). Após
145 os resultados os animais foram classificados utilizando o estadiamento
146 proposto pela *International Renal Interest Society* (IRIS, 2019):

147 Estágio 1: não azotêmicos, creatinina sérica até 1.4 mg/dL e SDMA até 18
148 µg/dL.

149 Estágio 2: creatinina 1.4 - 2.8 mg/dL e SDMA 18-35 µg/dL.

150 Estágio 3: moderada azotemia, creatinina 2.9 – 5.0 mg/dL e SDMA 36-54
151 µg/dL.

152 Estágio 4: severa azotemia, creatinina superior a 5 mg/dL e SDMA superior a
153 54 µg/dL.

154

155 *Histopatologia*

156 Dez cães foram submetidos à eutanásia logo após o exame
157 ultrassonográfico, com tiopentato de sódio 1g (15 mg/kg/IV) e cloreto de
158 potássio, seguindo as normas vigentes no país, colhendo-se fragmentos de
159 ambos os rins. As amostras foram fixadas em solução de formaldeído
160 tamponado a 10% e processados pelas técnicas habituais para inclusão do
161 tecido em parafina. Realizado cortes histológicos com 5 µm e corados pela
162 técnica de hematoxilina e eosina (H & E), e foram avaliados quanto aos
163 aspectos morfológicos, alterações degenerativas e inflamatórias.

164

165 *Análise dos resultados*

166 As variáveis qualitativas e quantitativas foram tabuladas no programa
167 Microsoft Office Excel 2010®. Calculado a frequência absoluta e relativa das
168 variáveis qualitativas e a média e desvio-padrão das variáveis quantitativas, e
169 realizada a análise descritiva dos resultados obtidos.

170 **Resultados**

171 Na avaliação ultrassonográfica renal modo B foi possível identificar as
172 alterações demonstradas na tabela 1 (Fig.1).

173 Na ultrassonografia Doppler observou-se hipovascularização renal em 18
174 animais (54,54%) (Fig. 1F), sendo que em um dos animais não foi possível a
175 realização do Doppler espectral devido à intensa hipovascularização das
176 artérias interlobares. Os valores dos índices de resistividade (IR) e pulsatilidade
177 (IP) estão descritos na tabela 2.

178 A análise bioquímica foi realizada em 28 amostras e resultaram no
179 aumento dos níveis séricos de ureia em apenas cinco animais (17,85%), níveis
180 elevados de creatinina em um animal (3,57%) e níveis de SDMA elevado em
181 12 animais (42,85%). Ao exame ultrassonográfico Doppler 23 animais (69,69%)
182 apresentaram IR elevado, já caracterizando uma perfusão renal comprometida,
183 ou seja, em 26,8% dos animais já havia alteração mesmo sem
184 comprometimento dos exames laboratoriais.

185 Na aferição da pressão arterial, segundo a classificação da IRIS (2019), a
186 maioria dos animais apresentaram-se normotensivos, pressão <140 mmHg,
187 (25; 75,75%), (6; 18,18%) pré-hipertensivos, pressão 140-159 mmHg, e
188 severamente hipertensivos, com pressão \geq 180 mmHg (2; 6,07%). Nesse

189 estudo não foram observados animais hipertensivos, com pressão entre 160-
190 179 mmHg.

191 Utilizando a classificação e estadiamento da doença renal crônica (DRC)
192 pela IRIS, de acordo com as concentrações de creatinina sérica, SDMA e a
193 subclassificação de hipertensão, dos animais do estudo 14% se enquadram no
194 estágio 1, 29% no estágio 2 e 4% no estágio 3. Nenhum animal apresentou-se
195 em estágio 4 de lesão renal e 53% dos animais foram classificados sem lesões
196 renais.

197 Sabendo-se que os valores hemodinâmicos sistêmicos, como a
198 hipertensão, alteram os índices de resistividade renal, o grupo foi subdividido e
199 classificado quanto ao IR apenas os animais normotensivos, excluindo o fator
200 sistêmico. Dessa forma foram incluídos 24 animais, pois um animal não captou
201 o fluxo ao estudo Doppler. A média do IR dos animais normotensivos manteve-
202 se em 0,70 para o rim esquerdo e 0,71 para o rim direito. O grupo composto
203 pelos dois animais severamente hipertensivos obteve média de IR superior aos
204 outros grupos, apresentando 0,73 para o rim esquerdo e mantendo 0,71 para o
205 rim direito.

206 A distribuição do escore elastográfico renal obteve predomínio do escore
207 dois, referente a tecidos com elasticidade intermediária macia (Fig. 2), para os
208 rins esquerdo e direito (67,7% e 53,33%), respectivamente como observado na
209 tabela 3. Como fator limitante não foi possível realizar a compressão adequada
210 no rim direito em um animal devido a localização intercostal.

211 Pela análise histopatológica dos rins realizada em dez animais, observou-
212 se esclerose glomerular (40%) e (60%) glomerulonefrite membranoproliferativa
213 com a presença de infiltrado inflamatório (Fig. 3).

214 **Discussão**

215 As alterações ultrassonográficas avaliadas ao modo B estão de acordo
216 com dados previamente relatados, em que a ecogenicidade difusamente
217 aumentada da cortical difusa dos rins foi o achado mais frequente, seguido da
218 perda da definição corticomedular, bordas irregulares e pielectasia.² Porém
219 nenhuma lesão patognomônica característica da enfermidade pôde ser
220 identificada.

221 Nesse estudo notou-se que os animais com achados histopatológicos de
222 esclerose glomerular, ao modo-B, apresentavam um aumento da
223 ecogenicidade cortical enquanto os animais com glomerulonefrites
224 membranoproliferativas já apresentavam sinais mais crônicos de doença renal,
225 tais como perda da definição corticomedular.

226 Ao Doppler colorido, cães positivos para LV tiveram fluxo vascular renal
227 reduzido, com diminuição na visualização das artérias arqueadas, semelhante
228 a estudo realizado com seis cães soropositivos.² A hipoperfusão renal pode
229 ocorrer devido a distúrbios glomerulares, tubulares ou vasculares, e já são
230 indicativos de que a função renal está alterada.^{2,19}

231 O IR renal deste estudo foi elevado, demonstrando que a perfusão renal
232 está comprometida, mesmo em animais normotensivos, sendo esse um
233 importante fator de precocidade na identificação de lesão renal. Ainda nessa
234 pesquisa o IR esteve elevado em relação a literatura dos animais descritos sem
235 doença renal prévia (0,67)²¹ e aos cães soropositivos para LV (0,66 e 0,67)²².
236 Em contrapartida foi inferior aos valores encontrados para cães soropositivos
237 para LV em outro estudo(1,10 e 1,06).² Uma das limitações encontradas na
238 literatura consultada contemplando animais infectados, é que em ambos os

239 estudos não realizaram a pressão arterial sistêmica, dessa forma esses valores
240 podem ser influenciados por variação hemodinâmica sistêmica ou lesão
241 parenquimatosa renal.

242 Os dados obtidos de elevação nos valores de IR de vasos intrarrenais
243 corroboram com estudos anteriores que descrevem $IR \geq 0,70$ ^{16,20} estão
244 associados a injúria renal. Com a mensuração desse índice é possível avaliar a
245 resistência vascular, sendo uma técnica rotineira para auxiliar no diagnóstico e
246 monitoramento de doenças renais.²¹ Além de estar associado a alterações
247 tubulares agudas, intersticiais, displasias e cistos, o aumento do IR também
248 pode ter causas pós renais, como obstruções e hidronefrose, ou ser secundário
249 a alterações hemodinâmicas sistêmicas como anemia aguda grave e
250 insuficiências cardíacas que acarretam vasoconstrição periférica e hipertensão.
251 ^{2,5,17}

252 Os parâmetros utilizados para classificar a gravidade da doença renal em
253 cães de acordo é a avaliação da proteína creatinina urinária (UPC), como
254 marcador de enfermidade glomerular, e as concentrações de creatinina sérica,
255 como marcador de função renal excretora. ²⁸ O SDMA vem mostrando-se um
256 biomarcador precoce as alterações dos níveis de creatinina, identificando
257 valores aumentados em cães com DRC e lesões renais agudas, além de não
258 ser influenciado pela massa muscular ou estados inflamatórios. ^{7,12,13,28,38}

259 Cães com leishmaniose podem ter comprometimento da perfusão renal
260 secundário a hipovolemia ou desidratação grave, fatores que podem causar
261 elevação de SDMA não associado à proteinúria ou azotemia renal. ³² No
262 presente estudo apenas um animal demonstrou elevação sérica de ureia e
263 creatinina, contrariando a literatura que descreve a azotemia como um achado

264 comum em animais soropositivos.⁹ Já os níveis séricos de SDMA
265 apresentaram-se aumentados em 12 animais (12/28; 42,85%), demonstrando a
266 lesão renal nesses casos. Apesar de na literatura haver comparação entre o
267 SDMA em cães com leishmaniose e nefropatia, e valores não mostraram
268 vantagens em prever lesões renais quando comparadas as concentrações de
269 creatinina sérica e UPC, ou mesmo para o estadiamento da nefropatia.³² Com
270 relação ainda a presença de animais com elevados níveis de SDMA nesse
271 estudo, podemos afirmar que a ultrassonografia se mostrou mais eficaz na
272 detecção da redução da perfusão e hiperecogenicidade de cortical predizendo
273 assim lesões renais anterior a esse biomarcadores, achados comprovados
274 histopatologicamente pela presença de esclerose glomerular e infiltrados
275 inflamatórios.

276 Diversos biomarcadores renais já foram avaliados no monitoramento
277 durante o tratamento de cães com leishmaniose, porém não houve significativa
278 alteração da creatinina sérica e SDMA, portanto, não sendo recomendados no
279 monitoramento da injúria renal.²⁴ Contudo, a utilização desse biomarcador
280 precoce (SDMA) deve ser mais estudada até o estabelecimento da sua real
281 utilidade em prever injúrias renais e possibilitar a investigação da causa
282 subjacente em estágios iniciais²⁵, pois marcadores tardios detectam lesões
283 degenerativas irreversíveis, e no presente estudo a alteração do IR indicou
284 essa lesão de forma mais precoce.

285 Na veterinária ainda não há estudos com elastografia qualitativa para
286 definir padrões de normalidade renal em cães, porém sabe-se que
287 parênquimas macios (escore 1) e intermediário-macio (escore 2) são
288 esperados em corticais renais que não apresentem severos graus de fibrose,

289 que tornam o tecido mais rígido (escore 3 e 4). Na avaliação dos rins de gatos
290 hígdos foi descrito que a cortical é macia (escala colorimétrica verde e azul),
291 se comparada com a medular renal.³⁵ Utilizando a técnica *Strain* com
292 compressão manual e análise semi-quantitativa pelo software foi possível
293 definir os valores de tensão para cortical renal esquerda e direita de cães
294 saudáveis, $145,80 \pm 7,79$ e $141,26 \pm 7,50$ respectivamente.¹⁵ Já na técnica
295 *Shear wave* os valores medianos da onda de cisalhamento foram de 2,72 m/s
296 em cães hígdos e 2,24 m/s em humanos.^{13,29}

297 Nesse estudo foi possível determinar que apenas 16,2% e 26,7% nos rins
298 esquerdo e direito respectivamente apresentaram aumento do escore
299 colorimétrico (escore 3), determinando dessa forma áreas de substituição de
300 parênquima por fibrose.²³

301 Na literatura as alterações histológicas mais evidentes descritas em cães
302 com LV é a glomerulonefrite membranoproliferativa difusa, corroborando com o
303 presente estudo.^{2,6,22,27,37} A glomerulonefrite membranoproliferativa geralmente
304 apresenta-se de graduação leve a moderada, associada à nefrite intersticial,
305 com infiltração de linfócitos e células plasmáticas como macrófagos e
306 neutrófilos perivasculares, periglomerulares e peritubulares, e em alguns casos
307 pode-se identificar glomérulos atróficos e espessamento da cápsula de
308 Bowman.^{2,22} Não há relatos da identificação, na análise histopatológica H & E,
309 de formas amastigotas em tecido renal, porém com a utilização de imuno-
310 histoquímica foi possível à detecção, em 8% das amostras, localizada em
311 epitélio renal tubular utilizando o complexo estreptavidina-peroxidase.²⁷

312 Diante da metodologia empregada foi possível concluir que o exame
313 ultrassonográfico Doppler mostrou-se uma técnica viável com informações

314 hemodinâmicas do comprometimento da perfusão renal, pois o índice de
315 resistividade se apresentou superior em relação aos valores de normalidade
316 descritos anteriormente, resultados esses que precederam a alteração do
317 biomarcador SDMA, uma vez que tiveram comprovação histológica da lesão.

318

319 **Conclusão**

320 Os achados ultrassonográficos de hiperecogenicidade cortical sugerem ao
321 exame histopatológico uma esclerose glomerular, enquanto alterações mais
322 crônicas são correlacionadas a glomerulonefrites membranoproliferativas.
323 Mesmo sem referência de normalidade a elastografia *Strain* detectou um
324 padrão de elasticidade intermediário tendendo a macio, embora deva se
325 realizar referências de normalidade para cães com essa técnica.

326 Dessa forma a ultrassonografia Doppler deve ser incluída como método
327 diagnóstico do comprometimento renal de cães soropositivos para LV, já que a
328 letalidade está correlacionada com lesões renais.

329

330 **Agradecimentos**

331 À toda equipe de Médicos Veterinários do Centro de Controle de
332 Zoonoses da cidade de Bauru

333

334 **Declaração de conflito de interesses**

335 Os autores declaram que não há conflitos de interesse na pesquisa,
336 autoria e/ou publicação deste artigo.

337 **Financiamento**

338 O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de
339 Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – código de
340 financiamento 001 e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São
341 Paulo (FAPESP) processo 2018/21048-5.

342

343 **ORCID iD**

344 Carmel R. Dadalto <https://orcid.org/0000-0002-9120-5735>

345

346 **Referências**

347 1. Alemayehu B, Alemayehu M. Leishmaniasis: A review on parasite, vector
348 and reservoir host. *Health Science Journal*. 2017;11(4):1-6.

349

350 2. Baltazar PI, Moura LS, Pessoa GT, et al. Comparative B-mode and Doppler
351 renal ultrasonography with histopathological findings in dogs positive for canine
352 visceral leishmaniasis. *Microscopy research and technique*. 2016;79:637-345.

353

354 3. Baneth G, Koutinas AF, Solano-Gallego L, Bourdeau P, Ferreer L. Canine
355 leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one.
356 *Trends in Parasitology*. 2008; 24(7): 324-9.

357

358 4. Bourdoiseau G, Marchar T, Magnol J. Immunohistochemical detection of
359 *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of canine
360 skin and lymph nodes. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1997;9:
361 439-440.

362

363 5. Chetboul V, Daste T, Gouni V, et al. Renal resistive index in 55 dogs with
364 degenerative mitral valve disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*.
365 2011;26(1):101-8.

366

367 6. Costa FAL, Goto H, Saldanha LCB, et al. Histopathologic Patterns of
368 nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. *Veterinary
369 Pathology*. 2003;40(6): 677-84.

370

371 7. Dahlem DP, Neiger R, Schweighauser A, et al. Plasma symmetric
372 dimethylarginine concentration in dogs with acute kidney injury and chronic
373 kidney disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. 2017;31(3):799-804.

374

375 8. Ferrer L. The pathology of canine leishmaniasis. In: Killick-Kendrick R, ed.
376 *Canine leishmaniasis: Moving Towards a Solution*. Proceedings of the 2nd
377 International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, Intervet International
378 BV.2002; 21-4.

379

- 380 9. Freitas GC, Veado JCC, Carregaro AB. Evaluation tests of early renal injury in
381 dogs and cats. *Semina Ciências Agrárias*. 2014;35(1): 411-26.
382
- 383 10. Gallego LS, Koutinas A, Miro G, et al. Directions for the diagnosis, clinical
384 staging, treatment and preventions of canine leishmanosis. *Veterinary*
385 *Parasitology*. 2009;165:1-18.
386
- 387 11. Hall JA, Yerramilli M, Obare E, et al. Relationship between lean body mass
388 and serum renal biomarkers in health dogs. *Journal of Veterinary Internal*
389 *Medicine*. 2015; 29(3):808-14.
390
- 391 12. Hall JA, Macleay J, Yerramilli M, et al., Positive impact of nutritional
392 interventions on serum symmetric dimethylarginine and creatinine
393 concentrations in client owned geriatric dogs. *Journal Plos One*. 2016;11(4):1-
394 16.
395
- 396 13. Holdsworth A, Bradley K, Birch S, et al. Elastography of the normal canine
397 liver, spleen and kidneys. *Veterinary Radiology and Ultrasound*.
398 2014;55(6):620-27.
399
- 400 14. Ikeda-Garcia FA, Marcondes M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose
401 visceral canina. *Clínica Veterinária*. 2007; 71: 34-42.
402
- 403 15. Jeon S, Lee G, Lee S, et al. Ultrasonographic elastography of the liver,
404 spleen, kidneys, and prostate in clinically normal beagle dogs. *Veterinary*
405 *Radiology and Ultrasound*. 2015; 56(4): 425-431.
406
- 407 16. Koch J, Jesen AL, Wenck A, Iversen L, Lykkegassrd K. Duplex Doppler
408 measurements of renal blood flow in a dog with Addison's disease. *Journal*
409 *Small Animal Practice*. 1997; 38:124-6.
410
- 411 17. Koma LM, Dye C, Shaw, JJ, et al. Doppler ultrasonographic changes in the
412 canine kidney during normovolaemic anaemia. *Research in Veterinary Science*.
413 2006; 80:96-102.
414
- 415 18. Mahmoud MZ. Assessment of visceral leishmaniasis consequences using
416 ultrasound. *Open Journal of Radiology*. 2014;4:201-6.
417
- 418 19. Melo MB, Veado JCC, Silva EF, Moreira SM, Passos LMF. Renal arteries
419 Dopplerfluxometry: normal systolic and diastolic flow velocities and resistive
420 index values in the main renal arteries. *Arquivo Brasileiro de Medicina*
421 *Veterinária e Zootecnia*. 2006;58(4):691-3.
422
- 423 20. Morrow KL, Salman MD, Lappin MR, Wrigley R. Comparison of the resistive
424 index to clinical parameters in dogs with renal disease. *Veterinary Radiology*
425 *Ultrasound*. 1996;37 (3):193-9.
426
- 427 21. Novellas R, Espada Y, Gopegui, RR. Doppler ultrasonographic estimation of
428 renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats.
429 *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2007; 48(1): 69-73.

- 430
431 22. Oliveira HS. Renal and splenic evaluation B - mode and Doppler
432 ultrasonography of dogs naturally infected by visceral leishmaniasis. 2018. 58f.
433 Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia,
434 Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Botucatu, 2018.
435
- 436 23. Orlacchio A, Chegai F, Costantino DG, et al. Kidney transplant: usefulness
437 of real-time elastography (RTE) in the diagnosis of graft interstitial fibrosis.
438 *Ultrasound in Medicine & Biology* .2014; 40 (11): 2564-72.
439
- 440 24 Pardo-Marin L, Martinez-Subiela S, Pastor J, et al. Evaluation of various
441 biomarkers for kidney monitoring during canine leishmaniosis treatment. *BCM*
442 *Veterinary Research*. 2017;13(31):1-7.
443
- 444 25. Relford R, Robertson J, Clements. Symmetric dimethylarginine: improving
445 the diagnosis and staging of chronic kidney disease in small animals. *Vet Clin*
446 *North Am Small Anim Pract*. 2016; 46(6): 941-60.
447
- 448 26. Rigo RS, Carvalho CME, Honer MR, et al. Renal histopathological findings
449 in dogs with visceral leishmaniasis. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de*
450 *São Paulo*. 2013; 55 (2):113-6.
451
- 452 27. Santos JP, Alves LC, Ramos RAN, et al. Histological changes and
453 immunolabeling of *Leishmania infantum* in kidneys and urinary bladder of dogs.
454 *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 2013; 22(3):420-3.
455
- 456 28. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, et al. Directions for the diagnosis,
457 clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary*
458 *Parasitology*. 2009; 165 (1-2):1-18.
459
- 460 29. Son CY, Kim SU, Han WK, et al. Normal liver elasticity values using
461 acoustic radiation force impulse imaging: A prospective study in healthy living
462 liver and kidney donors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2011;
463 27:130-6.
464
- 465 30. Tafuri WL, Oliveira MR, Melo MN, Tafuri WL. Canine visceral leishmaniasis:
466 a remarkable histopathological Picture o fone case report from Brazil.
467 *Veterinary Parasitology*. 2001; 96:203-12.
468
- 469 31. Teixeira MC, Stobb NS, Schmidt V, et al. Soroepidemiologia de *Leishmania*
470 *infantum* em cães de uma área com ocorrência de casos no município de Porto
471 Alegre, Rio Grande do Sul. *Semina: Ciências Agrárias*. 2016; 37(6):4077-84.
472
- 473 32. Torrent E, Planella M, Ordeix L, Pastor J, Rodon J, Solano-Gallego L.
474 Serum symmetric dimethylarginine as na early marker of excretory dysfunction
475 in canine leishmaniosis (*L. infantum*) induced nephropathy. *Veterinary Medicine*
476 *International*. 2018;1-8.
477

478 33. Volpini AC, Passos VMA, Oliveira GC, Romanha AJ. PCR-RFLP to identify
479 *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing
480 American cutaneous leishmaniasis, *Acta Tropica*. 2004;90(1):31-37.

481

482 34. Werneck GL. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um
483 ciclo? *Caderno de Saúde Pública*, 2016; 32 (6): p.1, 851–6.

484

485 35. White J, Gay J, Farnsworth R, Mickas M, Kim K, Matton, J. Ultrasound
486 elastography of the liver, spleen, and kidneys in clinically normal cats.
487 *Veterinary Radiology & Ultrasound*. 2013; 55(4):.428-34.

488

489 36. WHO- WORLD HEALTH ORGANIZATION/ PAN AMERICAN HEALTH
490 ORGANIZATION. Available at 2019:
491 https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2019/en/

492

493 37. Zatelli A, Borgarelli M, Santilli R, et al. Glomerular lesions in dogs infected
494 with *Leishmania* organisms. *American Journal of Veterinary Research*. 2003; 64
495 (5):558-61.

496

497 38. Zoccali C, Maas R, Cutrupi S, et al. Asymmetric dimethylarginine (ADMA)
498 response to inflammation in acute infections. *Nephrology Dialysis*
499 *Transplantation*. 2007; 22 (3): 801-6.

500

501

502

503

504

505

506

507

508

509

510

511

512

513

514

515

516

517

518

519

520

521

522

523

524 Tabela 1: Distribuição dos achados ultrassonográficos renais ao modo B em
 525 cães soropositivos para leishmaniose visceral.
 526

Alterações	Animais acometidos	% da alteração
Aumento da ecogenicidade cortical	25	75,75%
Perda da definição corticomedular	9	27,27%
Aumento da ecogenicidade na junção corticomedular	4	12,12%
Pielectasia	4	12,12%
Aumento da espessura cortical	3	9,0%
Bordos irregulares	2	6,0%
Mineralização de divertículos	1	3,0%
Presença de nefrólito	1	3,0%

527
 528
 529
 530

531 Tabela 2: Distribuição dos valores hemodinâmicos das artérias interlobares e
 532 da análise bioquímica das amostras em cães soropositivos para leishmaniose
 533 visceral.
 534

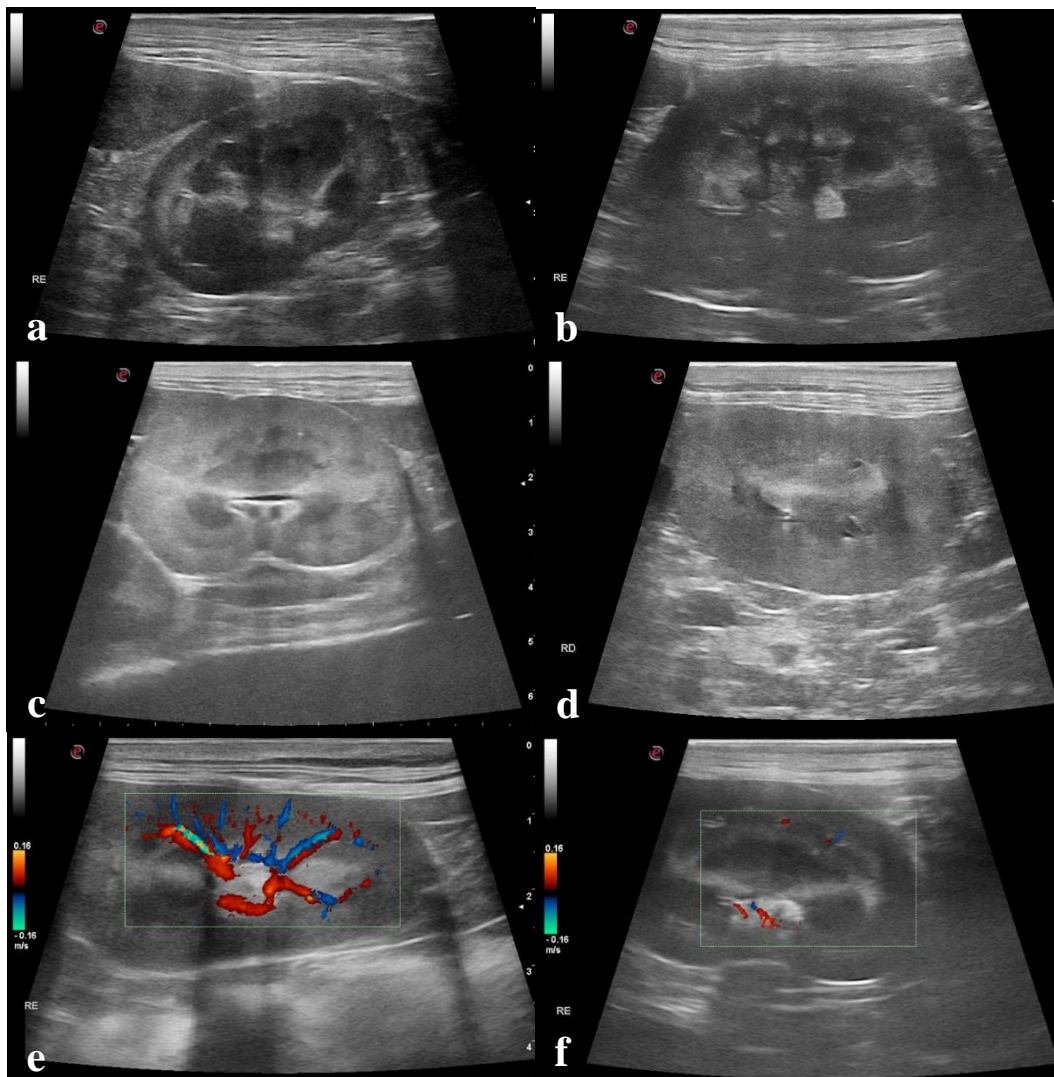
Variáveis	Média±Desvio Padrão	Mínimo	Máximo
IR RE	0,70 ±0,07	0,48	0,81
IR RD	0,71±0,04	0,64	0,83
IP RE	1,53±0,39	0,94	2,78
IP RD	1,46±0,25	1,06	2,03
Creatinina (mg/dL)	0,87±0,44	0,3	2,5
Ureia (mg/dL)	42,58±30,64	8,56	160,5
SDMA (µg/dL)	15,85±7,42	7	33
PA (mmHg)	115,15±28,10	80	200

535 IR, índice de resistividade; IP, índice de pulsatilidade; RE, rim esquerdo; RD rim direito; SDMA,
 536 dimetilarginina simétrica; PA, pressão arterial sistêmica.
 537
 538
 539
 540

541 Tabela 3: Distribuição dos resultados do escore elastográfico renal e esplênico
 542 em cães soropositivos para leishmaniose visceral.
 543

	Escore Elastográfico			
	1	2	3	4
Rim Esquerdo (n=31)	4 (12,9%)	21 (67,7%)	5 (16,2%)	1 (3,2%)
Rim Direito (n=30)	6 (20%)	16 (53,3%)	8 (26,70%)	0 (0%)

544



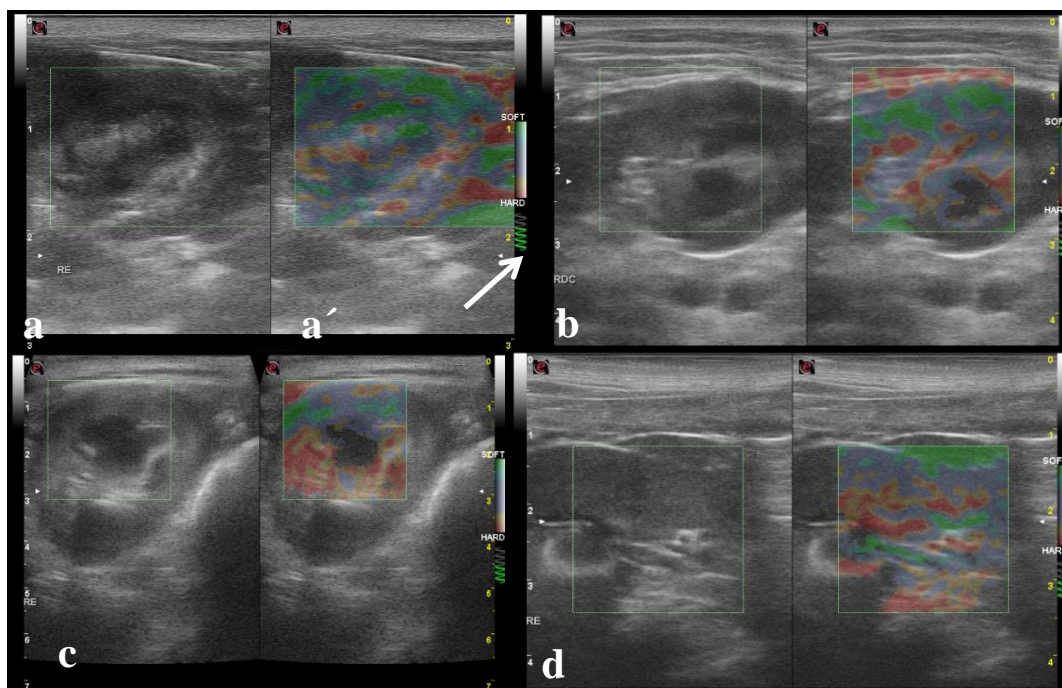
545

546

547

548 Figura 1: Ultrassonografia modo B de cães com leishmaniose visceral demonstrando em a: Rim
549 sem alterações, manutenção da ecogenicidade, relação e definição corticomedular (C/M). b:
550 Rim com bordos irregulares e perda da definição C/M. c: Rim apresentando hiperecogenicidade
551 de cortical e pielectasia. d: Perda da relação C/M, com espessamento cortical. Ultrassonografia
552 modo Doppler renal em e: Vascularização habitual. f: Hipovascularização.

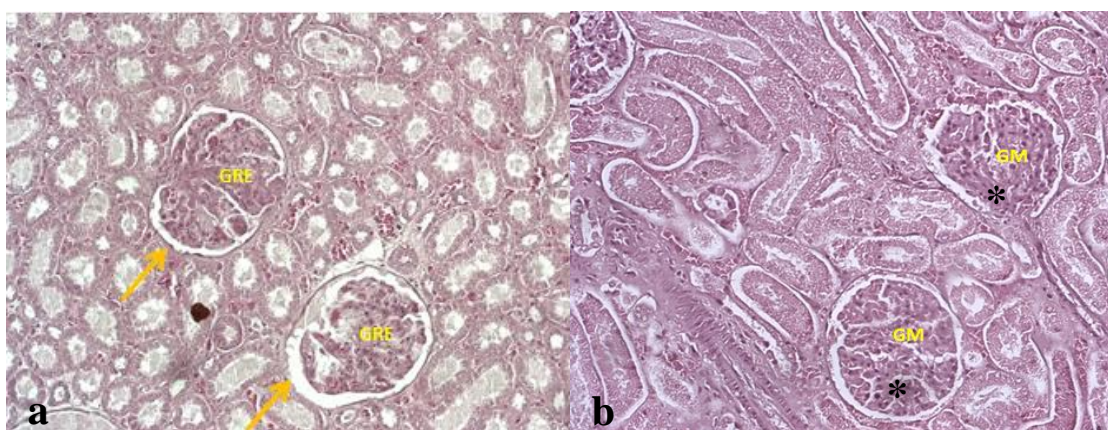
553



554

555 Figura 2: Elastograma renal de cães a: modo B. a': é possível identificar a escala de
 556 compressão satisfatória (seta), e a córtex renal com mais de 80% da área total preenchida por
 557 coloração verde (macio), correspondendo ao escore 1 em cão hígido sem alterações renais. b:
 558 a córtex renal com mais de 80% da área total preenchida por coloração verde (macio),
 559 correspondendo ao escore 1 em cão soropositivo para LV. c: parênquima renal com 50 a 80%
 560 da área total verde ou azul (intermediário macio), correspondendo ao escore 2 em cão
 561 soropositivo para LV. d: parênquima renal com 50 a 80% da área total preenchida por vermelho
 562 ou azul (intermediário rígido), correspondendo ao escore 3, em cão soropositivo para LV.

563



564

565 Figura 3. Fotomicrografia renal, coloração hematoxilina eosina. a: Esclerose
 566 glomerular (seta). b: Glomerulonefrite membranoproliferativa (*).

567

568

569

CAPÍTULO 3

Trabalho Científico 2

Trabalho a ser enviado para revista: Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária
e Zootecnia

Instruções para os autores:

<http://www.scielo.br/revistas/abmvz/iinstruc.htm>

Avaliação prospectiva dos achados ultrassonográficos e elastográficos esplênicos em cães com Leishmaniose visceral

Prospective evaluation of splenic ultrasonographic and elastographic findings in dogs with visceral Leishmaniasis

C.R. Dadalto^{1*}, S.P. Bonatelli¹, S. Bonadia¹, V. M. Camprigher², M.J. Mamprim¹

¹ Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – UNESP – Botucatu, SP

² Centro de Controle de Zoonoses, Secretaria de Saúde do município de Bauru/SP

*Autor para correspondência: carmel_dadalto@outlook.com

RESUMO

O presente estudo tem por objetivo descrever alterações ultrassonográficas e elastográficas encontradas no baço de cães sintomáticos e soropositivos para Leishmaniose visceral. Foram avaliados 36 cães naturalmente infectados, que ao exame ultrassonográfico modo-B apresentaram mais frequentemente um parênquima esplênico heterogêneo (28/36; 77,77%), com áreas micronodulares hipocogênicas dispersas (17/28; 60,7%) e esplenomegalia (21/36; 58,3%). O escore elastográfico esplênico mais observado foi o 3 (17/36; 47,22%), referente a tecidos de elasticidade intermediária tendendo à rígido. A imagem ultrassonográfica demonstrou ser capaz de definir o envolvimento esplênico de cães com leishmaniose e as alterações esplênicas descritas devem ser incluídas como diagnóstico diferencial em cães provenientes de áreas endêmicas.

Palavras-chave: Baço, Canino, Calazar, Elastografia, *Leishmania* spp., Ultrassom.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose potencialmente fatal causada por um protozoário do gênero *Leishmania* spp. com transmissão vetorial pelo flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* (Volpini *et al.*, 2014; WHO, 2019). É uma doença com sintomatologia multissistêmica e a exploração das lesões

abdominais induzidas pela LV baseia-se em exames ultrassonográficos (Gallego *et al.*, 2009).

Em áreas endêmicas uma alta porcentagem de cães infectados apresentam-se clinicamente saudáveis e servem de reservatório para animais susceptíveis e humanos (Paradies *et al.*, 2006; Dantas-tores, 2006). O diagnóstico é tardio devido aos sinais clínicos inespecíficos, longo período de incubação e dependente de testes específicos (Gallego *et al.*, 2009; Marcondes *et al.*, 2011).

A principal alteração está relacionada ao parasitismo dos macrófagos, com disseminação hematogênica e linfática para tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, com notáveis lesões em linfonodos, baço, fígado e medula óssea (Bourdoiseau *et al.*, 1997; Tafuri *et al.*, 2001; Ferrer, 2002; Ikeda-garcia e Marcondes, 2007). O baço é um dos órgãos linfoides incluso nos eventos da patogênese da LV Canina (LVC), devido à intensa e persistente replicação parasitária que resulta em lesão granulomatosa difusa do parênquima com os macrófagos infectados pela forma amastigota do parasita (Pimentel *et al.*, 2008; Silva, 2007).

O presente estudo objetivou descrever achados ultrassonográficos e elastográficos do parênquima esplênico de cães naturalmente infectados por LV, caracterizando lesões esplênicas, de forma a contribuir para o diagnóstico sugestivo e prognóstico em áreas endêmicas.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Estudo prospectivo observacional de 36 cães sintomáticos (Figura 1) de diferentes idades, sexo e raça com diagnóstico positivo para *Leishmania* spp. no teste imunocromatográfico rápido com o kit de antígenos recombinantes (TR DPP Leishmaniose Visceral Canina- Bio-Manguinhos) e teste confirmatório ELISA (EIE Leishmaniose Visceral Canina- Bio-Manguinhos).

O presente estudo foi realizado com cães oriundos de um Centro de Controle de Zoonoses de uma área endêmica, e é multiinstitucional. O experimento foi conduzido de acordo com os princípios éticos de experimentação animal vigente e adotados pelo Conselho nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e autorizado pela Comissão de Ética no

Uso de Animais (CEUA) da FMVZ, UNESP, Campus Botucatu, sob protocolo 62/2017.

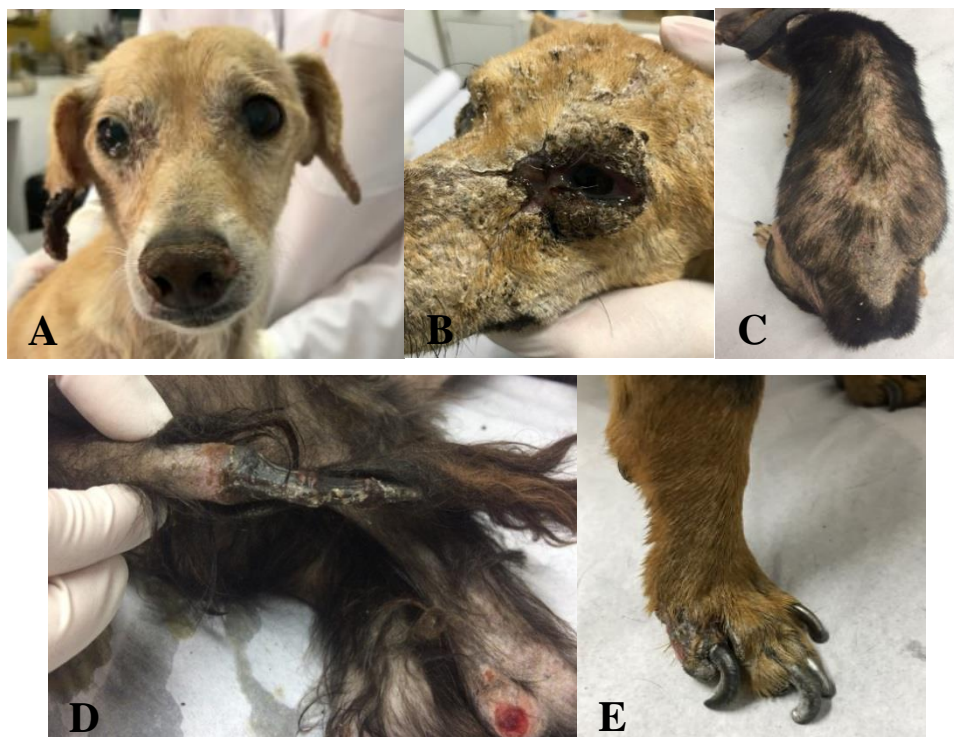


Figura 1: Cães sintomáticos soropositivos para Leishmaniose Visceral. A: Lesões cutâneas com úlceras crostosas na orelha e plano nasal. B: Úlceras crostosas em região periocular. C: Alopecia multifocal com descamação furfurácea. D: Lesões ulceradas em cauda e articulações. E: Onicogrifose.

Ultrassonografia

O exame ultrassonográfico foi realizado após confirmação da infecção, por meio de teste imunocromatográfico rápido (TIC) (TR DPP® - Biomanguinhos/Fiocruz) e ensaio imunocromatográfico (ELISA), com equipamento MyLab Alpha® (Esaote Healthcare do Brasil, São Paulo, SP) equipado com transdutor multifrequencial linear (4-13 MHz).

A avaliação do parênquima esplênico para ultrassonografia modo B teve como objetivo analisar alterações morfológicas de tamanho, forma, ecogenicidade, e ecotextura. A espessura esplênica foi mensurada da face mesentérica até o bordo dorsal em região hilar no plano sagital, para quantificar a esplenomegalia.

Elastografia

Utilizando o mesmo aparelho e ultrassom por meio da função ElaXto Sonoelastography, foi iniciada a avaliação elastográfica *Strain* no parênquima esplênico e tecidos adjacentes no plano longitudinal, com o monitor dividido em duas partes. À esquerda do monitor foi obtida a imagem em plano sagital modo B e à direita a imagem elastográfica. Para aquisição das imagens o transdutor foi posicionado perpendicularmente ao parênquima e movimentos compressivos leves, rítmicos foram realizados na área de interesse, e as imagens utilizadas para análise quando a escala de compressão estivesse verde, demonstrando que a pressão exercida estava regular, uniforme e satisfatória.

O grau de deformidade tecidual avaliado foi adquirido por meio de escala cromática qualitativa, variando de verde, relativo a componentes de alta tensão elástica (macios), a vermelho, referente aos tecidos com baixa tensão (rígidos), com coloração azul para tecidos de tensão intermediária. As imagens elastográficas foram classificadas de forma subjetiva e graduada em escores de acordo com o proposto por Tan et al. (2010) na classificação de linfonodos e adaptada para análise esplênica:

- 1: 80% ou mais da área total analisada obteve coloração verde (macio)
- 2: 50 a 80% da área total verde ou azul (intermediário macio)
- 3: 50 a 80% da área total vermelho ou azul (intermediário rígido)
- 4: mais de 80% da área total vermelho (rígido)

Análise Estatística

As variáveis foram tabuladas no programa Microsoft Office Excel 2010® e foram calculadas a frequência absoluta e relativa, juntamente com análise descritiva dos resultados.

RESULTADOS

Na avaliação ultrassonográfica esplênica ao modo B, pôde-se identificar as alterações descritas na tabela 1.

Dessa forma é possível identificar que a alteração mais relevante é a esplenomegalia associada à heterogeneidade do parênquima por áreas micronodulares hipocogênicas dispersas no parênquima (Figura 2). A espessura esplênica obteve a média de 1,62 cm \pm 0,38 da totalidade dos

animais, os classificados subjetivamente com esplenomegalia apresentaram uma média de 1,77 cm.

Tabela 1: Distribuição dos achados ultrassonográficos do parênquima esplênico ao modo B em cães soropositivos para leishmaniose visceral

Alterações Esplênicas	Animais acometidos/ Animais avaliados	% alterados
Esplenomegalia	21/36	58,3%
Parênquima heterogêneo	28/36	77,77%
Áreas micronodulares hipoeecogênicas	17/28	60,7%
Áreas puntiformes hipereecogênicas	10/28	36,9%
Hipoeecogênicidade difusa do parênquima	10/36	27,7%

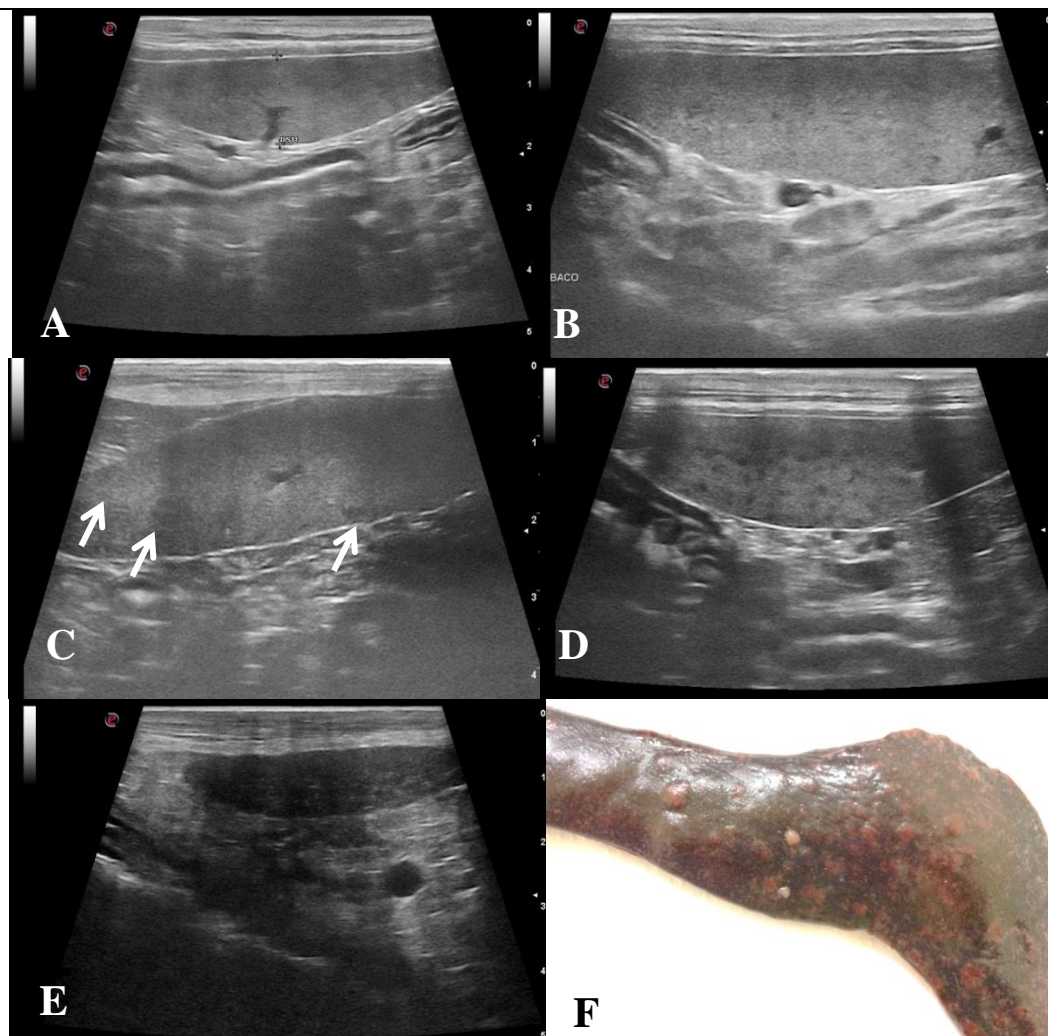


Figura 2: Ultrassonografia modo B demonstrando em A: Imagem esplênica sem alterações ao exame ultrassonográfico. B: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo. C: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo e áreas micronodulares discretas hipoeecogênicas difusas no parênquima (seta). D: Esplenomegalia com parênquima heterogêneo e áreas micronodulares hipoeecogênicas evidentes difusas no parênquima. E: Hipoeecogênicidade difusa com áreas puntiformes hipereecogênicas. F: Avaliação macroscópica esplênica com áreas nodulares em superfície.

Na distribuição do escore elastográfico esplênico houve predomínio do escore 3 (47,22%) referente a tecidos com elasticidade intermediária tendendo a rígida, seguida pelo escore 4 (27,78%) rígido, e pelo escore 2 (25%) tendendo a macio, nenhum dos animais apresentou escore elastográfico 1 no parênquima esplênico, característico de macio (Figura 3).

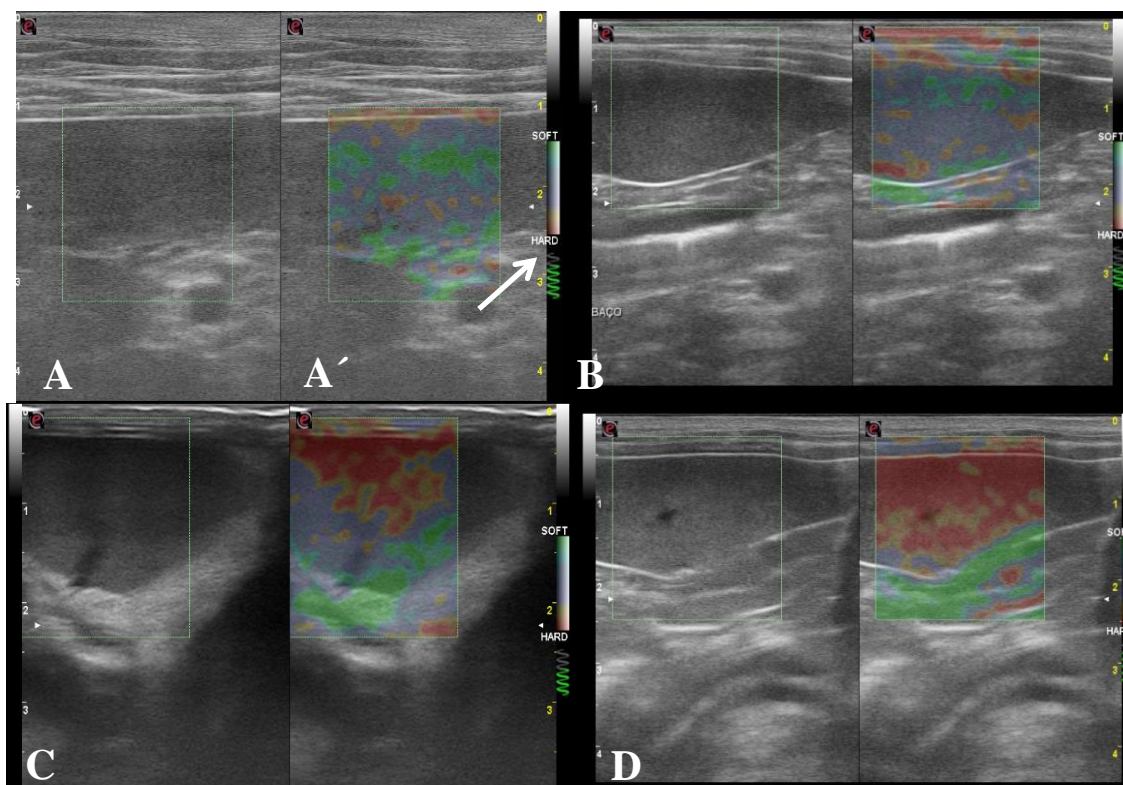


Figura 3: Escore elastográfico de cães soropositivos para leishmaniose visceral (B/C/D) é possível identificar, na lateral inferior direita a escala de compressão foi satisfatória (seta). A: modo B. A': parênquima esplênico de cão hígido sem alterações ultrassonográficas esplênicas. B: parênquima esplênico com 50 a 80% da área total preenchida por azul (intermediário) e discretas áreas verdes (macio), correspondendo ao escore 2. C: parênquima esplênico com 50 a 80% da área total preenchida por vermelho (rígido) e azul (intermediário), correspondendo ao escore 3. D: parênquima esplênico com mais de 80% da área total preenchida por coloração vermelha (rígida), discretas áreas verdes (macia), correspondente ao escore 4.

DISCUSSÃO

A principal característica encontrada no baço de cães soropositivos foi a esplenomegalia, corroborando com a literatura humana e veterinária (Mahmoud *et al.*, 2014; Paradies *et al.*, 2018; Oliveira, 2018; Farahani *et al.*, 2019) e a ecotextura heterogênea do parênquima, que pode estar relacionada com o curso inflamatório da doença crônica difusa e a presença de macrófagos formadores de granulomas (Pimentel *et al.*, 2008; Oliveira, 2018).

A dimensão do baço é considerada subjetiva na medicina veterinária, o seu tamanho é variável com o peso e raça e deve ser correlacionado com o exame radiográfico (Nyland e Hager, 1985). No presente estudo devido a diversidade de portes dos animais e heterogeneidade de raças a esplenomegalia foi caracterizada subjetivamente com a experiência do operador em avaliar o deslocamento de alças intestinais, estômago e proximidade do parênquima esplênico com a bexiga.

A esplenomegalia, com bordas arredondadas, ecotextura heterogênea com áreas hipocogênicas micronodulares (< 1 cm) dispersas no parênquima não são alterações exclusivas de cães com leishmaniose. Tais imagens ultrassonográficas podem ser encontradas também como resultado de hiperplasia linfóide reativa e hematopoiese extramedular concomitantes devido à multiplicação de células mononucleares circulantes ou tecidos fagocitários mononucleares esplênicos, mesmo em estágios subclínicos da doença (Egenvall *et al.*, 2000; Maronezi *et al.*, 2015). Essas alterações histológicas podem ocorrer em outras doenças parasitárias como erliquiose, babesiose e micoplasmose (Egenvall *et al.*, 2000; Maronezi *et al.*, 2015).

As alterações esplênicas detectadas por ultrassonografia convencional no presente estudo, provavelmente seguem o mesmo padrão do que ocorre nos cães com erliquiose, que são a vasculite e esplenite, como resultado da inflamação do parênquima (Albernaz *et al.*, 2007; Santarém *et al.*, 2008). Essas alterações refletem na ecotextura heterogênea difusa do parênquima (Maronezi *et al.*, 2015).

Outra descrição ultrassonográfica semelhante aos achados de parênquima heterogêneo e nodular hipocogênico já foram descritos como aparência de “favo de mel” e correlacionada com cães sintomáticos para LV com citologia condizente pela presença de amastigotas de *Leishmania* spp. (Paradies *et al.*, 2018). Esse aspecto ultrassonográfico tem como diagnósticos diferenciais o linfoma, sarcoma linfático ou esplenite piogranulomatosa em cães (Hecht, 2008).

Na medicina humana já foram relatados nódulos iso a hipocogênicos únicos ou multifocais, inferiores a 1 cm, associado a esplenomegalia em crianças diagnosticadas com LV (Melchionda *et al.*, 2014). Nódulos como

esses sugerem que essas lesões são indicadoras da doença em bebês e crianças (Melchionda *et al.*, 2014; Paradies *et al.*, 2018).

No estudo realizado após o tratamento de cães com o protocolo padronizado na Europa, utilizando antimoniato de meglumine 50mg/kg por 28 dias associado ao alopurinol 10mg/kg por seis meses (Paradies *et al.*, 2018). Autores descreveram que as lesões esplênicas desapareceram e os animais apresentaram baço de tamanho e ecogenicidade habituais (Paradies *et al.*, 2018).

O baço é um órgão parenquimatoso que possui uma janela elastográfica de fácil acesso para aplicação de forças compressivas, apesar de ainda ser necessário a padronização de técnica para aumentar a acurácia e repetibilidade (Jeon *et al.*, 2015) A avaliação elastográfica esplênica nesse estudo demonstrou rigidez acentuada do parênquima, obtendo um escore 3 (vermelho e azul) em 47,22% dos animais. Apesar de no presente estudo não haver grupo controle com cães negativos para LV, tais achados divergiram do estudo em gatos hípidos utilizando a mesma técnica de elastossonograma colorimétrico do parênquima esplênico, em que caracterizou com escore de intermediário a macio (azul e verde), sendo sempre mais macio que a parede abdominal (vermelha) e mais rígido que a gordura abdominal adjacente (verde) (White *et al.*, 2013) , havendo uma discrepância nos achados para cães soropositivos LV. Na elastografia o escore colorimétrico aumentado, demonstrou uma rigidez tecidual, podendo estar associada à presença de fibrose ou granulomas esplênicos secundários a cronicidade das lesões em macrófagos (Pimentel *et al.*, 2008).

CONCLUSÃO

Ao conhecimento dos autores, na veterinária ainda são escassos os dados sobre estudos elastográficos de normalidade em cães com a técnica *Strain* assim como com alterações esplênicas e portanto cada técnica deve ter uma padronização nos valores de referência.

A imagem ultrassonográfica esplênica de animais soropositivos para LV apresentaram com maior frequência esplenomegalia acompanhada de ecotextura heterogênea com áreas micronodulares hipoecogênicas dispersas

no parênquima. Os escores elastográficos colorimétricos caracterizaram esse parênquima como de tecidos rígidos, superior aos descritos na literatura.

Os resultados deste estudo sugerem que a ultrassonografia é capaz de definir o envolvimento sistêmico de cães com leishmaniose e que as alterações esplênicas descritas devem ser consideradas no diagnóstico diferencial de animais provenientes de áreas endêmicas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES pela bolsa de estudo concedida, a FAPESP pelo auxílio financeiro, processo 2018/21048-5, ao CNPQ e ao Centro de Controle de Zoonoses de Bauru em especial à veterinária Valéria Medina Camprigher.

REFERÊNCIAS

ALBERNAZ, A.P.; MIRANDA, F.J.B.; MELO JR. et al. Canine ehrlichiosis in Campos dos Goytacazes, Rio de Janeiro, Brazil. *Ciência Animal Brasileira*, v.8, n.4, p.799-806, 2007.

BOTA, S.; SPOREA, I.; SIRLI, R.; et al. Spleen assessment by Acoustic radiation force impulse elastography (ARFI) for prediction of liver cirrhosis and portal hypertension. *Medical Ultrasonography*, v.12, p.213-217, 2010.

BOURDOISEAU, G.; MARCHAL, T.; MAGNOL, J.; Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of canine skin and lymph nodes. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, v.9, p. 439-440, 1997.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Geographical expansion of visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco. *Revista Brasileira de Medicina Tropical*, v.34, n.4, p.352-356, 2006.

EGENVALL, A.; LILLIEHOOK, I.; BJOERDORFF, A. et al. Detection of granulocytic Ehrlichia species DNA by PCR in persistently infected dogs. *The Veterinary Record*, v. 146, n.7, p.186-190, 2000.

FARAHANI, L.Z.; SAGHAFIPOUR, A.; MOHEBALI, M. et al. Visceral leishmaniasis (Kala-azar) in Qom province, Iran: Report of two cases. *F1000Research*, v.7, n.1371, p. 1-12, 2019.

FELICIANO, M.A.R.; MARONEZI, M.C.; CRIVELLENTI, L.Z. et al. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats – a preliminary study. *Journal of Small Animal Practice*, v.56, n. 3, p. 180-183, 2014.

FERRER L. The pathology of canine leishmaniasis. In: Killick-Kendrick R, ed. Canine leishmaniasis: Moving Towards a Solution. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, Intervet International BV, 21–4, 2002.

GALLEGO, L.S.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and preventions of canine leishmanosis. *Veterinary Parasitology*, v.165, p.1-18, 2009.

HOLDSWORTH, A.; BRADLEY, K.; BIRCH, S.; et al. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. *Veterinary Radiology and Ultrasound*, v.55, n.6, p.620-627, 2014.

IKEDA-GARCIA, F.A.; MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Clínica Veterinária*, São Paulo, ano 12, n. 71, p.34-42, 2007.

JEON, S.; LEE, G.; LEE, S.K.; KIM, H. et al. Ultrasonographic elastography of liver, spleen, kidneys, and prostate in clinically normal beagle dogs. *Vet. Radiol. Ultrasound*, v.56, n.4, p.425-431, 2015.

MAHMOUD, M.Z. Assessment of visceral leishmaniasis consequences using ultrasound. *Open Journal of Radiology*, v.4, p.201-206, 2014.

MARCONDES, M.; BIONDO, A.W.; GOMES, A.A.D. et al. Validation of a *Leishmania infantum* ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. *Veterinary Parasitology*, v. 175, n. 1, p. 15-19, 2011.

MARONEZI, M.C.; FELICIANO, M.A.R.; CRIVELLENTI, L.Z. et al. Spleen evaluation using contrast enhanced ultrasonography and Doppler in dogs with subclinical ehrlichiosis. *Arquivo Brasileiro de Medicina e Zootecnia*, v.67, n.6, p.1528-1532, 2015.

MELCHIONDA, F.; VARANI, S.; CARFAGNINI, F. et al. Spleen nodules: a potential hallmark of Visceral Leishmaniasis in young children. *BMC Infectious Diseases*, v.14, n.1, p.1-5, 2014.

NYLAND, T.G.; HAGER, D.A. Sonography of the liver, gallbladder and spleen. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, v.15, p.1123-1148, 1985.

OLIVEIRA, H.S. Avaliação renal e esplênica por meio da ultrassonografia modo –B e Doppler em cães naturalmente infectados por leishmaniose visceral. 2018. 58f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

PARADIES P.; CIPONE, M.; MELE, I. et al. Abdominal ultrasound findings associated with canine visceral leishmaniasis in endemic areas. *Annals of Clinical Cytology and Pathology*, v.4, n.1, p.1093, 2018

PIMENTEL, D.S.; ALBUQUERQUE, E.R.C.; FAUSTINO, M.A.G. et al. Alterações estruturais hepáticas e esplênicas em cães (canis familiaris, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por Leishmania (Leishmania) chagasi (Cunha e Chagas, 1937). *Medicina Veterinária*, v.2, n.2, p.23-27, 2008.

SANTARÉM, V.A.; JOSÉ, M.D.; LAPOSY C.B. Alterações bioquímicas em cães citopênicos e não citopênicos com ehrlichiose. *Semina: Ciências Agrícolas*, v.29, p.845-852, 2008.

SILVA, F. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. *Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas*, v.1, n.1, p.20-31, 2007.

SON, C.Y.; KIM, SU.; HAN, W.K.; et al. Normal liver elasticity values using acoustic radiation force impulse imaging: A prospective study in healthy living liver and kidney donors. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, v.27, p.130-136, 2011.

TAFURI, W.L.; DE OLIVEIRA, M.R.; MELO, M.N.; TAFURI, W.L.; Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological Picture of one case report from Brazil. *Veterinary Parasitology*, n.96, p. 203-212, 2001.

VOLPINI, A. C.; PASSOS, V. M. A.; OLIVEIRA, G. C.; ROMANHA, A. J. PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing merican cutaneous leishmaniasis, *Acta Tropica*, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 31-37, 2004.

WHITE, J. GAY, J.; FARNSWORTH, R.; MICKAS, M. et al. Ultrasound elastography of the liver, spleen, and kidneys in clinically normal cats. *Veterinary Radiology & Ultrasound*, v.55, n.4, p.428-434, 2013.

WHO- WORLD HEALTH ORGANIZATION/ PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Available at 2019: https://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/2019/en/

CAPÍTULO 4

*Discussão geral, conclusões gerais e
bibliografia*

DISCUSSÃO GERAL

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, a ultrassonografia é uma técnica importante na avaliação das lesões renais e esplênicas de cães soropositivos para LV.

Com relação a ultrassonografia renal, características relacionadas à vascularização e perfusão, obtidas com a ferramenta Doppler, apresentaram precocidade em predizer alterações na função, antecedendo alterações laboratoriais mesmo quando utilizados biomarcadores precoces. A hipovascularização e aumento do IR na avaliação da hemodinâmica renal já haviam sido descritos, e a análise histopatológica das lesões corroborou com a literatura (BALTAZAR et al., 2016), porém apenas exames laboratoriais tardios como a creatinina e ureia haviam sido utilizados para avaliação da função renal.

A utilização do SDMA para avaliar precocemente a redução da função renal, onde os níveis séricos aumentam quando há perda de 30% da funcionalidade néfrica, enquanto a creatinina sérica se eleva somente após 70% da função renal (NABITY et al., 2015). Outro fator que limita a análise da creatinina é que animais com baixo escore corporal, como caquexia, o valor sérico pode ser influenciado (NABITY et al., 2015; HALL et al., 2016). Dessa forma o SDMA foi o biomarcador de escolha para este estudo.

A principal característica encontrada no baço de cães soropositivos foi esplenomegalia, com ecotextura heterogênea, podendo ser correlacionada com o curso crônico e inflamatório da doença (PIMENTEL et al., 2008; MAHMOUD, 2014; OLIVEIRA, 2018). Na elastografia o escore colorimétrico aumentado, demonstrou rigidez tecidual, podendo estar associada a presença de fibrose ou granulomas esplênicos secundários a cronicidade das lesões em macrófagos (PIMENTEL et al, 2008).

CONCLUSÃO GERAL

Pode-se concluir que as alterações ultrassonográficas, dopplerfluxométricas e elastográficas em cães soropositivos para LV no rim foram:

1. Ao modo B, aumento da ecogenicidade cortical.
2. Ao Doppler colorido e pulsado, houve hipovascularização periférica com aumento do IR e IP, mesmo em pacientes normotensivos.
3. A elastografia demonstrou um parênquima com elasticidade intermediária a macia, escore 2, sendo mais macio que a parede abdominal e mais rígida que a gordura adjacente.

As alterações esplênicas avaliadas foram:

1. Ao modo B, esplenomegalia com parênquima heterogêneo e áreas micronodulares hipoecogênicas difusas.
2. Na elastografia o parênquima demonstrou rigidez tecidual aumentada, escore 3.

REFERÊNCIAS

ABDALLA, E.A.; AYAD, C.E.; AHMED, A.M.F.; ELGADDAL, A.S.A.; SAEED, A. Ultrasound findings in patients with Visceral Leishmaniasis. **International Journal of Medical Imaging**, v.2, n.1, p.5-9, 2014.

ALAM, F.; NAITO, K.; HORIGUCHI, J.; FUKUDA, H.; TACHIKAKE, T.; ITO, K. Accuracy of sonographic elastography in the differential diagnosis of enlarged cervical lymph nodes: comparison with conventional B-mode sonography. **American Journal of Roentgenology**, v.191, p.604-610, 2008.

ALDER, D.; BASS, D.; SPORRI, M.; KIRCHER, P.; OHLERTH, S. Does real-time elastography aid in differentiating canine splenic nodules? **Schweizer Archiv für Tierheilkunde**, v.155, p. 491-496, 2013.

ALEMAYEHU, B.; ALEMAYEHU, M. Leishmaniasis: A review on parasite, vector and reservoir host. **Health Science Journal**, v.11, n.4, p.1-6, 2017.

ALMEIDA, M.A.; JESUS, E.E.; SOUSA-ATTA, M.L.; ALVES, L.C.; BERNE, M.E., ATTA, A.M.; Clinical and serological aspects os visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Veterinary Parasitology**, v.127, n.3-4, p.227-232, 2005.

ALVAR, J.; YACTAYO, S.; BERN, C. Leishmaniasis and poverty. **Trends in Parasitology**, v.22, n.12, p.552-557, 2006.

ALVAR, J.; VALEZ, I.D.; BERN, C.; HERRERO, M.; DESJEUX, P.; CANO, J.; JANNIN, J.; DEN BOER, M. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **Plos One**, v.7, n.5, 2012.

ARDA, K.; CILEDAG, N.; GUMUSDAG, P.D. Differential diagnosis of malignant cervical lymph nodes at real-time ultrasonographic elastography and Doppler ultrasonography. **Hungarian Radiology Online**, v.10, p.1-4, 2010.

BALTAZAR, P.I.; MOURA, L.S.; PESSOA, G.T.; RODRIGUES, R.P.S.; SANCHES, M.P.; DINIZ, A.N.; SOUSA, F.C.A.; GUERRA, P.C.; NEVES, W.C.; GIGLIO, R.F.; ALVES, J.J.R.P.; SOUZA, F.A.L.; BRAGA, J.F.V.; ALVES, F.R. Comparative B-mode and Doppler renal ultrasonography with histopathological findings in dogs positive for canine visceral leishmaniasis. **Microscopy Research and Technique**, n.79, p.637-345, 2016.

BAMBER, J.C.; COSGROVE, D.; DIETRICH, C.F.; FROMAGEAU, J.; BOJUNGA, J.; CALLIADA, F.; CANTISANI, V.; CORREAS, J.M.; D'ONOFRIO, M.; DRAGONAKI, E.E.; FINK, M.; FRIEDRICH-RUST, M.; GILJA, O.H.; HAVRE, R.F.; JENSSEN, C.; KLAUSER, A.S.; OHLINGER, R.; SAFTOIU, A.; SCHAEFER, F.; SPOREA, I.; PISCAGLIA, F. EFSUMB guidelines and recommendations on the clinical use of ultrasound elastography. Part 1: Basic principles and technology. **Ultraschall in der Medizin**, v.34, p.169-184, 2013.

BANETH, G.; KOUTINAS, A.F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BOURDEAU, P.; FERRER, L. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends in Parasitology**, v.24, n.7, p.324-329, 2008.

BARR, F.J.; HOLT, P.E.; GIBBS, C. Ultrasonographic measurement of normal renal parameters. **Journal of Small Animal Practice**, v.31, n.4, p.180-184, 1990.

BARR, F.J.; PETTESON, M.W.; LUCKE, V.M.; GIBBS, C. Hipercalcemic nephropathy in three dogs: sonographi appearance. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.30, p.169-173, 1989.

BARROUIN-MELO, S.M.; LARANGEIRA, D.F.; ANDRADE FILHO, F.A.; TRIGO, J.; JULIÃO, F.S.; FRANKE, C.R.; AGUIAR, P.H.P.; DOS-SANTOS, W.L.C.; PONTES-DE-CARVALHO, L. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis ? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. **The Veterinary Journal**, n.171, p.331-339, 2006.

BELOTTA, A.F. **Perfil ultrassonográfico e elastossonográfico em cães acometidos por linfadenopatias**. 2018. 103f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

BELOTTA, A.F.; GOMES, M.C.; ROCHA, N.S.; MELCHERT, A.; GIUFFRIDA, R.; SILVA, J.P.; MAMPRIM, M.J. Sonography and sonoelastography in the detection of malignancy in superficial lymph nodes of dogs. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, p.1-11, 2019.

BHATIA, K.S.S.; CHO, C.C.M.; YUEN, Y.; RASALKAR, D.D.; KING, A.D.; AHUJA, A.T. Real-time qualitative ultrasound elastography of cervical lymph nodes in routine clinical practice: interobserver agreement and correlation with malignancy. **Journal of Ultrasound in Medicine and Biology**, v.36, n.12, p.1990-1997, 2010.

BILLER, D.S.; BRADLEY, G.A.; PARTINGTON, B.P. Renal medullary rim sign: ultrasonographic evidence of renal disease. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v.33, n.5, p. 286-290, 1992.

BOGGIATTO, P.M.; GIBSON-CORLEY, K.; METZ, K.; GALLUP, J.M.; HOSTETTER, J.M.; MULLIN, K.; PETERSEN, C. A. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. **Plos Neglected tropical diseases**, v.5, 2011.

BORASCHI, C.S.S., NUNES, C.M. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral urbana no Brasil. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano 12, n.71, p.44-48, 2007.

BOURDOISEAU, G.; MARCHAL, T.; MAGNOL, J.; Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of canine skin and lymph nodes. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v.9, p. 439-440, 1997.

BRAGA, E.T.; LEITE, J.H.; ROSA, F.A.; TIVELLI, P.; ARAÚLO, A.M.; ALMEIDA, B.F.M.; FERRARI, H.F.; CIARLINI, P.C.; MACHADO, G.F.; MARCONDES, M. Hypertension and its correlation with renal lesions in dogs with leishmaniosis. **Revista Brasileira de Parasitologia**, v.24, n.1, p.45-51, 2015.

BRAGATO, N.; BORGES, N. C.; FIORAVANTI, M. C. S. B-mode and Doppler ultrasound of chronic kidney disease in dogs and cats. **Veterinary Research Communications**, v. 41, n. 4, p. 307-315, 2017.

BÜKTE, Y.; NAZAROGLU, H.; METE, A.; YILMAZ, F.; Visceral leishmaniasis with multiple nodular lesions of the liver and spleen: CT and sonography findings. **Abdominal Imaging**, v.29, p.82-84, 2004.

CHANG, Y.J.; CHAN, I.P.; CHENG, F.P.; WANG, W.S.; LIU, P.C.; LIN S.L. Relationship between age, plasma renin activity, and renal resistive index in dogs. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.51, n.3, p.335-337, 2010.

CHETBOUL, V.; DASTE, T.; GOUNI, V.; CONCORDET, D.; TREHIOU-SECHI, E.; SERRES, F.; POUCHELON, J.L.; GERMAIN, C.A.; LAYSSOL-LAMOUR, C.; LEFEBVRE, H.P. Renal resistive index in 55 dogs with degenerative mitral valve disease. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.26, n.1, p.101-108, 2011.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine Leishmaniasis: Clinical and Diagnostic Aspects. **Compendium**, v. 25, n.5, 2003.

CORTESE, L.; TERRAZZANO, G.; PIANTEDOSI, D.; SICA, M.; PRISCO, M.; RUGGIERO, G.; CIARAMELLA, P. Prevalence of anti-platelet antibodies in dogs naturally co-infected by *Leishmania infantum* and *Ehrlichia canis*. **The Veterinary Journal**, v.188, p.118-121, 2011.

COSTA, F.A.L.; GOTO, H.; SALDANHA, L.C.B.; SILVA, S.M.M.S.; SINHORINI, I.L.; SILVA, T.C.; GUERRA, J.L. Histopathologic Patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, n.40, v.6, p. 677-684, 2003.

De LAHUNTA, E. The Urogenital System. In: EVAN, A; de LAHUNTA, E. **Miller's Anatomy of the Dog**. 4 ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2013, p.361-374.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases**, v.27, n.5,p.305-318, 2004

DIVE – DIRETORIA DE VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA, 2018. http://www.dive.sc.gov.br/conteudos/zoonoses/publicacoes/Guia_Basico_de_Orientacao_LVC_2018.pdf

FARIA, A.R. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços e baixa aplicação na prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**,v.3, n.2, p.47-57, 2012.

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**, v. 5, n. 28, p. 36-44, 2000.

FELICIANO, M.A.R.; MARONEZI, M.C.; PAVAN, L.; CASTANHEIRA, T.L.; SIMÕES, A.P.R.; CARVALHO, C.F.; CANOLA, J.C.; VICENTE, W.R.R. ARFI elastography as a complementary diagnostic method for mammary neoplasia in female dogs – preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**, v.55, p.504-508, 2014.

FELICIANO, M.A.R.; MARONEZI, M.C.; CRIVELLENTI, L.Z.; CRIVELLENTI, S.B.; SIMÕES, A.P.R.; BRITO, M.B.S.; GARCIA, P.H.S.; VICENTE, W.R.R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy adult cats – a preliminary study. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.3, p.180-183, 2015a.

FELICIANO, M.A.R.; MARONEZI, M.C.; SIMÕES, A.P.R.; USCATEGUI, R.R.; MACIEL, G.S.; CARVALHO, C.F.; CANOLA, J.C.; VICENTE, W.R.R. Acoustic radiation force impulse elastography of prostate and testes of healthy dogs: preliminary results. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.5, p.320-324, 2015b.

FELICIANO, M.A.R.; MARONEZI, M.C.; SIMÕES, A.P.R.; MACIEL, G.S.; PAVAN, L.; GASSER, B.; SILVA, P.; USCATEGUI, R.R.; CARVALHO, C.F.; CANOLA, J.C.; VICENTE, W.R.R. Acoustic radiation force impulse (ARFI)

elastography of testicular disorders in dogs: preliminary results. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.68, n.2, p.283-291, 2016.

FERRER L. The pathology of canine leishmaniasis. In: Killick-Kendrick R, ed. Canine leishmaniasis: Moving Towards a Solution. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum. Sevilla, Spain, Intervet International BV, 21-4, 2002.

FONT, A.; CLOSA, J.M. Ultrasonographic localization of a caudal vena cava thrombus in a dog with leishmaniasis. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.38, n.5, p.394-396, 1997.

FORRESST, L.J.; O'BRIEN, R.T.; TREMELLING, M.S.; STEINBERG, H.; COOLEY, A.J.; KERLIN, R.L.; Sonographic renal findings in 20 dogs with renal leptospirosis. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v.39, p.337-340, 1998.

GALLEGO, L.S.; 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 preventions of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.165, p.1-18, 2009.

GAO, J.; NG, A.; SHIH, G.; GOLDSTEIN, M.; KAPUR, S.; WANG, J.; MIN, R.J. Intrarenal color Doppler ultrasonography: a window to vascular complications of renal transplants. **Journal Ultrasound Medicine**, v.26, p.1403-1418, 2007.

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.

GLINSKA-SUCHOCKA, K.; JANKOWSKI, M.; KUBIAK, K.; SPUZAK, J.; DZIMIRA, S.; NICPON, J. Application of shear wave elastography in the diagnosis of mammary gland neoplasm in dogs. **Journal of Veterinary Sciences**, v.16, n.3, p.477-482, 2013.

GLINSKA-SUCHOCKA, K.; JANKOWSKI, M.; KUBIAK, K.; SPUZAK, J.; DZIMIRA, S. Sonoelastography in differentiation of benign and malignant testicular lesions in dogs. **Journal of Veterinary Sciences**, v.17, n.3, p.487-491, 2014.

GOMES, Y.M.; CAVALCANTI, M.P.; LIRA, R.A.; ABATH, F.G. ALVES, L.C. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. **The Veterinary Journal**, v.175, n.1, p.45-52, 2008.

GONCALVES R, TAFURI WL, MELO MN, RASO P, TAFURI WL. Chronic interstitial pneumonitis in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*: a histopathological and morphometric study. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v.45, p.153-158, 2003.

GONTIJO, C.M.; MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.7, n.3, p.338-349, 2004.

GRAMICCIA, M.; GRADONI, L. The current status of zoonotic leishmaniasis and approaches to disease control. **International Journal for Parasitology**, v.35, p.1169-1180, 2005.

GRAMICCIA, M. Recent advances in leishmaniasis in pet animals: Epidemiology, diagnostics and anti-vectorial prophylaxis. **Veterinary Parasitology**, v.181, p.23-30, 2011.

GRANATA, A.; FIORINI, F.; ANDRULLI, S.; LOGIAS, F.; GALLIENI, M.; ROMANO, G.; SICUREZZA, E. FIORE, C.E. Doppler ultrasound and renal artery stenosis: an overview. **Journal of Ultrasound**, v.12, p.133-143, 2009.

HALL, T.J. Beyond the basics: elasticity imaging with US. **Radiographics**, v.23, p.1657-1671, 2003.

HECHT, S. Baço. In: D'ANJOU, M.A. **Atlas de ultrassonografia de pequenos animais**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2011, p.261-278.

HOLDSWORTH, A.; BRADLEY, K.; BIRCH, S.; BROWNE, W.J.; BARBERET, V. Elastography of the normal canine liver, spleen and kidneys. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.55, n.6, p.620-627, 2014.

HONSE, C.O.; FIGUEIREDO, F.B.; ALENCAR, N.X.; MADEIRA, M.F.; GREMIÃO, I.D.F.; SCHUBACH, T.M.P. Disseminated intravascular coagulation in a dog naturally infected by Leishmania (Leishmania) chagasi from Rio de Janeiro – Brazil. **BCM Veterinary Research**, v.9, n.43, p.1-5, 2013.

IRIS. Staging of CKD (modified 2019). Disponível em: <http://www.iris-kidney.com/guidelines/staging.html>. Acesso em 21 de Outubro de 2019.

IKEDA-GARCIA, F.A.; MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Clínica Veterinária**, São Paulo, ano 12, n. 71, p.34-42, 2007.

JACOB, F.; POLZIN, D.J.; OSBORNE, C.A.; NEATON, J.D.; KIRK, C.A.; ALLEN, T.A.; SWANSON, L.L. Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v.226, n.3, p.393-400, 2005.

JAFFE, C.L.; ZALIS, M. Use of purified parasite proteins from Leishmania donovani for the rapid serodiagnostics of visceral leishmaniasis. **The Journal of Infectious Diseases**, v.157, n.6, p.1212-1220, 1988.

JEPSON, R.E.; SYME, H.M.; VALLANCE, C.; ELLIOTT, J. Plasma asymmetric dimethylarginine symmetric dimethylarginine, L-arginine, and nitrite/ nitrate

concentrations in cats with chronic kidney disease and hypertension. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.22, n.2, p.317-324, 2008.

JEON, S.; LEE, G.; LEE, S.; KIM, H.; YU, D.; CHOI, J. Ultrasonographic elastography of the liver, spleen, kidneys, and prostate in clinically normal beagle dogs. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v.56, n.4, p.425-431, 2015.

JERONIMO, S.M.B.; DUGGAL, P.; BRAZ, R.F.S.; CHENG, C.; MONTEIRO, G.R.G.; NASCIMENTO, E.T.; MARTINS, D.R.A.; KARPLUS, T.M.; XIMENES, M.F.F.M.; OLIVEIRA, C.C.G.; PINHEIRO, V.G.; PEREIRA, W.; PERALTA, J.M.; SOUSA, J.M.A.; MEDEIROS, I.A.; PESRSON, R.D.; BURNS, T.L.; PUCH, E.W.; WILSON, M.E. An emerging periurban pattern of infection with *Leishmania chagasi*, the protozoan causing visceral leishmaniasis in northeast Brazil. **Scandinavian Journal of Infectious Diseases**, v. 36, p. 443-449, 2004.

KOCH, J.; JENSEN, A.L.; WENCK, A.; IVERSEN, L.; LYKKEGAARD, K. Duplex Doppler measurements of renal blood flow in a dog with Addison's disease. **Journal Small Animal Practice**, v.38, p.124-126.

KOMA, L.M.; KIRBERGER, R.M.; SCHOLTZ, L. Doppler ultrasonographic changes in the canine kidney during normovolaemic anaemia. *Research in Veterinary Science*, v.80, p.96-102, 2006.

LAINSON, R.; DYE, C.; SHAW, J.J.; MACDONALD, D.W.; COURTENAY, O.; SOUZA, A.A.A.; SILVEIRA, S.F. Amazonian visceral leishmaniasis - distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. **Mem Inst Oswaldo Cruz**, v.85, n.1, p.135-137, 1990.

LAURENTI, M.D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, v.6, n.67, p.13-23, 2009.

LEITE, R.S.; FERREIA, S.A.; ITUASSU, L.T.; MELO, M.N.; ANDRADE, A.S. PCR diagnosis of visceral leishmaniasis in asymptomatic dogs using conjunctival swab samples. **Veterinary Parasitology**, v.170, n.3-4, p.201-206, 2010.

LENNON, E.M.; HANEL, R.M.; WALKER, J.M.; VADEN, S.L. Hypercoagulability in dogs with protein – losing nephropathy as assessed by thromboelastography. **Journal Veterinary Internal Medicine**, v.27, p.462-468, 2013.

LIMA, I.D.; LIMA, A.L.M.; MENDES-AGUIAR, C.O.; COUTINHO, J.F.V.; WILSON, M.E.; PEARSON, R.D.; QUEIROZ, J.W.; JERONIMO, M.B. Changing demographics of visceral leishmaniasis in northeast Brazil: Lessons for the future. **Plos Neglected Tropical Diseases**, p.1-16, 2018.

LIMA, W.G.; MICHALICK, M.S.M.; MELO, M.N.; TAFURI, W.L.; TAFURI, W.L. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. **Acta tropica**, v. 92, p. 43-53, 2004.

LINDOSO, J.A.L.; GOTO, H. Leishmaniose visceral: situação atual e perspectivas futuras. **BEPA-Boletim Epidemiológico Paulista**, v. 3, n. 26, p. 7-11, 2006.

LOPES, E.G.P.; MAGALHÃES, D.F.; SILVA, J.A.; HADDAD, J.P.A.; MOREIRA, E.C. Distribuição temporal e espacial da leishmaniose visceral em humanos e cães em Belo Horizonte - MG, 1993-2007. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.62, n.5, p.1062-1071, 2010.

LIPOLDOVÁ, M.; DEMANT, M. Genetic susceptibility to infectious disease: lesson from mouse models of leishmaniasis. **Nature Reviews Genetics**, v.7, n.4, p.294-305, 2006.

MAHMOUD, M.Z. Assessment of visceral leishmaniasis consequences using ultrasound. **Open Journal of Radiology**, v.4, p.201-206, 2014.

MANCIANTI, F.; GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; PIERI, S. Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.82, n.4, p.566-567, 1988.

MARCONDES, M.; BIONDO, A.W.; GOMES, A.A.D.; SILVA, A.R.S.; VIEIRA, R.F.C.; CAMACHO, A.A.; QUINN, J.; CHANDRASHEKAR, R. Validation of a *Leishmania infantum* ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 175, n. 1, p. 15-19, 2011.

MARCONDES, M.; LIMA, V.M.; ARAÚJO, M.F.; HIRAMOTO, R.M.; TOLEZANO, J.E.; VIEIRA, R.F.; BIONDO, A.W. Longitudinal analysis of serological tests officially adopted by the Brazilian Ministry of Health for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in dogs vaccinated with Leishmune®. **Veterinary Parasitology**, v.197, n.3-4, p.649-52, 2013.

MARONEZI, M.C.; FELICIANO, M.A.R.; CRIVELLENTI, L.Z.; SIMÕES, AP.R.; BARTLEWSKI, P.M.; GILL, I.; CANOLA, J.C.C.; VICENTE, W.R.R. Acoustic radiation force impulse (ARFI) elastography of the spleen in healthy dogs of different ages. **Journal of Small Animal Practice**, v.56, n.6, p.393-397, 2015.

MATTOS Jr, D.G.; PINHEIRO, J.M.; MENEZES, R.C.; COSTA, D.A. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. **Arquivo Brasileiro de medicina Veterinária e Zootecnia**, v.56, n.1, p.119-122, 2004.

MAPA –MINISTÉRIO DE AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO, 2016. <https://www.sbmt.org.br/portal/wp-content/uploads/2016/09/nota-tecnica.pdf>

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.

MEDEIROS, C.M.O.; MELO, A.G.C.; LIMA, A.K.F.; SILVA, I.N.G.; OLIVEIRA, L.C.; SILVA, M.C. Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. **Ciência Animal**, v.18, n.1, p. 43-50, 2008.

MELCHIONDA, F.; VARANI, S.; CARFAGNINI, F.; BELOTTI, T.; DI MUCCIO, T.; TIGANI, R.; BERGAMASCHI, R.; PESSION, A. Spleen nodules: a potential hallmark of Visceral Leishmaniasis in young children. **BMC Infectious Diseases**, v.14, n.1, p.1-5, 2014.

MELO, M. B.; VEADO, J.C.C.; SILVA, E.F.; MOREIRA, S.M.; PASSOS, L.M.F. Renal arteries Dopplerfluxometry: normal systolic and diastolic flow velocities and resistive index values in the main renal arteries. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 4, p. 691-693, 2006.

MORROW, K.L.; SALMAN, M.D.; LAPPIN, M.R.; WRIGLEY, R. Comparison of the resistive index to clinical parameters in dogs with renal disease. **Veterinary Radiology Ultrasound**, v.37, n.3, p.193-199, 1996.

NABITY, M.B.; LEES, G.E.; BOGGESS, M.M.; YERRAMILLI, M.; OBARE, E.; YERRAMILLI, M. RAKITIN, A.; AGUIAR, J.; RELFORD, R. Symmetric Dimethylarginine assay validation, stability, and evaluation as a marker for the early detection of chronic kidney disease in dog. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v.29,n.4, p.1036-1044, 2015.

NAUCKE, T.J.; LORENTZ, S.; First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. **Parasites & Vectors**, n.67, p. 1-5, 2012.

NOLI, C.; SARIDOMICHELAKIS, M.N. Na update on the diagnosis and treatment of canine leishmaniosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). **The Veterinary Journal**, v.202, n.3, p.425-435, 2014.

NOVELLAS, R.; ESPADA, Y.; GOPEGUI, R.R. Doppler ultrasonographic estimation of renal and ocular resistive and pulsatility indices in normal dogs and cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.48, n.1, p.69-73, 2007.

NYLAND, T.G.; WIDMER, W.R.; MATTON, J.S. Urinary Tract. In: MATTON, J.S.; NYLAND, T.G. **Small Animal Diagnostic Ultrasound**. 3 ed. St.Louis: Elsevier Saunders, 2015, p.557-601.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE: LEISHMANIOSES: Informe Epidemiológico nas Américas: Washington: Organização Pan-Americana da Saúde; 2019. Disponível em: www.paho.org/leishmaniasis

OLIVEIRA, H.S. **Avaliação renal e esplênica por meio da ultrassonografia modo –B e Doppler em cães naturalmente infectados por leishmaniose visceral**. 2018. 58f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2018.

OPHIR, J.; GARRA, B.; KALLEL, F.; KONOFAGOU, E.; KROUSKOP, T.; RIGHETTI, R.; VARGHESE, T. Elastographic imaging. **Ultrasound in Medicine and Biology**, v.26, p.23-29, 2000.

OZTURK, A.; GRAJO, J.R.; DHYANI, M.; ANTHONY, B.W.; SAMIR, A.E. Principles of ultrasound elastography. **Abdominal Radiology**, v.43, n.4, p.773-785, 2018.

PALTRINIERI, S.; GRADONI, L.; ROURA, X.; ZATELLI, A.; ZINI, E. Laboratory tests for diagnosing and monitoring canine leishmaniasis. **Veterinary Clinical Pathology**, v.45, n.4, p.552-578, 2016.

PASA, S.; BAYRAMLI, G.; ATASOY, A.; KARUL, A.; ERTUG, A.; OZENSOY TOZ, S. Evaluation of sérum cystatin C in dogs with visceral leishmaniasis. **Veterinary Research Communications**, v.33, n.6, p.529-534, 2009.

PENNINCK, D.; D'ANJOU, M.A. Rins e ureteres. In: D'ANJOU, M.A. **Atlas de ultrassonografia de pequenos animais**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2011, p.337-362.

PEREIRA, I.O.; SACRAMENTO, L.V.S.; MARQUES, M.J. Leishmanioses: "Estado da Arte". **Revista Vale do Rio Verde**, v.9, n.1, p. 220-238, 2011)

PIMENTEL, D.S.; ALBUQUERQUE, E.R.C.; FAUSTINO, M.A.G.; MAIS, F.C.L.; RAMOS, R.A.N.; ALVES, L.C. Alterações estruturais hepáticas e esplênicas em cães (*canis familiaris*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* (Cunha e Chagas, 1937). **Medicina Veterinária**, v.2, n.2, p.23-27, 2008.

RANGEL, O.; OLIVEIRA, S.S.; FRANÇA, A.C.; CIARAVOLO, R.M.; HENRIQUES, L.F. Leishmaniose visceral no estado de São Paulo: Tendência geral da letalidade entre 1999 a 2013 e o risco de óbitos por estratificação epidemiológica dos municípios e regionais da Vigilância Epidemiológica entre 2011 e 2013. **BEPA -Boletim Epidemiológico Paulista**, v.12, n.143, p.1-8, 2015.

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.

REIS, A.B.; MARTINS-FILHO, O.A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; CARVALHO, M.G.; MAYRINK, W.; FRANÇA-SILVA, J.C.; GIUNCHETTI, R.C.; GENARO, O., CORRÊA-OLIVEIRA, R. Parasite density and impaired biochemical / hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**, v. 81, n. 1, p. 68-75, 2006.

RIBEIRO, R.R.; DA SILVA, S.M.; FULGÊNCIO, G.O.; MICHALINCK, M.S.M.; FRÉZARD, F.J.G. Relationship between clinical and pathological signs and severity of canine leishmaniasis. **Revista Brasileira de Patologia**, v.22, n.3, p. 373-378, 2013.

RIGO, R.S.; CARVALHO, C.M.E.; HONER, M.R.; ANDRADE, G.B.; SILVA, I.S.; RIGO, L.; FIGUEIREDO, H.R.; BARRETO, W.T.G. Renal histopathological findings in dogs with visceral leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.55, n.2, p.113-116, 2013.

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

ROSS, R. Further notes on Leishman's bodies. **British Medical Journal**, v.2, n.2239, p.1401, 1903.

SALZO, P.S. Aspectos dermatológicos da leishmaniose canina. **Nosso clínico**, São Paulo, ano 11, n.63, p.30-34, 2008.

SANTOS, J.M.L.; DANTAS-TORRES, F.; MATTOS, M.R.F.; LINO F.R.L.; ANDRADE, L.S.S.; SOUZA R.C.A.; BRITO, F.L.C.; BRITO, M.E.F.; BRANDÃO-FILHO, S.P.; SIMÕES-MATTOS, L. Prevalência de anticorpos antileishmania spp em cães de Garanhuns Agreste de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.43, n.1, p.41-45, 2010.

SANTOS, J.P.; ALVES, L.C.; RAMOS, R.A.N.; PIMENTEL, D.S.; CARVALHO, G.A.; MONTEIRO, M.F.M.; FAUSTINO, M.A. Histological changes and immunolabeling of *Leishmania infantum* in kidneys and urinary bladder of dogs. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.22, n.3, p.420-423, 2013.

SILVA, F. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v.1, n.1, p.20-31, 2007.

SILVA, A.R.S. **Leishmaniose Visceral Canina: Estudo imagiológico em cães naturalmente infectados**. 2014. 128f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2014.

SILVA, V.C.; MAMPRIM, M.J.; VULCANO, L.C. Ultra-sonografia no diagnóstico das doenças renais em pequenos animais. **Veterinária e Zootecnia**, v.15, n.3, p.435-444, 2008.

SILVEIRA, F.T.; CORBETT, C.E.P. *Leishmania chagasi* Cunha & Chagas, 1937: nativa ou introduzida? Uma breve revisão. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.1, n.2, p.143-147, 2010.

SON, C.Y.; KIM, SU.; HAN, W.K.; CHOI, G.H.; PARK, H.; YANG, S.C. Normal liver elasticity values using acoustic radiation force impulse imaging: A

prospective study in healthy living liver and kidney donors. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v.27, p.130-136, 2011.

SUNDAR, S.; RAI. Laboratory diagnosis of Visceral Leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.5, p.951-958, 2002.

SUNDAR, S. Drug resistance in Indian visceral leishmaniasis. **Tropical Medicine & International Health**, v.6, p.849-854, 2001.

SVS/ MS 2017 Ministério da Saúde <http://saude.gov.br/saude-de-a-z/leishmaniose-visceral>

SVS 2009 – Fórum de discussão sobre o tratamento da Leishmaniose Canina. Brasília DF -01-02/10/2019. https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_docman&view=download&category_slug=leishmaniose-visceral-canina-118&alias=319-ii-forum-discussao-sobre-o-tratamento-da-leishmaniose-visceral-canina-lvc-9&Itemid=965

SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VOROS, K. Normal duplex Doppler waveforms of major abdominal blood vessels in dogs: a review. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.42, n.2, p.93-107, 2001.

TAFURI, W.L.; DE OLIVEIRA, M.R.; MELO, M.N.; TAFURI, W.L.; Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological Picture o fone case report from Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.96, p. 203-212, 2001.

TASCA, K. I.; BUZETTI, W. A. S.; TENORIO, M. S.; PAULAN, S. C.; LIMA, F. L.; QUEIROZ, N. M. G. P.; MACHADO, R. Z.; OLIVEIRA, T. M. F. S.; NEVES, M.F.; NORONHA JR, A. C. F.; ASSIS, J. Parasitological immunohistochemical and histopathological study for *Leishmania chagasi* detection in spleen tissues of dogs with visceral leishmaniasis. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.18, n.1, p.27-33, 2009.

TEIXEIRA, M.C.; STOBBE, N.S.; SCHMIDT, V.; LIMA, V.M.F.; TARTAROTTI, A.L.; RAMOS, R.R.; ARAÚJO, F.A.P. Soroepidemiologia de *Leishmania infantum* em cães de uma área com ocorrência de casos no município de Porto Alegre, Rio Grande do Sul. **Semina: Ciências Agrárias**, v.37, n.6, p.4077-4084, 2016.

TERRAZZANO, G.; CORTESE, L., PIANTEDOSI, D.; ZAPPACOSTA, S.; DI LORIA, A.; SANTORO, D.; RUGGIERO, G.; CIARAMELLA, P. Presence of anti-platelet IgM and IgG antibodies in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.110, p.331-337, 2006.

TORRENT, E.; LEIVA, M.; SEGALES, J.; FRANCH, J.; PENA, T.; CABRERA, B.; PASTOR, J. Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v.46, p. 549-552, 2005.

PENNINCK, D.; D'ANJOU, M.A. Rins e ureteres. In: D'ANJOU, M.A. **Atlas de ultrassonografia de pequenos animais**. 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2011, p.337-362.

VIDES, J.P.; GOMES, A.A.D.; SOBRINHO, L.S.V.; MARCONDES, M. Clinical aspects from dogs naturally infected with visceral leishmaniasis in Araçatuba - São Paulo State (Brazil). **Pesquisa Veterinária Brasileira**, 29 (Supl.), 2009.
VOLPINI, A. C.; PASSOS, V. M. A.; OLIVEIRA, G. C.; ROMANHA, A. J. PCR-RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing merican cutaneous leishmaniasis, **Acta Tropica**, Amsterdam, v. 90, n. 1, p. 31-37, 2004.

VON-HENDY- WILLSON, V.E.; PRESSLER, B.M. An overview of glomerular filtration rate testing in dogs and cats. **The Veterinary Journal**, v.188, p.156-165, 2011.

WERNECK,G.L. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v. 26, n.4, p.644-645, 2010.

WERNECK, G.L. Controle da leishmaniose visceral no Brasil: o fim de um ciclo? **Caderno de Saúde Pública**, v.32, n.6, 2016.

WERNECK, G.L. Visceral leishmaniasis in Brazil: Rationale and concerns related to reservoir control. *Rev Saude Publica*, v.48, n.5, p.851-856, 2014.

WHITE, J. GAY, J.; FARNSWORTH, R.; MICKAS, M.; KIM, K.; MATOON, J. Ultrasound elastography of the liver, spleen, and kidneys in clinically normal cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v.55, n.4, p.428-434, 2013.

WORLD HEALTH ORGANIZATION/ PAN AMERICAN HEALTH ORGANIZATION. Leishmaniasis: Epidemiological Report in the Americas. Washington, USA. 2018. Available at: www.paho.org/leishmaniasis.

YING, L.; HOU, Y.; ZHENG, H.; LIN, X.; XIE, Z.; HU, Y. Real-time elastography for the differentiation of benign and malignant superficial lymph nodes: a meta-analysis. **European Journal of Radiology**, v.81, p.2576-2584, 2012.

ZATELLI, A.; BORGARELLI, M.; SANTILLI, R.; BONFANTI, U.; NIGRISOLI, E.; ZANATTA, R.; TARDUCCI, A.; GUARRACI, A. Glomerular lesions in dogs infected with *Leishmania* organisms. **American Journal of Veterinary Research**, v.64, n.5, p.558-561, 2003.

Anexo

ATESTADO

Atesto que o Projeto "Leishmaniose canina: aspectos ultrassonográficos e por ressonância magnética" **Protocolo CEUA 0062/2017** , a ser conduzido por Shayra Peruch Bonatelli, responsável/orientador Maria Jaqueline Mamprim, para fins de pesquisa científica/ensino - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 08 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA.

Finalidade	PESQUISA CIENTÍFICA
Vigência do projeto	02/05/2017 a 30/11/2017
Nome Comum / Espécie / Linhagem	CANINA / CANIS LUPUS FAMILIARIS /
Raça	Diversas
Nº de animais machos	25
Nº de animais fêmeas	25
Nº de animais sexo indefinido	0
Peso médio de animais machos	15
Peso médio de animais fêmeas	15
Peso médio de animais sexo indefinido	0
Idade	5 ano(s) e 0 mes(es) e 0 dia(s).
Procedência	Centro de Controle de Zoonoses de Bauru

Projeto de Pesquisa aprovado em reunião da CEUA em 13/04/2017



PROFª. ASS. DRª. IBIARA CORREIA DE LIMA ALMEIDA PAZ
Presidente da CEUA da FMVZ, UNESP - Campus de Botucatu

