

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO HEPÁTICA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: ASPECTOS ULTRASSONOGRÁFICOS
MODO B E DOPPLER

HUGO SALVADOR OLIVEIRA

Botucatu – SP
Fevereiro 2015

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JULIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA

AVALIAÇÃO HEPÁTICA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR
LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: ASPECTOS ULTRASSONOGRÁFICOS
MODO B E DOPPLER

HUGO SALVADOR OLIVEIRA

Dissertação apresentada 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 Mestre.

Orientadora: Prof.^a. Dr.^a. Maria Jaqueline Mamprim

Botucatu – SP
Fevereiro 2015

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

Oliveira, Hugo Salvador.

Avaliação hepática de cães naturalmente infectados por leishmaniose visceral canina : aspectos ultrassonográficos modo B e Doppler / Hugo Salvador Oliveira. - Botucatu, 2015

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

Orientador: Maria Jaqueline Mamprim

Capes: 50501038

1. Cão - Doenças. 2. Fígado - Doenças. 3. Leishmaniose visceral. 4. Doppler, Ultrassonografia. 5. Ultrassom.

Palavras-chave: Hepatopatia; Leishmania; Ultrassom.

Hugo Salvador Oliveira

Título: AVALIAÇÃO HEPÁTICA DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS
POR LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA: ASPECTOS
ULTRASSONOGRÁFICOS MODO B E DOPPLER

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a Maria Jaqueline Mamprim

Presidente e Orientadora

Departamento de Reprodução Animal e Radiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof.^a Dr.^a Sheila Canevese Rahal

Membro

Departamento de Cirurgia e Anestesiologia Veterinária

FMVZ – UNESP – Botucatu

Prof.^a. Dr.^a. Raquel Sartor Marcelino

Membro

Centro Paula Souza

Faculdade de Tecnologia de Botucatu - FATEC

Data da Defesa: 25 de Fevereiro de 2015

À minha família e amigos

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Sálvio Souza Oliveira e Suzi Helena Salvador Oliveira, por me proporcionarem um alicerce fundamental para a minha vida, sendo um exemplo de caráter e de amor incondicional, sem eles com certeza isto não seria possível.

Ao meu irmão Bruno Salvador Oliveira e minha cunhada Regiane Niehues Pesenti, pela força, ajuda e mantendo-se próximo sempre que precisei. Agora mais do que irmão e cunhada e sim também “Compadres”.

Aos meus sogros, pela ajuda, carinho e por terem permitido “furar” sua filha querida e trazer nessa nova jornada. E também minha cunhada e concunhado pela alegria e cuidado e que também se tornaram nossos “Compadres”.

A todos os familiares que desde a faculdade participam desta minha jornada.

A Thayana Cristina Rebello Wanginiak, simplesmente a pessoa que acreditou e mudou seus planos e metas e embarcou rumo ao desconhecido, sem nem perguntar como ou porquê, simplesmente me acompanhou. E agora compartilhamos de um amor maior, amor este que desconhecíamos, mas víamos ele em nossos pais, amor que só cresce e que fortalece ainda mais nossa relação, Vicente, que chegou durante o mestrado, muito bem vindo e que fez com que tudo fizesse mais sentido.

A orientadora Maria Jaqueline Mamprim, que desde o meu estágio me “adotou”, fez com que a minha jornada em Botucatu fosse mais simples e tranquila, por sempre acreditar em mim e confiar nas minhas capacidades de realizar este trabalho. Pelos ensinamentos imaginológicos e humanos que levarei para toda a vida.

A Prof.^a. Dr^a Sheila Canevese Rahal, pelos ensinamentos, trabalhos e compreensão que sempre me fizeram acreditar ainda mais em mim.

A Prof^a Dr^a Raquel Sartor Marcelino, que desde seu experimento na radiologia já transbordava conhecimento e sempre disposta a ensinar e compartilhar.

Ao Centro de Controle e Zoonoses de Bauru, por proporcionarem um lugar e material necessário na realização deste projeto.

Ao Prof. Dr^a Alexandre Redson Soares da Silva, pelo companheirismo, auxílio nos conhecimentos, histórias e companheiro de “labuta”.

Aos professores Dr. Bruno Cogliati, pelo auxílio e análise nas amostras histopatológicas e ao Dr. Carlos Roberto Padovani pela análise estatística.

Aos Residentes, funcionários e amigos da Radiologia, pela convivência, compreensão, alegrias e ensinamentos e muita amizade, aos que passaram, que estão em todos esses anos de trabalho.

Aos amigos do hospital veterinário da UNESP, de todos os departamentos, que sempre proporcionaram uma amizade verdadeira.

Aos amigos do Hospital Veterinário Botucatu, colegas de profissão e funcionários, fornecendo um ambiente amigo e de amplo conhecimento, desde profissionais a fabricação de cervejas.

Ao VECAF, que se tornaram essenciais nas horas de lazer, se tornando o futebol obrigatório da semana, dando boas risadas e perdendo alguns quilos ... #sqn.

A FAPESP pelo auxílio financeiro para a realização do projeto.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Resultados dos testes sorológicos de ELISA e TR-DPP®, e parasitológico direto em amostras biológicas de 46 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral.27

Figura 2: Imagens ultrassonográficas do fígado de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral canina demonstrando em A – ecogenicidade diminuída com evidenciação das paredes dos vasos portais; B – congestão hepática; C – correlação entre a ecogenicidade do parênquima hepático e a cortical renal. (FONTE: Arquivo pessoal).....32

Figura 3: Imagens ultrassonográficas tríplex Doppler do fígado de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral canina demonstrando em A - pico da artéria hepática; B - fluxo da veia porta; C - característica espectral trifásica da veia hepática; D - característica espectral monofásica da veia hepática. (FONTE: Arquivo pessoal).32

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de inflamação crônica nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	28
Tabela 2: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de Edema Intracelular nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	28
Tabela 3: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de congestão hepática nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	29
Tabela 4: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de Degeneração Gordurosa nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	29
Tabela 5: Distribuição da ecogenicidade do parênquima hepático nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	30
Tabela 6: Distribuição do tamanho hepático nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	30
Tabela 7: Distribuição da caracterização do tipo de espectro da veia hepática nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	31
Tabela 8: Medidas descritivas das variáveis quantitativas nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	31
Tabela 9: Medida de associação linear de Pearson entre as variáveis quantitativas nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.	33

Sumário

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
CAPITULO 1	12
INTRODUÇÃO	12
REVISÃO DA LITERATURA	14
Leishmaniose	14
Fígado	17
Ultrassom	18
Capítulo 2	21
Trabalho Científico	21
Capitulo 3.....	39
Discussão Geral	39
Conclusão	41
REFERÊNCIAS	42

OLIVEIRA, H.S. **Avaliação hepática de cães naturalmente infectados por Leishmaniose Visceral Canina: Aspectos ultrassonográficos modo B e Doppler.** Botucatu, 2014. Dissertação – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo descrever as imagens ultrassonográficas realizadas pelo modo B, dopplerfluxometria dos vasos hepáticos, juntamente com o perfil bioquímico e a análise histopatológica do fígado de cães naturalmente acometidos pela Leishmaniose visceral canina. Foram avaliados 46 cães, naturalmente infectados, com diagnóstico sorológico ou parasitológico positivo para *Leishmania* spp., oriundos do município de Bauru, São Paulo. Como resultado do exame histopatológico apresentou característica processo inflamatório crônico presente em todos os animais. No ultrassom ecogenicidade do fígado diminuída em 56,5% dos casos e característica espectral das veias hepáticas alterada em 73,9% dos animais. Nos valores quantitativos a velocidade media da veia porta foi de 22,06cm/s, do pico sistólico da artéria hepática foi de 76,8cm/s e o índice de resistividade da artéria hepática 0,65 demonstrando uma correlação positiva entre as duas variáveis. O perfil bioquímico do fígado se mostrou inconclusivo, pois não demonstrou valores relevantes, mesmo os animais com alterações significativas nos exames de ultrassom e histopatológico. Não foram caracterizadas lesões específicas para a leishmaniose visceral canina, porém pode-se confirmar o curso crônico da doença, e que o ultrassom, principalmente o modo Doppler, tem se mostrado precoce na detecção de alterações hepáticas em cães.

Palavras chave: Ultrassom, *Leishmania*, hepatite.

OLIVEIRA, H.S. **Hepatic evaluation in dogs naturally infected by Canine Visceral Leishmaniasis: B-Mode and Doppler Ultrasound aspects.** Botucatu, 2014. Dissertation - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista.

ABSTRACT

This study aimed to describe the ultrasound images performed by B mode, dopplerfluxometry of the hepatic vessels, along with the biochemical profile and histopathological analysis of liver dogs naturally affected by canine visceral leishmaniasis. Have been assessed 46 dogs naturally infected with serologic diagnosis or positive for *Leishmania* parasites spp., Originating from the city of Bauru, São Paulo. As a result of the histopathological examination revealed characteristic of chronic inflammation in all animals. At ultrasound echogenicity of the liver lowered in 56.5% of cases and spectral characteristic of hepatic veins altered in 73.9% of the animals. Values for quantitative the average velocity of the portal vein was 22,06cm/s, the systolic peak of the hepatic artery was 76,8cm/s resistivity index of 0.65 hepatic artery showing a positive correlation between two variables. The biochemical liver profile showed inconclusive because it did not demonstrated relevant values, even the animals for significant changes in ultrasound and histological examination. Nonspecific lesions of canine visceral leishmaniasis were characterized but can be confirmed the chronic disease, and that ultrasound, especially the Doppler mode, has proven premature in detecting liver abnormalities in dogs.

Key words: Ultrasound, *Leishmania*, hepatitis

CAPITULO 1

INTRODUÇÃO

Leishmania são parasitas protozoários de grande importância médica e veterinária (DANTAS-TORRES e BRANDAO-FILHO, 2006). As leishmanioses são representadas por um grupo de enfermidades com caráter zoonótico, de distribuição mundial, que acometem os seres humanos e uma variedade de animais domésticos e selvagens, com diferentes apresentações clínicas de acordo com a espécie de *Leishmania* envolvida e resposta imune do hospedeiro (BANETH, 2006).

A doença é endêmica em 88 países, sendo 66 no Velho Mundo e 22 no Novo Mundo. Aproximadamente 12 milhões de pessoas estão infectadas com leishmaniose e cerca de 350 milhões de pessoas estão em risco de adquirir a doença. A incidência anual de 1 a 1,5 milhão de novos casos de doença cutânea e 500.000 novos casos da forma visceral, a qual é potencialmente fatal. Com base em estudos de soroprevalência da Espanha, França, Itália e Portugal, estima-se que 2,5 milhões de cães nestes países estão infectados com leishmania visceral. O número de cães infectados na América do Sul, também é estimado na casa dos milhões, com altas taxas de infecção que está sendo relatado em algumas áreas do Brasil (BANETH, 2006).

Devido à variedade de sintomas da doença, o diagnóstico clínico da leishmaniose visceral canina (LVC) é difícil, sendo que os achados clínicos não são característicos da doença, podendo-se aventar diversas outras enfermidades (FEITOSA *et al.*, 2000; MARCONDES, 2010; MARCONDES *et al.*, 2011).

Na LVC o envolvimento hepático é muito comum, com lesões microscópicas presente na maioria das amostras avaliadas. A infecção granulomatosa não somente infiltra nas células de Kupffer, mas também nos hepatócitos. Na infecção crônica, com gravidade variável pode ser inicialmente restrita a sinusoides, podendo se expandir envolvendo área portal, cápsula, ou tornarem áreas difusas em cães resistentes. Granulomas hepáticos em cães

acometidos com LVC não são bem organizados (FERRER, 2002; CIARAMELLA E CORONA, 2003; RALLIS *et al.*, 2005).

O exame ultrassonográfico é um método de imagem amplamente utilizado na avaliação hepática em medicina veterinária, pois fornece informações valiosas ao clínico, de forma a influenciar a conduta do caso. Em cães, estudos e relatos são descritos utilizando a técnica de ultrassonografia modo B nos casos de lesões focais, difusas, em ductos biliares, dimensões do órgão e seus limites (MATTOON e NYLAND, 2002; FEENEY *et al.*, 2008).

É descrito que a associação das modalidades de Doppler colorido e espectral com o exame Modo-B aumenta a especificidade e a sensibilidade do diagnóstico ultrassonográfico das alterações hepáticas, pois esses permitem a avaliação da hemodinâmica hepática (MACHADO *et al.*, 2004).

Diante do importante fator zoonótico da LVC e da escassa literatura envolvendo a ultrassonografia hepática dos cães com esta doença, pretende-se, descrever os achados ultrassonográficos modo B e Doppler do fígado destes animais naturalmente infectados pela LVC.

REVISÃO DA LITERATURA

Leishmaniose

Leishmaniose é uma doença transmitida por um vetor, causada por protozoários e endêmica em grandes áreas dos trópicos, sub trópicos e bacia do mediterrâneo. Leishmaniose consiste em quatro principais síndromes clínicas: Leishmaniose cutânea; Leishmaniose muco-cutânea; Leishmaniose visceral (também conhecida como Calazar) e Leishmaniose Tegumentar (PKDL) (CHAPPUIS *et al.*, 2007).

A *Leishmania donovani* é o agente etiológico encontrado na África e Ásia; a *Leishmania infantum* na Ásia, Europa e África e a *Leishmania chagasi* nas Américas. Muitos pesquisadores entram em divergência, devido às semelhanças estruturais que foram verificadas por meio de novos estudos moleculares, os que sugerem a *Leishmania chagasi* e a *Leishmania infantum* da mesma espécie, permitindo a denominação *Leishmania (L.) infantum chagasi* para o agente etiológico desta enfermidade (SHAW, 2006).

Leishmaniose Visceral (LV) pode ser representada como uma das maiores endemias parasitárias e de maior importância em termos de saúde pública no mundo, devido a sua grande distribuição, principalmente no continente americano, mais especificamente da região do México à Argentina, ocupando assim as Américas Central e Latina (LAINSON *et al.*, 1987).

A LV é fatal quando não tratada, caracterizada por picos de febre irregular, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia e anemia. Um grande fator de risco para a infecção é a falta de saneamento básico, higiene e desnutrição. Nestes locais ocorre maior proliferação do flebótomo, ocasionando assim maior manifestação da doença. Outros fatores de risco incluem a mobilidade da população, com a migração de pessoas não imunes em áreas de ciclos de transmissão existente. Desmatamento é também um fator importante, devido à ocupação populacional em locais de maior prevalência de flebótomos (WHO, 2014).

Durante 19 anos de notificação (1984 – 2002), ocorreram 48.455 casos de LV, dentre esses, a maioria ocorreu nas regiões Norte e Nordeste do país. Nos últimos 10 anos da pesquisa a média anual foi de 3.156 casos. A

doença acomete pessoas imunodeficientes, como crianças menores de 10 anos de idade e idosos. Adultos são infectados, porém podem não apresentar sintomatologia clínica (BRASIL, 2006). O impacto da Leishmaniose foi extremamente subestimado nos últimos 10 anos e as regiões endêmicas foram se espalhando, e de forma vertiginosa a quantidade de pessoas infectadas. Tudo isso sem levar em consideração o grande número de casos não registrados. A falta de notificação se dá porque somente em 32 países trata-se de uma enfermidade de notificação obrigatória. Os números dessa doença são cada vez mais alarmantes, chegando a dois milhões de novos casos (1,5 milhão de leishmaniose cutânea e 500.000 de LV) anualmente, com cerca de 12 milhões de pessoas infectadas atualmente (WHO, 2014).

Aproximadamente 500.000 casos, com 50.000 mortes por ano. Estes números são superados apenas pela malária, porém são números estimativos, pois muitos casos não são reportados ou não são reconhecidos devido a grande diversidade de sinais clínicos (DESJEUX, 2004). Concomitantemente ao aumento do número de letalidade e de mortalidade, a LV vem apresentando grande expansão geográfica, principalmente nas regiões norte, nordeste e sudeste do país (BRASIL, 2006).

LV tem sua importância na possibilidade de assumir formas graves e letais, principalmente quando associados aos quadros de má nutrição e infecções concomitantes. Com a expansão e urbanização da LV em todo o mundo, outro aspecto a ser levado em consideração é a probabilidade de adquirir a doença através da transfusão sanguínea, pois o diagnóstico sorológico para LV não está incluído na triagem dos doadores no Brasil (LAURENTI, 2010).

Os canídeos são considerados os principais reservatórios da doença e assim possuem papel importante na epidemiologia. Esses animais apresentam grande infestação parasitária de formas amastigotas na pele, fato que facilita a contaminação dos vetores, contribuindo assim para a permanência e crescimento da doença em locais endêmicos. Flebótomos se adaptam facilmente ao ambiente humano tornando os cães fonte constante de alimentação (DANTAS-TORRES, 2007; WHO, 2014).

No cão a LV tem uma evolução lenta, podendo apresentar os sinais clínicos de três a sete meses após a infecção (Baneth, 2006). As

manifestações clínicas estão intimamente ligadas ao tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado. Classicamente a LV apresenta lesões cutâneas, principalmente a descamação e eczema, ocorrendo em maior frequência no espelho nasal e orelhas, apresentando também pequenas úlceras rasas localizadas no focinho, orelhas, articulações e cauda. Nas fases mais tardias da doença é comum observar onicogrifose, esplenomegalia, linfadenopatia, alopecia, apatia, úlceras mais graves, ceratoconjuntivite, diarreia e hiperqueratose (FEITOSA *et al.*, 2000; BANETH, 2006; BRASIL, 2006).

A prevalência da infecção canina em áreas endêmicas pode ser superior a 50%, enquanto somente cerca de três a 10% desses desenvolvem quadro clínico. Portanto, a maioria dos animais infectados não apresentam sintomas. Aliado a este fato, a sintomatologia clínica inespecífica e variável que esses animais apresentam, pode ser facilmente confundida com infecções virais ou bacterianas quando não se tem acesso aos exames específicos (BANETH, 2006; CHANDRASHEKAR, 2010).

O diagnóstico laboratorial é semelhante ao realizado em humanos, o exame parasitológico é o padrão ouro, pois se baseia em detectar o parasita por meio de punções de material biológico do fígado, linfonodos, baço, medula óssea e menos comum a biopsia de pele. As provas sorológicas como a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA), que expressam a quantidade de anticorpos circulantes, são mais utilizadas em inquéritos de saúde pública (FEITOSA *et al.*, 2000; BRASIL, 2006). Essas duas técnicas são recomendadas pelo Ministério da Saúde para avaliação de soroprevalência e inquéritos caninos, sendo realizados por laboratórios centrais estaduais ou centro de controle de zoonoses (CCZs) (BRASIL, 2006; ZANETTE, 2006).

Uma ocorrência comum nos casos de LV é a inflamação granulomatosa, que se caracteriza pela infiltração e/ou proliferação de macrófagos, linfócitos, histiócitos, acometendo principalmente linfonodos, baço e fígado. Quando se instala em órgãos linfoides há proliferação de linfócitos B, plasmócitos, histiócitos, resultando em linfadenomegalia generalizada e hepatoesplenomegalia (FERRER, 2002; NEVES, 2002).

Na LVC o envolvimento hepático é muito comum, com lesões microscópicas presente na maioria das amostras avaliadas. A infecção granulomatosa não somente infiltra nas células de Kupffer, mas também nos hepatócitos. Na infecção crônica, com gravidade variável, pode ser inicialmente restrita a sinusoides, e posteriormente se expandir e envolver a área portal capsula, ou tornar-se áreas difusas em cães resistentes. Granulomas hepáticos em cães acometidos com LVC não são bem caracterizados e com descrição escassa (FERRER, 2002; CIARAMELLA e CORONA, 2003; RALLIS *et al.*, 2005).

Lesões hepáticas são relatadas principalmente em estudos experimentais com roedores, em casos humanos (RIÇA-CAPELA *et al.*, 2003). Essa doença tem sido pouco caracterizada quando de ocorrência de infecção natural em cães. Exames histopatológicos descrevem necrose hepática multifocal, degeneração vacuolar e infiltração por macrófagos parasitados (MOLANO *et al.*, 2003).

Fígado

A maior glândula do corpo, o fígado é responsável por um papel homeostático na regulação de processos biológicos, metabolização de proteínas, lipídios, carboidratos, possuindo também funções imunológica, de armazenamento, desintoxicação e excreção. Estima-se que este órgão realize pelo menos 1500 funções bioquímicas essenciais para manutenção da vida do animal. Nos cães o fígado é dividido em seis lobos: lobo quadrado, medial direito e esquerdo, lateral direito e esquerdo e lobo caudato. A porta hepatis representa a fissura transversal na superfície ventral do fígado, onde a veia porta, artéria hepática, ducto biliar principal e vasos linfáticos entram e saem do fígado (MATHEWS e BUNCH, 2005).

Os hepatócitos são células multifuncionais, que se agrupam em placas dispostos radialmente e constituindo assim o componente morfológico do fígado, denominado lobo hepático. A vascularização destes lobos e de todo fígado é diferente dos demais órgãos, os capilares hepáticos estão dispostos entre os hepatócitos, e em cada canto do hepatócito encontra-se uma vênula, uma arteríola, um ducto biliar e um vaso linfático. Além do fluxo arterial para a

irrigação do órgão, o fígado ganha grande quantidade de fluxo venoso (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 2004).

O sistema duplo de irrigação hepática é composto pelas artérias hepáticas e pelo sistema portal, onde a maior parte do sangue que chega ao fígado é conduzida pela veia porta entrando pelo hilo hepático, carreando sangue venoso oriundo do baço, pâncreas e intestinos, enquanto que o sangue arterial é carreado pela artéria hepática e nutre o próprio parênquima hepático. O sistema portal se inicia nos capilares das vísceras abdominais chegando ao fígado, onde a veia porta acaba se dividindo (*porta hepatis*) em um ramo direito menor e em um ramo esquerdo, maior, o lado esquerdo ocupa maior parte do fígado (MATHEWS e BUNCH, 2005; EVANS e De LAHUNTA, 2013).

Ultrassom

O exame ultrassonográfico é um método de imagem muito utilizado, por não ser invasivo e de fácil aplicação. Quando empregado para avaliar o fígado, é capaz de fornecer informações essenciais que auxiliarão na escolha de condutas para tratamento de doenças neste órgão. Na medicina veterinária, mais especificamente nos cães, muitos estudos e relatos são descritos utilizando a técnica de ultrassonografia modo B nos casos de lesões focais, difusas, em ductos biliares, dimensões do órgão e seus limites (NYLAND e MATTOON, 1995; LAMB, BURTON e CARLISLE, 1999; FEENEY *et al.*, 2008).

A ultrassonografia é considerada altamente eficiente em diagnosticar lesões dos diversos tipos, focais, multifocais e difusas, mesmo de pequenas dimensões podendo assim caracteriza-las pela correlação do sinal clínico ou exame sanguíneo complementar (FEENEY *et al.*, 2008).

Com a utilização da ultrassonografia pode-se avaliar o abdômen canino de forma ampla e não invasiva. Algumas indicações para a avaliação hepática incluem hepatomegalia, nódulos ou massas abdominais, icterícia, ascite dentre outros cuja clínica do paciente sugira alguma alteração hepática. O ultrassom também é muito utilizado nas biopsias ou citologias hepáticas bem como o monitoramento do paciente (MAMPRIM e CARVALHO, 2004).

Diferentes distúrbios acometem o fígado de cães e gatos, causando diferentes tipos de lesões que podem ser descritas e acompanhadas com a utilização do exame ultrassonográfico, diferenciando lesões focais, multifocais,

difusas. Concomitante deve-se avaliar sempre tamanho e contorno hepático, ecogenicidade e ecotextura (PENNINCK e D'ANJOU, 2013; MATTOON e NYLAND, 2015).

A avaliação do fígado de cães é mais complicada, quando comparada a dos humano. Outro problema são os gases do trato gastrointestinal, principalmente da porção ventral. Em cães menores a dificuldade aumenta, mas uma técnica bastante empregada e de adequada avaliação é a abordagem intercostal do lado direito do abdome, conseguindo uma janela ultrassonográfica de boa qualidade na avaliação do parênquima e da região *porta hepatis* (BRINKMAN-FERGUSON e BILLER, 2009; NYLAND, LARSON e MATTOON, 2015).

O tamanho do fígado, que é um dado muito importante em doenças hepáticas difusas, é analisado de forma subjetiva, avaliando sua profundidade, posição em relação ao arco-costal e posicionamento do estômago. Estes parâmetros auxiliam a classificação das dimensões do fígado em normal, aumentada ou diminuída (D'ANJOU *et al.*, 2004).

Para aumentar a especificidade e a sensibilidade do ultrassom no diagnóstico das alterações hepáticas, associou-se ao exame ultrassonográfico Modo-B as modalidades de Doppler colorido e espectral. Pode-se assim conseguir uma avaliação da hemodinâmica hepática e melhor diferenciação de estruturas, o que não era possível usando somente no modo convencional (MACHADO *et al.*, 2004).

Doppler é um efeito característico observado nas ondas, quando emitidas ou refletidas por um objeto que está em movimento em relação a um observador. No modo Doppler dos vasos sanguíneos o objeto parado é o transdutor e os refletores são as hemácias, as quais estão em movimento, gerando assim um eco de retorno com frequência diferente da emitida pelo transdutor, chamado assim de desvio Doppler. Se o fluxo sanguíneo move-se em direção ao transdutor a variação será positiva e se o fluxo se afasta a variação Doppler será negativa (SZATMÁRI, SÓTONYI e VÖRÖS, 2001; MATTOON e NYLAND, 2015).

Na avaliação Doppler se detecta a velocidade das hemácias se deslocando dentro do vaso sanguíneo, assim como a direção das mesmas, porém alguns cuidados devem ser tomados para que a velocidade aferida seja

máxima, ou seja, seu valor real, o qual ocorre quando a amostra avaliada está paralela ao feixe de ultrassom (MATTOON e NYLAND, 2002).

Para mensurar e avaliar os valores obtidos com a técnica Doppler, foi determinante a criação da técnica Doppler de onda pulsada ou Doppler espectral, onde é determinado um pequeno volume de amostra, obtendo assim uma curva de velocidade, demonstrada em forma de um gráfico, que fornece valores absolutos do volume da amostra estudada (MATTOON e NYLAND, 2002; ROSE e NELSON, 2004). Esta modalidade Doppler, possibilita analisar de forma quantitativa a velocidade do fluxo sanguíneo, assim como os índices de resistividade (IR) e de pulsatibilidade (IP) que determinam a impedância vascular periférica. É possível também obter uma análise qualitativa, como a presença ou ausência de fluxo, direção e aspecto do espectro do fluxo, com este último, pode-se determinar a condição de fluxo no vaso analisado (CARVALHO, 2004; NOVELLAS, De GOPEGUI e ESPADA, 2008).

CAPÍTULO 2

Trabalho Científico

**AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA HEPÁTICA DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL
CANINA**

Hugo Salvador Oliveira, DVM; Maria Jaqueline Mamprim, PhD. Alexandre
Redson Soares da Silva, PhD; Bruno Cogliati, PHD; Carlos Roberto Padovani, PHD;

Objetivo – Descrever os achados ultrassonográficos, Modo B e Doppler, do fígado de
cães naturalmente acometidos pela Leishmaniose visceral canina (LVC).

Estilo – Estudo Original

Procedimentos – Foram realizados exames ultrassonográficos do parênquima hepático,
avaliação hemodinâmica da veia porta (VP), veia hepática (VH) e artéria hepática (AH),
análise histopatológica e laboratorial (perfil bioquímico) em 46 cães, naturalmente
infectados por *Leishmania* spp., com diagnóstico sorológico ou parasitológico positivo.

Resultados – Dados qualitativos demonstraram processo inflamatório em todos os
parênquimas hepáticos, e o exame ultrassonográfico detectou que 56,5% dos animais
com diminuição da ecogenicidade hepática e 73,9% com alteração da característica
espectral da veia hepática. Quantitativamente obteve-se 22 cm/s como velocidade média
da veia porta e 0,65 foi índice de resistividade da artéria hepática. Como resultado do
perfil bioquímico foi observado hiperproteinemia, hipoalbuminemia e
hiperglobulinemia.

Conclusões e Relevância Clínica – A LVC é uma doença multissistêmica de curso
longo e de caráter zoonótico. O emprego do exame ultrassonográfico modo B e Doppler
podem demonstrar alterações do parênquima hepático, sugerindo o seu
comprometimento, mesmo antes de se observar a elevação dos níveis séricos das
enzimas hepáticas.

Palavras Chave – Ultrassom, *Leishmania*, hepatopatia, Doppler, hemodinâmica.

27 As leishmanioses são representadas por um grupo de enfermidades com caráter
28 zoonótico, de distribuição mundial, que acometem os seres humanos e uma variedade de
29 animais domésticos e selvagens, são causadas pela *Leishmania*, parasitas protozoários
30 de grande importância médica e veterinária ¹.

31 A doença tem diferentes apresentações clínicas, de acordo com a espécie de *Leishmania*
32 envolvida e a resposta imune do hospedeiro ². Devido à variedade de sintomas com
33 achados clínicos inespecíficos, o diagnóstico clínico da leishmaniose visceral canina é
34 difícil, podendo ser confundida com diversas outras enfermidades. ^{3,4}.

35 O envolvimento hepático na LVC é muito comum, sendo caracterizado por lesões
36 microscópicas presente na maioria das amostras avaliadas. A infecção granulomatosa
37 não somente infiltra nas células de Kupffer, mas também nos hepatócitos. Nos quadros
38 crônicos, com gravidade variável, pode estar restrito aos sinusoides, se expandir e
39 envolver a área portal, a cápsula, ou tornar – se uma infecção difusa em cães resistentes.
40 Granulomas hepáticos em cães acometidos com LVC não são bem caracterizados ⁵⁻⁷.

41 O exame ultrassonográfico é um método de imagem amplamente utilizado, por se tratar
42 de exame não invasivo, e quando realizado no parênquima hepático, fornece
43 informações essenciais na avaliação deste órgão. Em cães, diversos estudos e relatos são
44 descritos utilizando a técnica de ultrassonografia modo B na detecção de lesões focais e
45 difusas do parênquima, dimensões do órgão, seus limites e em ductos biliares, ⁸⁻¹¹.

46 Para aumentar a especificidade e a sensibilidade do ultrassom no diagnóstico das
47 alterações hepáticas, tem sido associado ao exame Modo-B as modalidades de Doppler
48 colorido e espectral, conseguindo assim uma avaliação da hemodinâmica hepática que
49 não era possível somente no modo convencional ¹¹.

50 Nos humanos, hepatite crônica é descrita pela presença marcante de células
51 mononucleares, necrose, infiltrado inflamatório misto com fibrose em diferentes graus,

52 aliado a presença de alterações bioquímicas e sem melhora num período de seis meses
53 ¹².

54 A proposta do presente estudo foi de realizar uma abordagem ultrassonográfica
55 completa do fígado, e correlacionar essas informações com as análises histopatológica e
56 do perfil bioquímico sérico.

57 **Materiais e Métodos**

58 Este estudo foi aprovado pela comissão de ética do uso de animais (CEUA) sob o
59 protocolo 92/2013-CEUA.

60 **Animais** - Foram utilizados 46 cães, naturalmente acometidos por leishmaniose
61 visceral, com idade superior a um ano, independente do sexo, raça, apresentando ou não
62 sinais clínicos. Todos os animais se encontraram no Centro de Controle de Zoonoses de
63 Bauru, São Paulo, Brasil. O diagnóstico de leishmaniose visceral foi confirmado pelo
64 exame citopatológico de linfonodos, bem como pela presença de anticorpos anti-
65 *Leishmania* spp., quando do emprego das técnicas de imunocromatografia e ELISA.

66 **Ultrassom** - Para realização do exame ultrassonográfico os animais foram contidos
67 apenas fisicamente, não sendo utilizada contenção química, para não influenciar nas
68 mensurações de fluxo dos vasos sanguíneos. Ao exame ultrassonográfico em Modo B
69 realizou-se a varredura total do órgão, observando contornos, dimensões e
70 características específicas como ecotextura e ecogenicidade do parênquima hepático. A
71 ecotextura do órgão foi classificada como homogênea, quando não se determinava
72 micro ou macronódulos no parênquima, e em heterogênea quando se determinava
73 padrões micro ou macronodulares dispersos no parênquima e o mesmo se mostrava de
74 forma grosseira na imagem ultrassonográfica. A ecogenicidade do parênquima hepático
75 foi classificada em normal, hipoeecogênica e hiperecogênica, sendo uma análise
76 subjetiva, na qual a ecogenicidade do fígado foi comparada ao parênquima esplênico e a

77 cortical renal do mesmo animal, com mesma profundidade de foco e ganho no aparelho
78 de ultrassom. Por fim o animal foi posicionado em decúbito lateral esquerdo e o
79 transdutor posicionado na porção lateral da parede abdominal direita, geralmente entre
80 os 9° e 11° espaços ou até a visibilização do ramo direito da veia porta, local de melhor
81 ângulo de insonação para avaliação Doppler dos vasos artéria hepática e ramos de veias
82 hepáticas. Obtém-se assim uma média da velocidade de fluxo da veia porta e pico
83 sistólico da artéria hepática, o índice de resistividade da artéria hepática e a
84 característica espectral das veias hepáticas, a qual foi classificada em monofásica,
85 bifásica e trifásica.

86 Para realização dos exames, foi utilizado aparelho ultrassonográfico da marca Esaote,
87 modelo Mylab Alpha7¹, com dois transdutores, sendo um convexo eletrônico
88 multifrequencial (Faixa de Frequência: 1-8 MHz e PW: 2.0 – 3.2 MHz) e outro linear
89 eletrônico multifrequencial (Faixa de Frequência: 4-13 MHz e PW: 3.6 – 8.3MHz). Para
90 documentação do trabalho, as imagens foram gravadas no aparelho de ultrassom e
91 posteriormente armazenadas em disco compacto.

92 **Colheita de sangue total**

93 A colheita de sangue total foi realizada após assepsia local, por flebocentese da veia
94 jugular. Após obter o soro da amostra, foram armazenados em ependorfes² e separados
95 em duas alíquotas, com o uso de pipetas automáticas³, e congeladas a - 20° C, até o
96 momento do seu processamento.

97 **Diagnóstico de *Leishmania spp.*** - O teste rápido para a detecção da LVC foi o teste
98 imunocromatográfico⁴ rápido, e o *kit* utilizado para a detecção de anticorpos contra
99 *Leishmania major like*, do de ELISA foi o EIE Leishmaniose Visceral Canina – Bio-

¹ Esaote Helthcare do Brasil., São Paulo, São Paulo.

² Tubo Eppendorf® 3810X standard – Eppendorf do Brasil – São Paulo, São Paulo, Brasil.

³ Micropipeta Monocanal VF-1000 – Digipet – Curitiba, Paraná, Brasil.

⁴ TR DPP® Leishmaniose Visceral Canina – Bio-Manguinhos – Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

100 Manguinhos⁵, depois foram realizados os exames citopatológicos dos linfonodos para a
101 pesquisa de formas amastigotas de *Leishmania* spp.

102 **Eutanásia**

103 Ao término do ultrassom e da colheita das amostras sanguíneas, os cães receberam uma
104 medicação pré-anestésica (MPA) com Acepromazina a 0,2%⁶ (0,055 miligrama por
105 quilo (mg/kg), via intravenosa (IV), seguida, de anestesia geral com Tiopental Sódico
106 1g⁷ (15 mg/kg/IV) para realização da eutanásia, o método empregado seguiu as
107 recomendações da Resolução nº. 1000, de 11 de maio de 2012, do Conselho Federal de
108 Medicina Veterinária (CFMV), que dispõe sobre procedimentos e métodos de eutanásia
109 em animais.

110 **Colheita do Material Histológico**

111 Os cães foram necropsiados, colhendo-se dois fragmentos aleatórios do fígado. Foram
112 fixados em formol tamponado a 10% por 24 horas, transferidos para álcool 70% e
113 processados pelas técnicas habituais para inclusão do tecido em parafina. Realizados
114 cortes histológicos e corados pela técnica de hematoxilina e eosina (HE), onde foram
115 avaliados aspectos morfológicos do tecido hepático, principalmente pelas alterações
116 degenerativas e inflamatórias. Sendo as lesões classificadas em: ausente, leve,
117 moderado e intenso.

118 **Estatística**

119 Os perfis de resposta das variáveis estudadas foram descritos por meio de estatísticas
120 descritivas, envolvendo medidas de tendência central (média e mediana) e variabilidade
121 (desvio padrão; amplitude total especificados pelos valores máximo e mínimo), quando

⁵ EIE® Leishmaniose Visceral Canina – Bio-Manguinhos – Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil.

⁶ Acepran® 0,2% – Vetnil – Louveira, São Paulo, Brasil.

⁷ Thiopentax® 1g – Cristália – Itapira, São Paulo, Brasil.

as variáveis foram numéricas quantitativas e por meio de distribuição de frequência (absoluta e relativa percentual) quando as variáveis foram categorizadas.

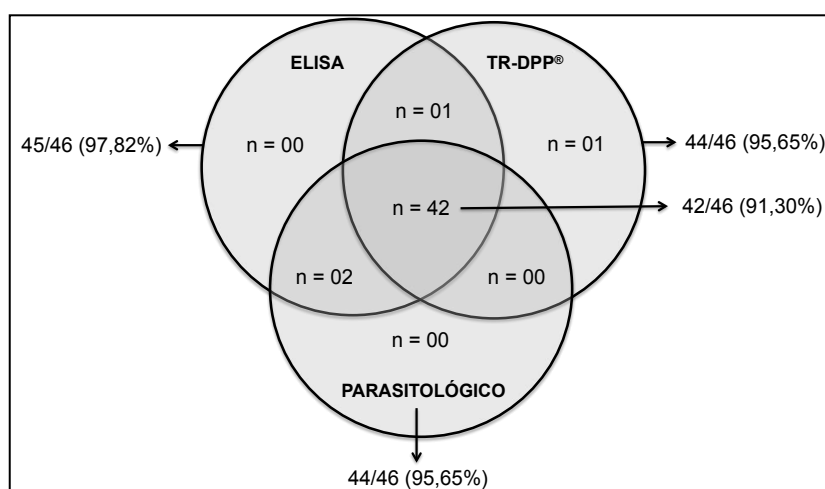
O estudo da associação linear entre as variáveis quantitativas foi realizado por meio de coeficiente de correlação linear de Pearson, ao passo que para as variáveis categorizadas utilizou-se o teste do Qui-quadrado, para o estabelecimento da casualidade ou distribuição preferencial dos dados¹³.

Todas as discussões dos resultados foram realizadas no nível de 5% de significância.

Resultados

Foram estudados 46 animais que apresentaram positividade nos testes realizados para o diagnóstico de *Leishmania infantum chagasi*, (Figura 1).

A distribuição dos resultados da variação do sexo dos animais está disposta na tabela 1, no qual resultado indica ser de característica casual.



135

Figura 1: Resultados dos testes sorológicos de ELISA e TR-DPP®, e parasitológico direto em amostras biológicas de 46 cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral.

O resultado da variação sexual dos animais foi de 50% machos e 50% fêmeas. Dentre as raças avaliadas encontramos o American Pit Bull Terrier 3/46 (6,5%), o Pastor Alemão e o Poodle com 2/46 (4,3%) cada, o Chow Chow, Cocker Spinel e Maltes com 1/46 (2,2%) cada, 36/46 (78,3%) dos animais avaliados foram sem raça definida.

Os dados dos exames histopatológicos foram agrupados em categorias gerais e suas alterações classificadas como ausente, leve, moderado e acentuado para melhor determinação dos resultados. A caracterização de inflamação crônica na tabela 3 é referente ao achado histológico de inflamação de células mononucleares (linfócitos, plasmócitos e macrófagos/histiócitos), que geralmente estão associadas a processos crônicos ou de doenças de curso longo, como doenças causadas por vírus, (principalmente cinomose), protozoários (Leishmaniose) ou hepatites crônicas idiopáticas. A tabela 1 demonstra a distribuição da frequência absoluta e relativa em relação à inflamação crônica.

Tabela 1: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de inflamação crônica nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Leve	23	50
Moderado	22	47,8
Acentuado	1	2,2
Total	46	100,0

p<0,05

A tabela 2 demonstra a distribuição das frequências absolutas e relativas à ocorrência do edema intracelular, que foi agrupada levando em consideração a degeneração microgoticular (ou microvacuolar).

Tabela 2: Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de Edema Intracelular nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Ausente	21	45,7
Leve	13	28,3
Moderado	11	23,9
Acentuado	1	2,2
Total	46	100,0

p<0,05

159 Congestão hepática refere-se aos achados histopatológicos da presença de sangue no
 160 interior dos vasos hepáticos, dados estes distribuídos na Tabela 3 demonstrando as
 161 frequências absoluta e relativa.

162 **Tabela 3:** Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de congestão hepática nos cães
 163 naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Leve	5	10,9
Moderado	40	87,0
Acentuado	1	2,2
Total	46	100,0

p<0,05

164 Na tabela 4 demonstramos as frequências absoluta e relativa da degeneração gordurosa.
 165 Este que foi atribuído referente à degeneração macrogoticular (ou macrovacuolar), que
 166 seria o acúmulo de um ou dois grandes vacúolos no citoplasma, em que há
 167 deslocamento do núcleo para a periferia da célula e o conteúdo é sempre lipídico
 168 (degeneração gordurosa).

169 **Tabela 4:** Distribuição da classificação dos achados histopatológicos de Degeneração Gordurosa nos cães
 170 naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Ausente	9	19,6
Leve	4	8,7
Moderado	17	37,0
Acentuado	16	34,8
Total	46	100,0

p<0,05

171 Neste estudo 42/46 (91,3%) animais apresentaram uma leve hiperplasia das células de
 172 Kupffer e 4/46 (8,7%) não apresentaram hiperplasia.

173 Parênquima hepático classificado como homogêneo foi observado em 33/46 animais
 174 (71,7%) e heterogêneo 13/46 animais (28,3%), sendo que destes nenhum macronódulos
 175 foi observado, somente micronodular (aspecto grosseiro do parênquima hepático).
 176 Na tabela 5 demonstra-se as frequências absoluta e relativa da variação da
 177 ecogenicidade hepática nos cães.

178 **Tabela 5:** Distribuição da ecogenicidade do parênquima hepático nos cães naturalmente acometidos por
 179 leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Normal	9	19,6
Hipoecogênico	26	56,5
Hiperecogênico	11	23,9
Total	46	100,0

p<0,05

180 Na tabela 6 demonstram-se as frequências absoluta e relativa do tamanho hepático.

181 **Tabela 6:** Distribuição do tamanho hepático nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral
 182 canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Normal	25	54,3
Diminuído	1	2,2
Aumentado	20	43,5
Total	46	100,0

p<0,05

183 Os resultados do espectro da veia hepática está demonstrados na tabela 7.

184

185

186

Tabela 7: Distribuição da caracterização do tipo de espectro da veia hepática nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Freq. Absoluta	Freq. Relativa (%)
Trifásica	12	26,1
Bifásica	25	54,3
Monofásica	9	19,6
Total	46	100,0

p<0,05

Os dados relacionados à velocidade da veia porta (Vel. VP), velocidade média do pico sistólico da artéria hepática (Vel. AH) e o índice de resistividade da artéria hepática (IR AH). Juntamente com o perfil bioquímico do fígado pelas enzimas: Fosfatase alcalina (FA) e alanina transaminase (ALT), proteína total sérica (PPT), albumina, globulina e bilirrubina no qual todos estes dados quantitativos foram agrupados na tabela 8.

Tabela 8: Medidas descritivas das variáveis quantitativas nos cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

Medida Descritiva					
Variável	Média	Desv. Padrão	Mínimo	Mediana	Máximo
Vel. VP (cm/s)	22,1	4,8	11,8	22,0	32,2
Vel. AH (cm/s)	76,9	27,8	33,8	72,0	138,9
IR AH	0,7	0,1	0,5	0,7	0,8
ALT (UI/l)	30,8	20,4	10,0	26,0	136,0
FA (UI/l)	85,0	47,2	24,0	74,0	273,0
PPT	8,1	1,3	5,3	8,4	10,4
Albumina	1,9	0,6	1,0	1,8	3,3
Globulina	6,3	1,5	2,3	6,5	8,6
Bilirrubina Total	0,3	0,3	0,1	0,3	1,6

Os valores normais; ALT: 21-73UI/L, FA: 20-156UI/L, PPT: 5,4-7,1g/dL, Albumina: 2,6-3,3 g/dL, Globulina: 2,7-4,4 g/dL e Bilirrubina Total: 0,1-0,5 mg/dL.

A figura 2 demonstra algumas das alterações encontradas no fígado pelo ultrassom Modo B e a figura 3 exemplifica os principais achados ultrassonográficos encontrados

no experimento, dentre os quais a alteração espectral da veia hepática, característica espectral e velocidade da veia porta e artéria hepática.

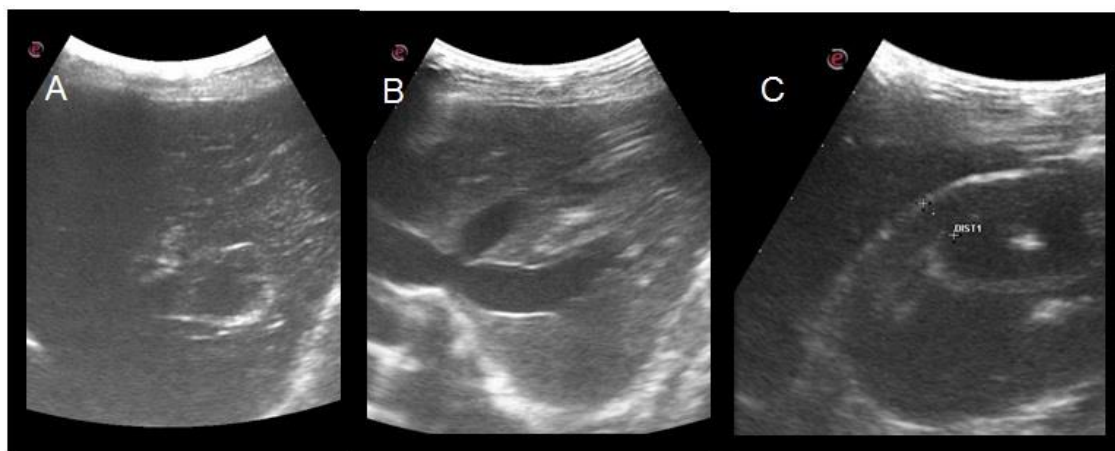


Figura 2: Imagens ultrassonográficas do fígado de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral canina demonstrando em A – ecogenicidade diminuída com evidenciação das paredes dos vasos portais; B – congestão hepática; C – correlação entre a ecogenicidade do parênquima hepático e a cortical renal. (FONTE: Arquivo pessoal).

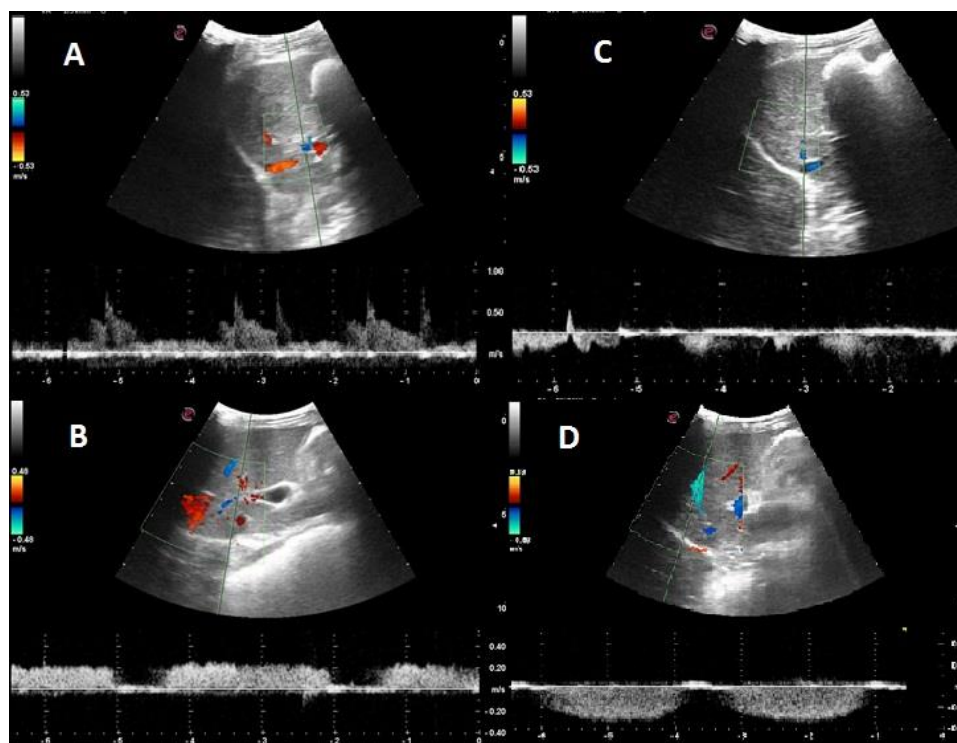


Figura 3: Imagens ultrassonográficas triplex Doppler do fígado de cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral canina demonstrando em A - pico da artéria hepática; B - fluxo da veia porta; C - característica espectral trifásica da veia hepática; D - característica espectral monofásica da veia hepática. (FONTE: Arquivo pessoal).

216 Tabela 9 demonstra a correlação entre as variáveis quantitativas.

217 **Tabela 9:** Medida de associação linear de Pearson entre as variáveis quantitativas nos cães
218 naturalmente acometidos por leishmaniose visceral canina.

	Variável								
Variável	Vel VP (cm/s)	Vel AH (cm/s)	IR AH	ALT (U/l)	FA (U/l)	PPT	Albumina	Globulina	Bilirrubina Total
Vel VP (cm/s)	#	0,166	0,12	0,04	-0,001	-0,225	0,013	-0,20	-0,139
Vel AH (cm/s)	p>0,05	#	0,458 ^a	0,07	-0,095	-0,19	0,076	-0,192	-0,061
IR AH	p>0,05	p<0,005 ^a	#	0,22	-0,19	-0,174	0,224	-0,228	-0,135
ALT (U/l)	p>0,05	p>0,05	p>0,05	#	-0,112	0,087	0,393 ^b	-0,058	0,225
FA (U/l)	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	#	0,23	-0,111	0,241	-0,05
PPT	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	#	-0,212	0,943 ^c	-0,06
Albumina	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,01 ^b	p>0,05	p>0,05	#	(-)0,524 ^d	0,106
Globulina	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p<0,001 ^c	p<0,001 ^d	#	-0,089
Bilirrubina Total	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	p>0,05	#

219 Na tabela 11, a diagonal representada pelo símbolo “#”, separa o coeficiente de
220 correlação (acima do #) com os valores de p (abaixo do #), sendo assim, na
221 interpretação, ocorreu correlação entre a velocidade da artéria hepática e o índice de
222 resistividade da artéria hepática (^a), demonstrando que quanto maior a velocidade da AH
223 maior foi o IR AH. Houve correlação entre a ALT e a Albumina (^b), entre a PPT e a
224 Globulina (^c), ambas com relação positiva. Já na correlação existente entre a Globulina e
225 Albumina (^d), ocorreu uma correlação negativa, ou seja, quanto maior o valor de
226 globulina menor foi o valor de albumina nestes animais.
227

228 Discussão

229 Estudos recentes demonstram que a leishmaniose não tem predisposição racial ou com
230 relação ao sexo dos animais ^{14, 1517}, onde confirma os dados coletados neste, pois a
231 distribuição foi de exatamente 50% entre machos e fêmeas e a maioria dos animais não
232 tinham raça definida, embora o estudo realizado dentro de um Hospital Veterinário
233 demonstre uma pequena predisposição para machos¹⁶, que pode ser explicado pelo
234 baixo número de amostras e do local do experimento.

235 Em estudo realizado com pacientes de diferentes apresentações clínicas, achados
236 histopatológicos não foram diferentes entre grupos assintomáticos e sintomáticos, sendo
237 bastante comum apresentar hepatomegalia, congestão hepática e esteatose hepática¹⁸.
238 Sendo essas alterações histopatológicas também encontradas no presente estudo.

239 A inflamação crônica observada em todos os pacientes no atual, variando somente o
240 grau da inflamação, pode nos fornecer uma falsa ideia de um fígado cirrótico ou com
241 grande quantidade de fibrose em permeio, o que não foi visibilizado no ultrassom nem
242 no exame histológico. Isto pode ser explicado por Watson (2004) em uma revisão sobre
243 hepatite crônica, que descreve que o termo hepatite crônica não deve ser utilizado
244 quando só ocorre inflamação hepática, e sim considerando extensão da lesão, presença
245 de necrose, fibrose e elevação das enzimas hepáticas, principalmente a ALT, sem
246 melhora do quadro e dos exames por aproximadamente seis meses. Portanto, a imagem
247 ultrassonográfica foi capaz de detectar alterações do infiltrado inflamatório pela
248 diminuição da ecogenicidade do parênquima, mesmo sem obter alteração das enzimas
249 hepáticas, e a ecotextura homogênea presente sugeriu também a não existência de
250 macro ou micronódulos relacionados à fibrose.

251 Achados laboratoriais mais comuns encontrados na LVC referem-se ao aumento da
252 proteína total sérica (PPT), devido principalmente a hiperglobulinemia e decréscimo nos
253 valores de albumina^{6,7}. O mesmo foi encontrado nos exames laboratoriais do presente
254 estudo, ou seja, alta nos valores de PPT e de globulinas, juntamente com diminuição nos
255 valores de albumina.

256 Houve uma correlação importante quando observamos as dosagens de globulina e
257 albumina nos animais, sendo que quanto maior o valor de globulina menor foi o de
258 albumina, corroborando conforme descrito na literatura, onde nos casos de LVC, apesar
259 do nível de proteína total sérica estar aumentado, ocorre uma disproteinemia e pela

260 eletroforese nota-se a alteração dessa relação da albumina/globulina devido ao aumento
261 da gamaglobulina ⁶.

262 ALT e FA mantiveram-se com valores médios normais no atual estudo, indicando ser
263 uma doença de progressão lenta, variando conforme a extensão da lesão hepática
264 inflamatória ou necrose. Contudo esses valores não demonstraram doença hepática
265 ativa, os achados ultrassonográficos foram capaz de mostrar com precocidade a
266 presença de lesão que foi confirmado pela análise histológica. Resultados semelhantes
267 são demonstrados na literatura vigente ⁷.

268 Sabe-se do envolvimento hepático nos casos de LVC, deve-se principalmente a
269 multiplicação dos parasitas nos macrófagos do fígado, evoluindo para uma hepatite
270 crônica ativa ^{19, 20}. Infiltrado de células mononucleares no parênquima hepático, foi
271 bastante caracterizado no experimento, provavelmente devido à ativação de vias de
272 complemento. Trabalhos realizados, também descrevem este tipo de infiltrado em suas
273 pesquisas ^{7, 21}.

274 No presente estudo, os achados histopatológicos demonstraram uma hiperplasia das
275 células de Kupffer, levando a uma estase de estruturas no espaço de Disse, que podem
276 implicar na patogênese da fibrose no fígado ^{7, 22}.

277 Nas veias hepáticas de pacientes comuns, o espectro na ultrassonografia Doppler
278 demonstra característica cíclica, tendo três fases de fluxo específicas, as duas primeiras
279 variações correspondem à diástole atrial e ventricular, sendo a terceira corresponde à
280 sístole atrial. Alteração nesse padrão pode ocorrer em indivíduos com cirrose, processos
281 inflamatórios crônicos e esteatose hepática ^{11, 23, 24}. No atual estudo foi detectado
282 alterações significativas na característica espectral da veia hepática, sendo que 73,9%
283 dos pacientes apresentaram onda espectral bifásica ou monofásica, isto é um dado
284 essencial para a detecção precoce de processos infiltrativos no fígado.

285 De grande importância na detecção precoce de alterações hepáticas, a hipertensão portal
286 ocorre como consequência de alterações crônicas no fígado, geralmente cursando com
287 fibrose e cirrose ^{25, 26}. Em estudo realizado com metodologia semelhante ao empregado
288 no presente estudo, descrevem como velocidade média da veia porta normal em
289 aproximadamente $18,1 \pm 7,6\text{cm/s}$ ²⁷. E em humanos com leishmaniose essa velocidade
290 foi de $20.5 \pm 4.7\text{cm/s}$. ²⁸. Mesmo a leishmaniose sendo enfermidade multissistêmica e de
291 curso longo e apresentar processos inflamatórios crônicos nos exames histopatológicos,
292 a media da velocidade da veia porta no presente estudo ficou dentro dos parâmetros de
293 normalidade.

294 Na artéria hepática as principais mensurações realizadas são relacionadas aos índices de
295 resistividade e de pulsatibilidade. Os valores absolutos da velocidade de pico sistólico e
296 velocidade diastólica final também podem ser mensurados, porém o pequeno diâmetro
297 da artéria dificulta a correção do ângulo de insonação no Doppler espectral²⁹.

298 Informações que podem explicar o alto desvio padrão observado na mensuração da
299 velocidade da artéria hepática pelo presente estudo.

300 Estudo utilizando cães de diferentes raças e tamanhos obtiveram valores do índice de
301 resistividade da artéria hepática de $0,68 \pm 0,04$ ³⁰. No qual a presente pesquisa obteve
302 valores médios dentro da normalidade.

303 **Conclusão**

304 Em regiões endêmicas, ao se realizar um exame ultrassonográfico hepático de um cão
305 que apresente dimensões de normal a aumentada, ecotextura homogênea e
306 ecogenicidade diminuída, apresentando alteração do espectro das veias hepáticas, pode-
307 se, como diagnóstico diferencial, suspeitar de LVC nos cães.

Referências

1. Dantas-Torres F, Brandao-Filho S. Geographical expansion of visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco. *Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical* 2006;39:352-356.
2. Baneth G. Leishmaniasis. *Greene CE, Infectious Diseases of the Dog and Cat Missouri; Saunders Elsevier* 2006:685-698.
3. Feitosa MM, Ikeda FA, Luvizotto MCR, et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba–São Paulo (Brasil). *Clínica Veterinária* 2000;28:36-44.
4. Marcondes M, Biondo AW, Gomes AAD, et al. Validation of a *Leishmania infantum* ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. *Veterinary parasitology* 2011;175:15-19.
5. Ferrer L. The pathology of canine leishmaniasis, 2002;21-24.
6. Ciaramella P, Corona M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. *COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTISING VETERINARIAN-NORTH AMERICAN EDITION-* 2003;25:358-369.
7. Rallis T, Day MJ, Saridomichelakis MN, et al. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*): a clinicopathological study of 26 cases. *J Comp Pathol* 2005;132:145-152.
8. Mattoon JS, Nyland TG. *Small animal diagnostic ultrasound*: Saunders, 2002.
9. Feeney DA, Anderson KL, Ziegler LE, et al. Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. *Am J Vet Res* 2008;69:212-221.
10. Buob S, Johnston AN, Webster CRL. Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2011;25:169-186.
11. Machado MM, Rosa ACF, Barros Nd, et al. Doppler evaluation in portal hypertension. *Radiologia Brasileira* 2004;37:35-39.
12. Watson PJ. Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the aetiology, progression, and treatment. *The Veterinary Journal* 2004;167:228-241.
13. Norman GR, Streiner DL. *Biostatistics: the bare essentials*: Bc Decker Hamilton, 2008.
14. Silveira FT, Carneiro LA, Ramos PKS, et al. A cross-sectional study on canine *Leishmania (L.) infantum chagasi* infection in Amazonian Brazil ratifies a higher prevalence of specific IgG-antibody response than delayed-type hypersensitivity in symptomatic and asymptomatic dogs. *Parasitology research* 2012;111:1513-1522.
15. Gomes AAD. Fatores de risco e análise espacial para a leishmaniose visceral no município de Juazeiro-Bahia-Brasil. 2013.
16. Miranda S, Roura X, Picado A, et al. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. *Research in veterinary science* 2008;85:35-38.
17. Silva ARSd. Avaliação radiográfica das articulações dos membros locomotores de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral no município de Araçatuba-SP. 2009.

18. Wilson TM, Magalhães LF, Medeiros AA, et al. ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS EM CÃES SORORREAGENTES PARA *Leishmania chagasi* E SUA CORRELAÇÃO COM TESTE PARASITOLÓGICO. *Veterinária Notícias* 2013;18.
19. Sonoda MC, Rossi CN, Laurenti MD, et al. Retrospective study of canine cases of leishmaniasis attended in São Paulo, Brazil (1997-2007). 34 2013.
20. Miller WH, Griffin CE, Campbell KL. Viral, rickettsial and protozoal skin diseases. *MULLER, WH; GRIFFIN, CE Kirks small animal dermatology 7th ed Missouri: Elsevier* 2013:354-357.
21. Rica-Capela MJ, Cortes S, Leandro C, et al. Immunological and histopathological studies in a rodent model infected with *Leishmania infantum* promastigotes or amastigotes. *Parasitol Res* 2003;89:163-169.
22. Solano-Gallego L, Koutinas A, Miró G, et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology* 2009;165:1-18.
23. Shapiro RS, Stancato-Pasik A, Glajchen N, et al. Color doppler applications in hepatic imaging. *Clinical Imaging* 1998;22:272-279.
24. Taourel P, Blanc P, Dauzat M, et al. Doppler study of mesenteric, hepatic, and portal circulation in alcoholic cirrhosis: Relationship between quantitative doppler measurements and the severity of portal hypertension and hepatic failure. *Hepatology* 1998;28:932-936.
25. SARTOR, R.; MAMPRIM, M. J. Avaliação com Doppler colorido e espectral da veia porta de cães. *Rural Ciencia*, v. 39, n. 2, p. 595-603, 2009. ISSN 0103-8478.
26. Szatmári V, Rothuizen J. Ultrasonographic identification and characterization of congenital portosystemic shunts and portal hypertensive disorders in dogs and cats. *WSAVA standards for clinical and histological diagnosis of canine and feline liver disease* 2006:15.
27. Nyland TG, Fisher PE. EVALUATION OF EXPERIMENTALLY INDUCED CANINE HEPATIC CIRRHOSIS USING DUPLEX DOPPLER ULTRASOUND. *Veterinary Radiology* 1990;31:189-194.
28. Tasu JP, Rocher L, Peletier G, et al. Hepatic venous pressure gradients measured by duplex ultrasound. *Clinical radiology* 2002;57:746-752.
29. Lamb CR, Burton CA, Carlisle CH. DOPPLER MEASUREMENT OF HEPATIC ARTERIAL FLOW IN DOGS: TECHNIQUE AND PRELIMINARY FINDINGS. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 1999;40:77-81.
30. Nyland TG, Larson MM, Mattoon JS. Chapter 9 - Liver In: Nyland JSMG, ed. *Small Animal Diagnostic Ultrasound (Third Edition)*. St. Louis: W.B. Saunders, 2015;332-399.

Trabalho enviado para a Revista Veterinária e Zootecnia, da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia-UNESP, Campus de Botucatu. <http://www.fmvz.unesp.br/rvz/index.php/rvz>.

CAPITULO 3

Discussão Geral

O ultrassom mostra-se uma modalidade diagnóstica não invasiva, com importante difusão no cenário da medicina veterinária atual, com grande confiabilidade e que consegue detectar precocemente diversas alterações, dentre elas as lesões hepáticas (LAMB, BURTON e CARLISLE, 1999). Pacientes hepatopatas tem como rotina a utilização do exame ultrassonográfico, tanto para a detecção da alteração hepática, quanto para acompanhamento clínico, sendo hoje um exame indispensável na medicina veterinária, no qual, a ultrassonografia é muito operador dependente, e diferenciar algumas alterações, que se assemelham na imagem ultrassonográfica, como no caso das doenças inflamatórias crônicas, degenerativas e das infiltrações neoplásicas difusas pode fazer com que haja falhas, podendo o clínico lançar mão de ferramentas auxiliares para o diagnóstico, como exames sanguíneos e biopsia hepática (LAMB, BURTON e CARLISLE, 1999; MATTOON e NYLAND, 2002; FEENEY *et al.*, 2008). No qual o presente estudo o ultrassom se mostrou eficiente na detecção das alterações hepáticas, sendo confirmada pelos exames histopatológicos.

Na presente pesquisa o ultrassom se mostrou mais precoce que o exame sérico bioquímico dos pacientes, quando trata-se da avaliação hepática de cães. O diagnóstico precoce das doenças hepáticas tem se tornado um desafio para o clínico veterinário, sendo que a manifestação clínica do paciente acabam ocorrendo somente na fase tardia da doença, quando o parênquima hepático já está comprometido (BUOB, JOHNSTON e WEBSTER, 2011).

Uma avaliação minuciosa do fígado pelo modo B é essencial, porém uma associação com demais exames complementares é sempre necessário para o diagnóstico correto das alterações hepáticas.

Mensurações quantitativas realizadas através do Doppler espectral na veia porta, na artéria hepática e nas veias hepáticas passaram a fazer parte da abordagem diagnóstica do paciente com doença hepática em humanos,

principalmente daqueles com doença inflamatória crônica e hipertensão portal (SHAPIRO *et al.*, 1998).

Sendo possível observar que, as alterações hemodinâmicas evidenciadas pelo Doppler em cães com doença hepática, se torna mais evidente quanto maior o grau de fibrose hepática (TAOUREL *et al.*, 1998). Corroborando com os resultados encontrados no presente estudo.

A leishmaniose visceral (LV) vem se tornando um importante problema de Saúde Pública, devido à sua incidência e alta letalidade. Apresentando grande espectro epidemiológico no mundo e se mostrando com grande potencial zoonótico (De ANDRADE *et al.*, 2006). O cão é considerado o principal reservatório da doença, representando fonte de infecção para o vetor e um elo na transmissão para o homem (BANETH, 2006; Miró *et al.*, 2008).

Demonstrando assim uma grande importância na detecção precoce desta enfermidade. Fazendo com que trabalhos realizados com o tema sejam cada vez mais incentivados e necessários para um melhor entendimento da doença e de possível controle.

Conclusão

A leishmaniose visceral canina cursa com um processo inflamatório crônico do fígado, apresentando alterações inespecíficas e de difícil correlação, contudo, o ultrassom se demonstrou eficaz na detecção precoce de alterações do parênquima e inclusive com o emprego da ferramenta Doppler ao detectar a alteração espectral da VH. A associação de exames complementares é necessária, porém é importante ressaltar que o ultrassom se mostrou o método auxiliar mais precoce na detecção da alteração hepática neste estudo.

REFERÊNCIAS

BANETH, G. Leishmaniasis. **Greene CE, Infectious Diseases of the Dog and Cat. Missouri; Saunders Elsevier**, p. 685-698, 2006.

BRASIL. **Manual de Vigilância e controle da Leishmaniose Visceral**: Ministério da Saúde Brasília^ eDF DF 2006.

BRINKMAN-FERGUSON, E. L.; BILLER, D. S. Ultrasound of the right lateral intercostal space. **Vet Clin North Am Small Anim Pract**, v. 39, n. 4, p. 761-81, Jul 2009. ISSN 0195-5616. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cvsm.2009.04.007> >.

BUOB, S.; JOHNSTON, A. N.; WEBSTER, C. R. L. Portal hypertension: pathophysiology, diagnosis, and treatment. **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 25, n. 2, p. 169-186, 2011. ISSN 1939-1676.

CARVALHO, C. F. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. Roca, 2004. ISBN 8572415149.

CHANDRASHEKAR, R. Validation of a Leishmania infantum ELISA rapid test for serological diagnosis of Leishmania chagasi in dogs. **Veterinary Parasitology**, 2010. ISSN 0304-4017.

CHAPPUIS, F. et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? **Nature Reviews Microbiology**, v. 5, n. 11, p. 873-882, 2007-11-01 2007. ISSN 1740-1526. Disponível em: < <http://www.nature.com/nrmicro/journal/v5/n11/abs/nrmicro1748.html> >.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **COMPENDIUM ON CONTINUING EDUCATION FOR THE PRACTISING VETERINARIAN-NORTH AMERICAN EDITION**-, v. 25, n. 5, p. 358-369, 2003. ISSN 0193-1903.

D'ANJOU, M. A. et al. Ultrasonographic diagnosis of portosystemic shunting in dogs and cats. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 45, n. 5, p. 424-437, 2004. ISSN 1740-8261.

DANTAS-TORRES, F. The role of dogs as reservoirs of Leishmania parasites, with emphasis on Leishmania (Leishmania) infantum and Leishmania (Viannia) braziliensis. **Veterinary Parasitology**, v. 149, n. 3-4, p. 139-146, 2007. ISSN 0304-4017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401707003597> >.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDAO-FILHO, S. Geographical expansion of visceral leishmaniasis in the State of Pernambuco. **Revista Da Sociedade Brasileira De Medicina Tropical**, v. 39, n. 4, p. 352-356, JUL-AUG 2006 2006. ISSN 0037-8682.

DE ANDRADE, H. M. et al. Use of PCR–RFLP to identify *Leishmania* species in naturally-infected dogs. **Veterinary Parasitology**, v. 140, n. 3–4, p. 231-238, 2006. ISSN 0304-4017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401706002299> >.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp Immunol Microbiol Infect Dis**, v. 27, n. 5, p. 305-18, Sep 2004. ISSN 0147-9571 (Print)0147-9571. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.cimid.2004.03.004> >.

EVANS, H. E.; DE LAHUNTA, A. **Miller's Anatomy of the Dog**. Elsevier Health Sciences, 2013. ISBN 0323266231.

FEENEY, D. A. et al. Statistical relevance of ultrasonographic criteria in the assessment of diffuse liver disease in dogs and cats. **Am J Vet Res**, v. 69, n. 2, p. 212-21, Feb 2008. ISSN 0002-9645 (Print)0002-9645. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.2460/ajvr.69.2.212> >.

FEITOSA, M. M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba–São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, v. 28, p. 36-44, 2000.

FERRER, L. **The pathology of canine leishmaniasis**: 21-24 p. 2002.

GOMES, A. A. D. Fatores de risco e análise espacial para a leishmaniose visceral no município de Juazeiro-Bahia-Brasil. 2013.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**. Rio de Janeiro: 2004.

LAINSON, R. et al. **Evolution, classification and geographical distribution**. Academic Press, 1987. ISBN 0125521014.

LAMB, C. R.; BURTON, C. A.; CARLISLE, C. H. DOPPLER MEASUREMENT OF HEPATIC ARTERIAL FLOW IN DOGS: TECHNIQUE AND PRELIMINARY FINDINGS. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 40, n. 1, p. 77-81, 1999. ISSN 1740-8261. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1740-8261.1999.tb01842.x> >.

LAURENTI, M. D. **Pathology and pathogenesis of leishmaniasis**. 2010. text Universidade de São Paulo

MACHADO, M. M. et al. Doppler evaluation in portal hypertension. **Radiologia Brasileira**, v. 37, n. 1, p. 35-39, 2004. ISSN 0100-3984.

MAMPRIM, M. J.; CARVALHO, C. F. Fígado e vesícula biliar. **Ultra-sonografia em pequenos animais**. São Paulo: Roca, p. 51-73, 2004.

MARCONDES, A. W. B., A A D GOMES, A R S SILVA, R F C VIEIRA, A A CAMACHO, JOHN QUINN, R CHANDRASHEKAR. Validation of a *Leishmania*

infantum ELISA rapid test for serological diagnosis of *Leishmania chagasi* in dogs. **Veterinary parasitology**, v. 175, n. 1-2, 2010. ISSN 1873-2550.

MARCONDES, M. 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. ISSN 0304-4017.

MATHEWS, K. G.; BUNCH, S. K. Vascular liver diseases. **Textbook of veterinary internal medicine: diseases of the dogs and cat. 6th edition. St Louis (MO): Elsevier Saunders**, p. 1453-64, 2005.

MATTOON, J. S.; NYLAND, T. G. **Small animal diagnostic ultrasound**. Saunders, 2002. ISBN 0721677886.

_____. Chapter 1 - Fundamentals of Diagnostic Ultrasound. In: NYLAND, J. S. M. G. (Ed.). **Small Animal Diagnostic Ultrasound (Third Edition)**. St. Louis: W.B. Saunders, 2015. p.1-49. ISBN 978-1-4160-4867-1.

MILLER, W. H.; GRIFFIN, C. E.; CAMPBELL, K. L. Viral, rickettsial and protozoal skin diseases. **MULLER, WH; GRIFFIN, CE Kirks small animal dermatology. 7th ed. Missouri: Elsevier**, p. 354-357, 2013.

MIRANDA, S. et al. Characterization of sex, age, and breed for a population of canine leishmaniosis diseased dogs. **Research in veterinary science**, v. 85, n. 1, p. 35-38, 2008. ISSN 0034-5288.

MIRÓ, G. et al. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 8, p. 371-377, 2008. ISSN 1471-4922. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1471492208001578>>.

MOLANO, I. et al. A *Leishmania infantum* multi-component antigenic protein mixed with live BCG confers protection to dogs experimentally infected with *L. infantum*. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 92, n. 1, p. 1-13, 2003. ISSN 0165-2427.

NEVES, D. P. **Parasitologia humana**. Atheneu, 2002. ISBN 8573792434.

NORMAN, G. R.; STREINER, D. L. **Biostatistics: the bare essentials**. Bc Decker Hamilton, 2008. 293 ISBN 1550093479.

NOVELLAS, R.; DE GOPEGUI, R. R.; ESPADA, Y. Increased renal vascular resistance in dogs with hepatic disease. **The Veterinary Journal**, v. 178, n. 2, p. 257-262, 11// 2008. ISSN 1090-0233. Disponível em: <
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1090023307002559>>.

NYLAND, T. G.; FISHER, P. E. EVALUATION OF EXPERIMENTALLY INDUCED CANINE HEPATIC CIRRHOSIS USING DUPLEX DOPPLER ULTRASOUND. **Veterinary Radiology**, v. 31, n. 4, p. 189-194, 1990. ISSN

1740-8261. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1111/j.1740-8261.1990.tb01809.x> >.

NYLAND, T. G.; LARSON, M. M.; MATTOON, J. S. Chapter 9 - Liver. In: NYLAND, J. S. M. G. (Ed.). **Small Animal Diagnostic Ultrasound (Third Edition)**. St. Louis: W.B. Saunders, 2015. p.332-399. ISBN 978-1-4160-4867-1.

NYLAND, T. G.; MATTOON, J. S. **Veterinary diagnostic ultrasound**. WB Saunders, 1995. ISBN 0721627455.

PENNINCK, D.; D'ANJOU, M.-A. **Atlas of small animal ultrasonography**. John Wiley & Sons, 2013. ISBN 1118714083.

RALLIS, T. et al. Chronic hepatitis associated with canine leishmaniosis (Leishmania infantum): a clinicopathological study of 26 cases. **J Comp Pathol**, v. 132, n. 2-3, p. 145-52, Feb-Apr 2005. ISSN 0021-9975 (Print)0021-9975. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcpa.2004.09.004> >.

RICA-CAPELA, M. J. et al. Immunological and histopathological studies in a rodent model infected with Leishmania infantum promastigotes or amastigotes. **Parasitol Res**, v. 89, n. 3, p. 163-9, Feb 2003. ISSN 0932-0113 (Print)0932-0113. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1007/s00436-002-0738-9> >.

RIÇA-CAPELA, M. et al. Immunological and histopathological studies in a rodent model infected with Leishmania infantum promastigotes or amastigotes. **Parasitology research**, v. 89, n. 3, p. 163-169, 2003. ISSN 0932-0113.

ROSE, S. C.; NELSON, T. R. Ultrasonographic Modalities to Assess Vascular Anatomy and Disease. **Journal of Vascular and Interventional Radiology**, v. 15, n. 1, Part 1, p. 25-38, 1// 2004. ISSN 1051-0443. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1051044307606666> >.

SARTOR, R.; MAMPRIM, M. J. Avaliação com Doppler colorido e espectral da veia porta de cães. **Ciência Rural**, v. 39, n. 2, p. 595-603, 2009. ISSN 0103-8478.

SHAPIRO, R. S. et al. Color doppler applications in hepatic imaging. **Clinical Imaging**, v. 22, n. 4, p. 272-279, 7// 1998. ISSN 0899-7071. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0899707198000072> >. Acesso em: 1998/8//.

SHAW, J. J. Further thoughts on the use of the name Leishmania (Leishmania) infantum chagasi for the aetiological agent of American visceral leishmaniasis. **Memorias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 101, n. 5, p. 577-579, 2006. ISSN 0074-0276.

SILVA, A. R. S. D. Avaliação radiográfica das articulações dos membros locomotores de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral no município de Araçatuba-SP. 2009.

SILVEIRA, F. T. et al. A cross-sectional study on canine Leishmania (L.) infantum chagasi infection in Amazonian Brazil ratifies a higher prevalence of specific IgG-antibody response than delayed-type hypersensitivity in symptomatic and asymptomatic dogs. **Parasitology research**, v. 111, n. 4, p. 1513-1522, 2012. ISSN 0932-0113.

SOLANO-GALLEGO, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 165, n. 1–2, p. 1-18, 10/28/ 2009. ISSN 0304-4017. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304401709003124> >.

SONODA, M. C. et al. Retrospective study of canine cases of leishmaniasis attended in São Paulo, Brazil (1997-2007). **34**, 2013-05-14 2013. Disponível em: < <http://www.uel.br/revistas/uel/index.php/semagrarias/article/view/11349> >.

SZATMÁRI, V.; ROTHUIZEN, J. Ultrasonographic identification and characterization of congenital portosystemic shunts and portal hypertensive disorders in dogs and cats. **WSAVA standards for clinical and histological diagnosis of canine and feline liver disease**, p. 15, 2006. ISSN 070202791X.

SZATMÁRI, V.; SÓTONYI, P.; VÖRÖS, 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. ISSN 1740-8261.

TAOUREL, P. et al. Doppler study of mesenteric, hepatic, and portal circulation in alcoholic cirrhosis: Relationship between quantitative doppler measurements and the severity of portal hypertension and hepatic failure. **Hepatology**, v. 28, n. 4, p. 932-936, 1998. ISSN 1527-3350. Disponível em: < <http://dx.doi.org/10.1002/hep.510280406> >.

TASU, J. P. et al. Hepatic venous pressure gradients measured by duplex ultrasound. **Clinical radiology**, v. 57, n. 8, p. 746-752, 2002. ISSN 0009-9260.

WATSON, P. J. Chronic hepatitis in dogs: a review of current understanding of the aetiology, progression, and treatment. **The Veterinary Journal**, v. 167, n. 3, p. 228-241, 2004. ISSN 1090-0233.

WHO. **WHO | Leishmaniasis**. WHO: World Health Organization 2014.

WILSON, T. M. et al. ALTERAÇÕES MACROSCÓPICAS EM CÃES SORORREAGENTES PARA Leishmania chagasi E SUA CORRELAÇÃO COM TESTE PARASITOLÓGICO. **Veterinária Notícias**, v. 18, n. 2. SUP, 2013. ISSN 1983-0777.

ZANETTE, M. F. Comparação entre os métodos de ELISA, imunofluorescência indireta e imunocromatografia para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina. 2006. 92 f. 2006.