

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

SANDRA CARVALHO MATOS DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E MEDULAR DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM *Leishmania infantum chagasi***

CRUZ DAS ALMAS

2014

SANDRA CARVALHO MATOS DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E MEDULAR DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM *Leishmania infantum chagasi***

Monografia apresentada ao Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia como requisito para obtenção do título de bacharel em Medicina Veterinária.

Área de concentração: Patologia Clínica Veterinária

Orientadora: Profa. Veridiana Fernandes da Silveira

CRUZ DAS ALMAS

2014

FICHA CATALOGRÁFICA

O48a	<p>Oliveira, Sandra Carvalho Matos de. Avaliação clínica, hematológica e medular de cães naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum</i> Chagasi / Sandra Carvalho Matos de Oliveira._ Cruz das Almas, BA, 2014. 66f.; il.</p> <p>Orientadora: Veridiana Fernandes da Silveira.</p> <p>Monografia (Graduação) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Cão – Doenças. 2.Patologia clínica veterinária – Leishmania. 3.Diagnóstico – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 636.089</p>
------	--

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
COLEGIADO DE MEDICINA VETERINÁRIA
CCA106 – TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

COMISSÃO EXAMINADORA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO

SANDRA CARVALHO MATOS DE OLIVEIRA

AVALIAÇÃO CLÍNICA, HEMATOLÓGICA E MEDULAR DE CÃES
NATURALMENTE INFECTADOS COM *Leishmania infantum chagasi*



Profa. Dsc. Veridiana Fernandes da Silveira
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia



Profa. Fúlvia Karine Santana Santos Bispo
União Metropolitana de Educação e Cultura



Prof. Dsc. Raul Rio Ribeiro
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

Cruz das Almas, 17 de fevereiro de 2014.

Dedico este trabalho a todos os animais pelo amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

A Deus por estar sempre presente na minha vida, protegendo e guiando meus passos. Pela força e coragem concedidas para superar os obstáculos e realizar os meus sonhos, por nunca permitir que as adversidades fossem insuperáveis por colocar anjos no meu caminho alegrando a minha jornada.

Aos meus pais José Evandro Matos de Oliveira e Sônia Carvalho Matos de Oliveira pela dedicação e empenho para que eu conseguisse chegar até aqui, abrindo mão de muita coisa em prol da minha felicidade. Nenhuma palavra será suficiente para descrever o meu amor e a minha gratidão. Meu maior exemplo de caráter e simplicidade! Amo vocês!

Aos meus irmãos Eliandro Carvalho Matos de Oliveira, Ricardo Carvalho Matos de Oliveira e Luísa Carvalho Matos de Oliveira, pelo carinho e apoio em todos os momentos da minha vida. Amo vocês!

Aos meus amores Hellen e Emile e Eros, por cada abraço apertado, cada sorriso, cada carinho. Amo vocês muito!

Ao meu noivo Marcos Vinícius Mota Santos Leal pelo Companheirismo, Amor, Atenção, Carinho e Paciência nos momentos mais difíceis, nos momentos de distância e ausência, apostando sempre no meu potencial. Meu estímulo para viver. Meu príncipe mais lindo! Amo você!

Aos meus saudosos Avós Adalberto Moreira de Carvalho e Maria Dulce de Carvalho (*in memoriam*), agradeço pela grande contribuição dada na minha vida através dos bons exemplos deixados. Saudades vovó!

A minha orientadora Professora Veridiana Fernandes da Silveira pela orientação na faculdade e na vida, pela oportunidade de iniciar no meio científico e pela confiança depositada em mim. Obrigada Veri!

Aos meus professores em especial o professor Raul Rio Ribeiro, pelos ensinamentos e incentivo. Ao Professor Alexandre Moraes Pinheiro, pelo exemplo de profissional. A professora Cristiane Silva Aguiar pelos primeiros contatos com a medicina veterinária, antes de tudo uma grande amiga. Obrigada Cris!

A professora Andrea Vita Reis Mendonça, pelo auxílio imprescindível na conclusão deste trabalho. Muito obrigada por disponibilizar parte do seu tempo para nos auxiliar.

Aos meus colegas e amigos da faculdade pelos 5 anos de convivência, pelas experiências vividas, pelos bons momentos, que fizeram a saudade de casa diminuir um pouco. Enfim todos médicos veterinários! Em especial a Lu, Jerusa, Mel, Rafa, Manel, Rê, Monna, Mary e Cau. Amigos que quero levar para toda a vida!

A todos os meus amigos pelo carinho, apoio, diversão e compreensão nos momentos distantes. Vocês fazem a minha vida mais feliz!

Por fim e não menos importantes a todos os meus animais, Lab 1 e 2, Nega, Xuxa, Cebo, Fofuxo, Pássaro preto, Bolinha, Lalinha, Lassie, Lobinho e Marley pelo amor incondicional oferecido! Com eles eu tive a certeza que somos muito mais felizes quando convivemos com um animal. Saudades de todos!

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar. Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

OLIVEIRA, S.C.M. **Avaliação clínica, hematológica e medular de cães naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi***. 2014. 66p. Monografia (graduação em Medicina Veterinária) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

RESUMO

A leishmaniose é uma antropozoonose de grande impacto na saúde pública, pois o cão é o principal reservatório do parasito, o que gera dificuldade no controle da doença. O objetivo foi realizar a avaliação clínica, hematológica e medular de cães com diferentes formas clínicas de leishmaniose visceral. Foram selecionados 19 cães adultos, SRD, machos e fêmeas, sorologicamente reagentes e parasitologicamente positivos para *Leishmania* spp. e alocados no canil experimental do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Os animais foram agrupados em sub-clínicos e clínicos de acordo com a presença e quantidade de sinais clínico-patológicos da doença. Na classificação clínica foram encontrados (12/19) 63,2% sub-clínicos e (7/19) 36,8% clínicos. Na avaliação hematológica foi identificada anemia normocítica normocrômica em 26,3% (5/19) dos animais; 47,4% (9/19) apresentaram anisocitose, 15,8% (3/19) policromasia e trombocitopenia. Encontrou-se leucocitose por neutrofilia e desvio à esquerda regenerativo em 10,5% (2/19), 5,3% (1/19) apresentou apenas desvio à esquerda, 15,8% (3/19) linfocitose e 15,8% (3/19) linfopenia, 21,1% (4/19) monocitose e 5,3% (1/19) basofilia. Foram observados linfócitos reativos em 21,1% (4/19) e monócitos ativados em 26,3% (5/19). Na avaliação da medula óssea 52,6% (10/19) apresentaram-se hematopoeticamente ativos, 36,8% (7/19) hipoplasia mielóide com 28,6% (5/19) associada à discreta hiperplasia eritróide, e 10,5% (2/19) apresentaram hiperplasia mielóide. A presença do parasito foi identificada em 10,5% (2/19) dos animais. A análise estatística Qui Quadrado evidenciou que os desvios não foram significativos e que não houve dependência entre as variáveis: classificação clínico-patológica e alterações medulares. Diante dos resultados pôde-se concluir que os achados hematológicos e medulares nem sempre estão relacionados com a forma de apresentação clínica da doença, pois estas dependem da associação de vários fatores como a carga parasitária, o sistema imunológico do hospedeiro e o estágio da doença. Assim, os exames laboratoriais são auxiliares e imprescindíveis para a avaliação e o monitoramento de animais infectados com *Leishmania infantum chagasi*.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, medula óssea, cães, hipoplasia, anemia, linfadenopatia.

OLIVEIRA, S.C.M. **Clinical, haematological and bone marrow evaluation of naturally infected dogs with *Leishmania infantum chagasi***. 2014. 66p. Monograph (graduation in Veterinary Medicine) Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas.

ABSTRACT

Leishmaniasis is an anthroponosis which causes large public health impact, for dogs are the main reservoir of the parasite, which makes hard to control the disease. The aim of this work was to evaluate clinical, haematological and bone marrow of different clinical forms of visceral leishmaniasis in dogs. We used 19 adult dogs with both genders. All animals were positive to *Leishmania* spp. by ELISA, RIFI and parasitological examination. All animals stayed in the experimental kennel Institute of Biological Sciences (ICB), Federal University of Minas Gerais (UFMG). Animals were divided in sub-clinical and clinical group according the presence of clinical and pathological signs of disease. Clinical evaluation shows that 63,2% (12/19) and 36,8% (7/19) of animals were sub-clinical and clinical respectively. Hematological evaluation showed normochromic normocytic anemia in 26.3% (5/19) of animals; followed by anisocytosis 47.4% (9/19), 15.8% (3/19) and thrombocytopenia polychromasia. Plus, it was found neutrophilic leukocytosis and regenerative left shift in 10.5% (2/19), 5.3% (1/19) showed only a left shift Lymphocytosis 15.8% (3/19) and 15.8% (3/19), lymphopenia, monocytosis 21.1% (4/19) and 5.3% (1/19) basophils. Reactive lymphocytes were observed in 21.1% (4/19) and 26.3% in activated monocytes. In bone marrow 52.6%(10/19) exhibited hematopoetically active, 36.8% (7/19) 28.6% (5/19) myeloid hypoplasia associated with mild erythroid hyperplasia, and 10.5% (2/19) showed myeloid hyperplasia. The presence of the parasite was identified in 10.5% (2/19) of animals. Statistical analyses do not show any significant between clinic pathological evaluation and bone marrow alterations. Given to the results we can conclude that the hematological and bone marrow findings are not always correlated with the clinical presentation of the disease, as those depend on the combination of several factors such as the parasitic load, the immune system of the host and stage of disease. Thus, laboratory tests are subsidiary and essential to the evaluation and monitoring of animals infected with *leishmania infantum chagasi*.

Keywords: visceral leishmaniasis, bone marrow, dogs, hypoplasia, anemia, lymphadenopathy.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1** . Agulhas Komiyashiki , específicas para colheita de medula óssea 30
- FIGURA 2.** **a.** Tricotomia e antissepsia do local da punção; **b.** inserção da agulha Komiyashiki para retirada do aspirado medular; **c.** fixação da agulha para colheita de medula óssea; **d.** retirada do mandril..... 30
- FIGURA 3.** **e.** Punção de medula óssea na crista ilíaca; **f.** depósito da medula óssea em placa de petri; **g.** observação das espículas; **h.** confecção das lâminas de medula óssea por *squash*. 31
- FIGURA 4.** Frequência de alterações clínicas em cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. 39
- FIGURA 5.** **a.** Presença de espículas semelhante a material gelatinoso. **b.** Gordura visivelmente observada, indicando que trata-se de material medular.. 45
- FIGURA 6.** Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a. b. e d.** Medula com alta celularidade, megacariócitos (setas), 10x; **c.** Medula hematopoeticamente ativa, megacariócitos (setas), 10x. **e. e f.** Medula com baixa celularidade, megacariócito (seta), 10x..... 53
- FIGURA 7.** Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a.** promielócito (1), mieloblasto (2), promonócito (3), 100x. **b.** promielócito (4), neutrófilo bastonete (5), metarrubricito (6), 100x. **c.** prorubricito (7), rubriblasto (8), rubricito basofílico (9), rubricito policromatófilico (10), 100x. **d.** Plasmócito, 100x. **e. e f.** Plasmócito contendo corpúsculo de Russel (célula *Mott*) (11), 100x..... 53
- FIGURA 8.** Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a.** macrófago realizando eritrofagocitose, presença de hemossiderina, **b. c. e d.** macrófago contendo *Leishmania (L.) infantum chagasi*, **e.** megacariócito maduro, **f.** megacariócito basofílico, **g.** rubroblasto binucleado, **h.** mieloblasto (1), neutrófilo segmentado (2) e prorubricito (3), 100x..... 55

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1. Método de pontuação utilizado para categorizar cães naturalmente infectados por <i>Leishmania infantum chagasi</i> em grupos, conforme quadro clínico, Segundo Junior, (2013), adaptada de Miró et al., (2011)..	29
QUADRO 2. Estado de consciência e condição corporal identificados por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	33
QUADRO 3. Linfadenopatia observada por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	34
QUADRO 4. Coloração de mucosas observada por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	36
QUADRO 5 . Dermatopatias encontradas por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	38
QUADRO 6. Classificação clínica realizada por meio de exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	40
QUADRO 7. Avaliação hematológica de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	43
QUADRO 8. Avaliação do leucograma de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	45
QUADRO 9. Avaliação citológica de aspirado medular de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> apresentando diferentes formas clínicas.	49
QUADRO 10. Avaliação descritiva do mielograma de cães (N=19) naturalmente infectados com <i>Leishmania infantum chagasi</i> nas diferentes formas clínicas.	50

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AL	Alopecia
BAS	Basófilos
BAST	Neutrófilos bastonetes
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
DE	Dermatite esfoliativa
ELISA	Ensaio imunoenzimático
EOSIN	Eosinófilos
HB	Concentração de hemoglobina
HC	Hiperkeratose
HCM	Hemoglobina corpuscular média
HE	Número de eritrócitos
HI	Hipotricose
HIPER	Hiperatividade
LEUC	Leucócitos
LINF	Linfócitos
M:E	Relação mieloide:eritróide
MON	Monócitos
ON	Onicogribose
PCR	Reação em cadeia pela polimerase
PLASM	Plasmócitos
PLT	Contagem de plaquetas
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
SEG	Neutrófilos segmentados
SRD	Sem raça definida
SS	Seborréia seca
SU	Seborréia úmida
UL	Úlcera
VCM	Volume corpuscular médio
VG	Volume globular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	15
2. REVISÃO DE LITERATURA	17
2.1 Histórico	17
2.2 Agente etiológico e ciclo biológico	18
2.3 Patogenia e resposta imune	20
2.4 Alterações hematológicas e medulares	21
2.5 Sinais clínicos	23
2.6 Diagnóstico	24
2.7 Controle e profilaxia	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	28
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5. CONCLUSÕES	57
6. REFERÊNCIAS	58

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma doença cosmopolita, provocada por diferentes espécies de *Leishmania*. É considerada uma patologia infecciosa grave que afeta as vísceras e quando não tratada corretamente pode ser fatal, pois a resposta imunológica não é eficiente contra o parasito (SILVA, 2007).

Do ponto de vista clínico, a leishmaniose divide-se classicamente em visceral e tegumentar, cujos agentes etiológicos são protozoários de diferentes espécies do gênero *Leishmania*, pertencente à família Trypanosomatidae (MICHALICK, 2004). Os principais vetores da leishmaniose visceral no Brasil são as fêmeas infectadas dos flebotomíneos, *Lutzomyia longipalpis* e *Lutzomyia cruzi*. *Lutzomyia longipalpis* apresenta maior importância, pois está presente em todo o território brasileiro (BRASIL, 2010).

O diagnóstico da leishmaniose visceral canina ainda é hoje uma grande problemática dentro da saúde pública, em decorrência da quantidade e variedade dos sinais clínicos apresentados pelos animais, comuns a diversas enfermidades infecciosas. Segundo Mancianti et al. (1988), os animais podem ser classificados de acordo com a quantidade e os sinais clínicos apresentados, em assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos, objetivando facilitar o diagnóstico clínico desta patologia. Além disso, os testes laboratoriais preconizados pelo Ministério da Saúde Ensaio Imunoenzimático (ELISA) e Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) não apresentam 100% de especificidade e sensibilidade e os exames histopatológicos podem apresentar alterações inespecíficas e inconclusivas (BRASIL, 2003).

O método diagnóstico mais seguro da LVC é o parasitológico, cuja especificidade é de 100% e a sensibilidade é influenciada pelo nível de parasitismo, o material coletado e o seu processamento, o estágio em que a doença encontra-se e da habilidade do observador. O objetivo é visualizar formas amastigotas do parasito em amostras oriundas de aspirado de medula óssea, linfonodos, baço e em biópsia hepática e de pele (FEITOSA, 2001; LAURENTI, 2009).

O estudo da medula óssea vem sendo utilizado como uma ferramenta diagnóstica dentro da Medicina Veterinária, pois possibilita observar desordens hematológicas

primárias, presença de agentes infecciosos e alterações neoplásicas, influenciando no prognóstico de inúmeras patologias (GRINDEM et al., 2002).

As alterações medulares contribuem tanto no diagnóstico confirmatório da LVC, por meio da observação do parasito, quanto no prognóstico clínico laboratorial em virtude das alterações hematopoiéticas encontradas. No entanto, ainda são necessários estudos que possibilitem estabelecer um padrão hematológico medular para diagnóstico da LVC de acordo com as diferentes formas clínicas observadas nos animais (REIS et al., 2006).

Desta forma, este trabalho tem por objetivo realizar a avaliação clínica, hematológica e medular em cães (naturalmente infectados) com *Leishmania infantum chagasi*. O presente estudo é uma importante ferramenta para o clínico veterinário, pois auxilia no diagnóstico e na compreensão do desenvolvimento desta doença, principalmente em casos assintomáticos, devido às dificuldades encontradas no diagnóstico clínico.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Histórico

As leishmanioses representam um crescente problema de saúde pública em vários continentes, como americano, asiático, europeu e africano bem como no Brasil onde é considerada uma das endemias de interesse prioritário. A leishmaniose está inserida na lista das seis doenças consideradas prioritárias no programa de controle da Organização Mundial de Saúde (OMS) (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1990), por apresentar-se como zoonose, antroponose ou antropozoonose, sendo que nesta última o homem atua como reservatório no ciclo de transmissão do parasito (PASSOS et al., 1993).

Existe uma estimativa de 500.000 novos casos de LVC por ano, sendo considerada endêmica em mais de 72 países, estando estes números em constante ascensão. Aproximadamente 90% de todos os casos de leishmaniose visceral ocorrem em Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão e Brasil (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2001).

Os primeiros casos de leishmaniose visceral (LV) foram relatados na Índia em 1885, no entanto, o agente causador desta enfermidade, *Leishmania donovani* foi descoberto e descrito somente alguns anos mais tarde, em 1903, por William Boog Leishman e Charles Donovan (LEISHMAN, 1903).

O primeiro relato da doença no Brasil ocorreu durante a epidemia de febre amarela ocorrida no Nordeste brasileiro em 1934. O médico patologista Dr. Henrique Penna examinou 47 mil amostras de fígado e observou em 41 casos, estruturas que atribuiu serem de *Leishmania*. Estes resultados sugeriram que o Nordeste, em especial o Ceará, apresentava os principais focos da doença (LAINSON e RANGEL, 2005).

O primeiro documento de epidemia urbana brasileira ocorreu em Teresina, no estado do Piauí, no início da década de 80. Novas epidemias foram descritas mais tarde nas cidades de Natal, Estado do Rio Grande do Norte e São Luís no Estado do Maranhão (JERONIMO et al., 1994; SILVA et al., 1997).

Segundo dados da Funasa (2004), o comportamento epidemiológico da leishmaniose visceral é cíclico, evidenciado pela elevação dos casos em períodos

médios a cada cinco anos, apresentando uma tendência crescente, considerando o período de 1980 até agora. O aumento do número de casos registrados, nos últimos anos, explica-se pela modificação do modo de ocorrência geográfica, com o registro de casos em muitos centros urbanos, o que caracteriza uma expansão da área tradicional de ocorrência da doença, a zona rural, em virtude do intenso processo migratório da população rural para a periferia das cidades de médio e grande porte (FUNASA, 2004).

Estes fatores influenciam para o aumento tanto da morbidade e mortalidade infantil quanto na redução da capacidade de trabalho da população, prejudicando o desenvolvimento econômico das regiões atingidas e intensificando um grave problema de saúde pública (GONÇALVES et al., 1986; VIEIRA, 1987).

A expansão geográfica e o processo de urbanização da LVC demonstraram a necessidade de implantação de alternativas de controle mais eficazes. A presença de cães infectados foi observada em diversos estudos sobre epidemias urbanas (SILVA et al., 2001).

Em grande parte dos casos o aparecimento da doença humana está relacionado à doença, no entanto, existem questionamentos sobre a real posição da leishmaniose visceral canina como fator de risco para a doença humana (CAMARGO-NEVES et al., 2001).

2.2 Agente etiológico e ciclo biológico

A leishmaniose é causada por protozoários parasitos que pertencem ao Filo Protozoa, Ordem Kinetoplastida, Família Trypanosomatidae, Gênero *Leishmania* (LAINSON et al., 1987).

A classificação inicial de leishmania foi baseada em grande parte no tropismo do parasita por determinados órgãos, nas características clínico-patológicas e epidemiológicas da leishmaniose humana (TURK e BRYCESON, 1971), bem como, em reações sorológicas utilizando anticorpos de coelho (NOGUCHI, 1926).

São conhecidas até o momento mais de 30 espécies de *Leishmania*, destas aproximadamente 20 espécies são patogênicas para os humanos (DESJEUX, 2004). Na África, Europa e Ásia, *Leishmania donovani* e *Leishmania infantum* são

as espécies causadoras da LV. Nas Américas, o agente etiológico encontrado é o *Leishmania chagasi*. A *L. donovani* é responsável pela infecção em humanos, enquanto que a *L. infantum* e *L. chagasi* provocam a leishmaniose visceral tanto nos humanos quanto em cães (MICHALICK e GENARO, 2005). Segundo Maurício et al. (2000), dados genéticos e enzimáticos são provas conclusivas de que as espécies *L. infantum* e *L. chagasi* podem ser consideradas sinônimos.

O parasito possui ciclo biológico heteroxênico, utilizando dois hospedeiros, sendo um vertebrado, representado por canídeos silvestres e domésticos, além de roedores e humanos, e um invertebrado, representado pelo inseto vetor (SCHLEIN, 1993). O invertebrado, popularmente conhecido por flebotomíneo, pertencente à ordem díptera, família psychodidae, subfamília phlebotominae, gênero *lutzomyia* no novo mundo, *phlebotomus* no velho mundo, alberga a forma flagelada, promastigota, dentro do seu tubo digestivo (DESJEUX, 1996; BRASIL, 2006).

Aproximadamente 460 espécies de *Lutzomyia* têm sido identificadas nas Américas e destas, cerca de 30 foram confirmadas como vetores da leishmaniose (DESJEUX, 1991).

Um estudo realizado por Lainson e Rangel em 2005, demonstrou a importância das áreas de floresta como locais de procriação dos flebotomíneos. Contudo, nos últimos anos, está se verificando um acúmulo de flebotomíneos no ambiente peridomiciliar podendo estar relacionado à sua migração a partir do ambiente silvestre ou ainda ao estabelecimento de um ambiente de procriação secundário.

De acordo com LAINSON et al (1987), o ciclo se inicia quando o vetor se contamina com formas amastigotas de leishmania presentes no interior dos macrófagos, da pele do hospedeiro infectado durante o repasto sanguíneo. Na porção média do trato digestivo do inseto, ocorre a transformação das formas amastigotas em promastigotas, e a multiplicação destas até originarem as promastigotas metacíclicas infectantes, em média esta fase tem duração de 3 a 4 dias. Após um novo repasto sanguíneo, as fêmeas dípteras, inoculam as formas promastigotas metacíclicas infectantes em um novo hospedeiro, estas retornam à forma amastigota ao serem fagocitadas pelos macrófagos, irão se multiplicar até rompê-los, sendo então, fagocitadas por novos macrófagos. Assim ocorre a

disseminação hematogena para os tecidos ricos em células do sistema monocítico fagocitário como: linfonodos, fígado, baço e medula óssea.

2.3 Patogenia e resposta imune

A LVC é considerada uma doença imunomediada pelo fato do parasito conseguir burlar a resposta imunológica do hospedeiro (PINELLI et al., 1994). A invasão do hospedeiro pelo parasito envolve mecanismos da imunidade inata e adaptativa. A imunidade inata tem importante função na disseminação do parasita, pois os neutrófilos são as primeiras células a surgir no local de infecção, dando início à fagocitose, seguidos pelos macrófagos (SANTOS-GOMES et al., 2002).

Após ser inoculada no mamífero, a *Leishmania* sofre fagocitose ou penetra nas células do sistema fagocítico mononuclear, onde internaliza o flagelo deixando de ser promastigota e se transformando em amastigota. Se a resposta imunológica não for capaz de destruir o parasito, ocorre sua multiplicação intracelular, dando início ao quadro infeccioso da doença (BACELLAR et al., 2005).

Segundo Reis et al. (2006), para que ocorra o estabelecimento da infecção o parasito precisa sobreviver ao processo de fagocitose, por meio de mecanismos como a invasão em células-alvo seguras, inibição da formação do fagolisossomo remoção dos radicais hidroxilas e ânions superóxidos, inibição da degradação das enzimas do fagolisossomo e transformação em amastigota, pois esta forma apresenta maior resistência ao óxido nítrico, peróxido de hidrogênio e ao pH do fagolisossomo.

A cronicidade da doença pode estar associada à uma resposta imune exacerbada ou inativa, resultando assim, na incapacidade do hospedeiro em controlar a infecção (FOLI et al., 1995). De acordo com Luvizoto (2006), o desenvolvimento da doença depende do tipo de resposta imune provocada no hospedeiro. A ativação da resposta Th1, mediada por células e produção de *interferon gama*, fator de necrose tumoral e IL-2 e IL-12 está associada resistência à doença. Em contrapartida, a ativação da resposta Th2 com a expansão e proliferação de células B e produção de IL-4, IL-6 e IL-10 ocorrem nos indivíduos susceptíveis. A resposta humoral provoca aumento dos níveis séricos de imunoglobulinas, formação de imunocomplexos e deposição em diferentes órgãos, provocando graves lesões teciduais.

A elevação nos níveis de anticorpos não impede a progressão da doença e parece estar associada a uma diminuição da imunidade celular (ROSA, 2005). O aspecto mais importante na patogênese e desenvolvimento da leishmaniose visceral é a ineficiência da imunidade celular. Esta falha pode ser observada pela reação de hipersensibilidade de tipo tardia negativa para *Leishmania* (SACKS e NOBEN-TRAUTH, 2002).

2.4 Alterações hematológicas e medulares

Os achados hematológicos de cães com LVC não são muito utilizados como forma de diagnóstico desta doença. No entanto, estes parâmetros podem atuar como importantes biomarcadores no acompanhamento da evolução clínica dos animais infectados e auxiliar no entendimento da patogenia da LVC (REIS et al., 2006).

Não existe um padrão de leucograma em cães acometidos pela doença. Alguns animais apresentam leucocitose com desvio à esquerda regenerativo ou ainda leucopenia, por neutropenia ou mesmo perfil leucocitário normal (VAL, 2004). Alguns animais, nas fases finais da doença, podem possuir a contagem plaquetária normal, ou ainda trombocitopenia (FEITOSA, 2001).

Em um estudo sobre as alterações hematológicas de 191 cães infectados naturalmente com *Leishmania chagasi*, Ikeda et al. (2003), observaram que, tanto a linfocitose e linfopenia, foram encontrados em animais apresentando quadros clínicos brando e severo.

De acordo com Nicolato et al. (2013), foi observada intensa anemia, seguida de eosinopenia, linfopenia e monocitopenia decorrentes de alterações hematológicas associadas a intensidade dos sinais clínicos observados. Os animais classificados como sintomáticos apresentaram uma anemia mais grave com valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito significativamente mais baixos, quando comparados aos animais assintomáticos.

Um achado laboratorial muito frequente em cães com leishmaniose visceral é a anemia que na maioria das vezes é grave e ocorre por redução da eritropoiese decorrente de hipoplasia ou aplasia medular e ainda devido à destruição de células no baço (SILVA, 2007).

A medula óssea apresenta-se como o principal órgão linfóide e hematopoético, o seu exame tem sido amplamente realizado para diagnóstico das doenças do sistema hematopoético, avaliação do estadió das neoplasias e para pesquisa de parasitos. Tem sido utilizada também para a coleta de material e a infusão de medicamentos com objetivo terapêutico. As indicações para a avaliação da medula óssea são precedidas de anormalidades observadas no hemograma (ALENCAR et al., 2002).

O estudo da celularidade na medula óssea de cães positivos para a leishmaniose visceral ainda é pouco discutido por hematologistas e parasitologistas. Alguns autores relatam ocorrência de hiperplasia de algumas células precursoras como granulócitos, proporcionando um aumento da relação mielóide:eritróide. Alterações como aumento na população de monócitos, macrófagos, plasmócitos e células de *Mott* que indicam uma resposta ao estímulo antigênico associada à infecção medular (ANOSA e IDOWU, 1983; YAMAGUCHI et al., 1983).

A medula óssea na leishmaniose visceral se assemelha a outros órgãos linfóides, apresentando hipertrofia e a hiperplasia das células. Há casos em que ocorre hipoplasia e aplasia medular que pode resultar em anemia e trombocitopenia (KRAUSPENHAR et al., 2007).

Existem poucas informações a respeito das alterações medulares encontradas em cães infectados *Leishmania infantum*. O aumento na população de monócitos, macrófagos e plasmócitos são relatados tanto em cães quanto em humanos (TRYPHONAS et al., 1977). Registra-se ainda eritrofagocitose e displasia eritróide, hipoplasia eritróide, hiperplasia mielóide neutrofílica e eosinofílica (MANZILLO et al., 2006).

Segundo Abreu (2008), as principais alterações observadas na série vermelha foram à redução no número de proeritroblastos, eritroblastos policromáticos e ortocromáticos nos grupos infectados quando comparado aos cães não infectados. Avaliando microscopicamente as lâminas, foi observada maior divisão mitótica de células da série eritropoética nos cães sintomáticos e não foram encontradas alterações patológicas como eritrofagocitose e displasia eritróide.

De acordo com Neves (2005), no início do quadro infeccioso, tanto a eritropoese quanto a granulopoese são normais. Com o agravamento, nas fases mais

adiantadas da infecção, ocorrem alterações na hematopoese, constituída pela diminuição da produção celular, evidenciada no quadro hematológico, alternando com períodos sucessivos de hiperplasia e hipoplasia, resultando posteriormente em aplasia medular.

Em estudo sobre a resposta medular de cães infectados por *Leishmania chagasi* com diferentes formas clínicas e densidade parasitária, Abreu et al., (2011), verificaram que o estado clínico e carga parasitária influenciam a relação de proporção entre o índice de maturação relativo e a celularidade da medula óssea. Estes dados foram calculados com o objetivo de avaliar a resposta da medula óssea.

Existe uma grande variedade de alterações observadas na medula óssea de acordo com a fase da doença em que se encontra. Durante a fase aguda da leishmaniose visceral ocorre hiperplasia da série leucocitária, podendo estar ou não associada à eritrocitária demonstrada pela proliferação linfoblástica, monócitos reativos, podendo conter formas amastigotas do parasito, plasmocitose, hemossiderose, com destaque para aumento da celularidade de eosinófilos e seus precursores. No decorrer da doença, pode ser observado no exame citológico e histológico a hipocelularidade das séries eritrocitárias e leucocitárias, macrófagos repletos de hemossiderina, indicando acúmulo de ferro não utilizado para produção de hemácias desencadeando uma anemia profunda (LUVIZOTTO, 2006).

2.5 Sinais clínicos

De acordo com Badaró et al., (1986), a evolução clínica da doença depende de alguns fatores relacionados à resposta imunológica do hospedeiro, ao poder de virulência do parasito, bem como, da faixa etária e estado nutricional do paciente.

Em humanos esta patologia afeta principalmente crianças com idade em torno de um a quatro anos, sendo considerada uma doença espectral pelo fato de possuir várias apresentações clínicas que variam de formas assintomáticas, até a forma sintomática caracterizada, pela presença de febre, anemia, hepato e esplenomegalia, hemorragia, linfadenomegalia, perda de peso, taquicardia e menos frequentemente, a tosse seca e diarreia. À medida que a doença se torna crônica

surgem os sinais de desnutrição que incluem alterações na pele e unhas, edema periférico e queda de cabelos (BADARÓ et al., 1986).

Na LVC humana mesmo não havendo sinais clínicos patognomônicos da doença, os considerados mais comuns são as alterações cutâneas, linfadenomegalia seja ela local ou generalizada, a perda de peso, hepato e esplenomegalia, onicogribose (crescimento das unhas) e apatia (MAIA e CAMPINO, 2008).

Segundo CIARAMELLA et al., (1997), os principais sinais clínicos apresentados são a caquexia, anemia, linfadenopatia, hepato e esplenomegalia, além da hipergamaglobulinemia. As alterações cutâneas observadas são caracterizadas pela presença de úlceras crostosas nas orelhas, focinho e região periorbital, descamação decorrente de hiperqueratose e alopecia local ou generalizada. No exame citológico de pele de orelha pode ser observada a presença de formas amastigotas do parasito.

Em estudo realizado na Itália, Mancianti et al., (1988), verificaram que os cães com LVC podem ser classificados e agrupados de acordo com os sinais clínicos que apresentam. Os assintomáticos não possuem sinais característicos da infecção. Os oligossintomáticos apresentam pelo menos dois sinais clínicos, sendo estes linfadenopatia, perda de peso e/ou pelagem opaca. Os sintomáticos apresentam todos ou alguns dos sinais da doença.

A leishmaniose visceral é uma doença considerada crônica, fatal e sistêmica provocando alterações em tecidos cutâneos e vísceras. Os cães podem ser assintomáticos, porém quando sintomáticos, na maioria dos casos apresentam mais de um sinal clínico (FREITAS, 2012).

2.6 Diagnóstico

Ainda é complexo e extremamente precário o diagnóstico clínico da LVC, isso se justifica pelo fato dos sinais clínicos da doença serem bastante variáveis e inespecíficos. Somado a isto, a imunossupressão causada por *Leishmania* pode ainda facilitar a instalação de infecções oportunistas, o que dificulta ainda mais o seu diagnóstico (SILVA, 2007).

Segundo Gontijo e Melo (2004), existem diferentes técnicas que podem ser utilizadas para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana e canina e muitos foram os avanços nos últimos anos. Mas, apesar da quantidade de testes disponíveis nenhum apresenta 100% de sensibilidade e especificidade.

O diagnóstico das leishmanioses se baseia inicialmente em dados clínicos e epidemiológicos, sendo confirmado por meio de técnicas parasitológicas, sorológicas ou moleculares. A técnica parasitológica consiste na demonstração direta do parasito, feita pela observação de formas amastigotas em material de biópsia de pele, linfonodos, aspirado de medula óssea e punção esplênica. Além deste, outro método parasitológico pode ser realizado por meio da cultura tanto *in vivo*, pela inoculação em hamsters, quanto *in vitro*, por meio da semeadura em meios de cultura específicos. Os testes imunológicos mais utilizados são a Intradermoreação de Montenegro, o ELISA (Ensaio Imunoenzimático) e RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta), no entanto, apresentam menor especificidade quando comparados às técnicas parasitológicas. O método molecular da Reação em Cadeia pela Polimerase (PCR) apresenta maior sensibilidade e especificidade, contudo é mais utilizado apenas para fins de pesquisa devido a seu elevado custo (BRASIL, 2010).

Atualmente os métodos de diagnósticos preconizados pelo Ministério da Saúde, para inquéritos em saúde pública são o teste rápido imunocromatográfico de duplo percurso (*Dual Path Platform – TR DPP*) que por ser um teste de triagem, permite que apenas amostras positivas sejam confirmadas por meio do teste (ELISA – teste confirmatório). Segundo o fabricante, os valores de sensibilidade e especificidade são superiores a 90% (BRASIL, 2011).

A suspeita diagnóstica da LV deve se basear em dados epidemiológicos, nos achados clínicos e laboratoriais, no entanto, o diagnóstico definitivo só pode ser confirmado pela presença do parasita em tecido infectado (PASTORINO et al., 2002).

O método definitivo de diagnóstico da LVC é a visualização de formas amastigotas em amostras de linfonodo, baço, medula óssea ou pele. Este teste apresenta 100% de especificidade. No entanto, a depender da coleta, do profissional e principalmente

da amostra obtida pode apresentar pequena carga parasitária e baixa sensibilidade do exame microscópico (GRADONI, 2002). A sensibilidade do esfregaço de linfonodos é de 40% a 50%, de medula óssea é de cerca de 60 a 75 %, (ALVAR et al., 2004), e do aspirado de chega a ser superior a 95 %, embora apresente alto risco de hemorragia, é um dos métodos diagnósticos mais valiosos (SUNDAR e RAI, 2002).

2.7 Controle e profilaxia

O aumento no número de casos positivos para a leishmaniose visceral, tanto em áreas endêmicas quanto não endêmicas, demonstra a grande necessidade da implantação efetiva de programas de ação e controle. Para isso é essencial o conhecimento do ciclo natural de transmissão do parasito (SOUZA et al., 2008).

As atuais estratégias adotadas pelo Programa de Controle da Leishmaniose Visceral estão focadas no controle do reservatório canino, por meio do inquérito sorológico e da eutanásia de animais positivos, bem como na aplicação medidas como a aplicação de inseticidas, diagnóstico e tratamento adequado dos casos humanos registrados. No entanto, estas ações não têm sido efetivas para redução da incidência da doença, pois muitas vezes são realizadas isoladamente, demonstrando a necessidade de reavaliação das propostas estabelecidas por este programa (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2003).

De acordo com Barata et al. (2011), trabalhos realizados demonstram que estas medidas são pouco representativas e apresentam baixa eficácia, pois não levam em consideração características particulares dos elementos que compõem esta cadeia epidemiológica, específicos de cada região.

A eliminação de cães positivos é alvo de controvérsias e tem sua eficácia limitada, pois possui alguns pontos que merecem ser considerados. Primeiro, o tempo entre os testes sorológicos e remoção de cães soropositivos. Segundo, o fluxo constante de animais para a população de cães com pouco ou nenhuma controle reprodutivo. Terceiro, a transmissão vertical entre a mãe e os filhotes que auxilia na manutenção da leishmaniose visceral dentro da população canina (BOGGIATTO et al., 2011).

Após estudos realizados por Dye (1996), concluiu-se que a eliminação de cães soropositivos é a medida de controle que resulta em menor impacto quando

comparada às demais. Ele reitera esta afirmação concluindo que os animais submetidos à eutanásia tendem a ser rapidamente substituídos por cães mais jovens e suscetíveis, reduzindo a eficácia desta estratégia, quando comparada ao controle do vetor, uso de medicamentos e vacinas.

Ribeiro e Michalick (2001) demonstraram por meio de ensaios matemáticos que o combate ao vetor deveria ser a primeira medida de controle da leishmaniose visceral, acompanhado pela redução da susceptibilidade à infecção, melhorando a condição nutricional das crianças, e utilizando vacinas. Recentemente, alguns debates incentivados pelo Ministério da Saúde sugerem mudanças na postura das autoridades sanitárias, objetivando priorizar o combate ao vetor na luta contra esta doença.

As recentes experiências direcionadas ao controle do vetor no reservatório canino utilizando coleiras impregnadas com deltametrina mostraram resultados promissores na proteção dos animais e influenciando diretamente no ciclo de transmissão (KILLICK-KENDRICK, 1999).

Com relação ao uso das vacinas Leishtec® e Leishimune®, como forma de proteção, o Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento (MAPA) notificou que as mesmas ainda não possuem recomendação para uso em saúde pública, pois continuam em fase de teste para que possam ser utilizadas para esse fim (MAPA, 2009).

De acordo com a portaria de 08 de Outubro de 2013 com decisão do Superior Tribunal Federal (STF) foi indeferido o pedido de suspensão da liminar 677 que suspendia a autorização do tratamento de cães positivos para LVC. O tratamento de cães positivos para a leishmaniose visceral com uso de drogas humanas ou não registradas é desaconselhado pelo MAPA e Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) (BRASIL, 2013).

3. MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 19 cães adultos, sem raça definida (SRD), machos e fêmeas do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) do Município de Santa Luzia, Minas Gerais. Estes animais foram alocados no canil experimental do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) em baias de aproximadamente três animais, recebendo alimento (ração comercial) e água *ad libidum*. A confirmação da infecção para *Leishmania* spp., foi realizada por meio da reatividade sorológica em RIFI e/ou ELISA além de diagnóstico parasitológico a partir de ao menos uma das amostras coletadas de cada animal (esfregaço medular, cultura de aspirado medula ou análise imuno-histoquímica de biópsia de pele da região da ponta da orelha).

Os animais foram examinados por meio de exame clínico completo quando foram avaliados, entre outros parâmetros a frequência cardíaca, frequência respiratória, temperatura retal, coloração de mucosas e tempo de perfusão capilar e os resultados anotados em fichas individuais. Os animais foram classificados em subclínicos ou clínicos para a LVC de acordo com a quantidade de alterações clínico-patológicas sugestivas da doença segundo Junior, (2013) adaptada de Solano-Gallego et al., (2011). Para a classificação, cada animal recebeu uma pontuação para 13 alterações clínico-patológicas encontradas e foi definido como portador de doença subclínica (≤ 5 pontos) ou doença clínica (> 5 pontos) (Quadro1).

QUADRO 1. Método de pontuação utilizado para categorizar cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum chagasi* em grupos, conforme quadro clínico, Segundo Junior, (2013), adaptada de Miró et al., (2011).

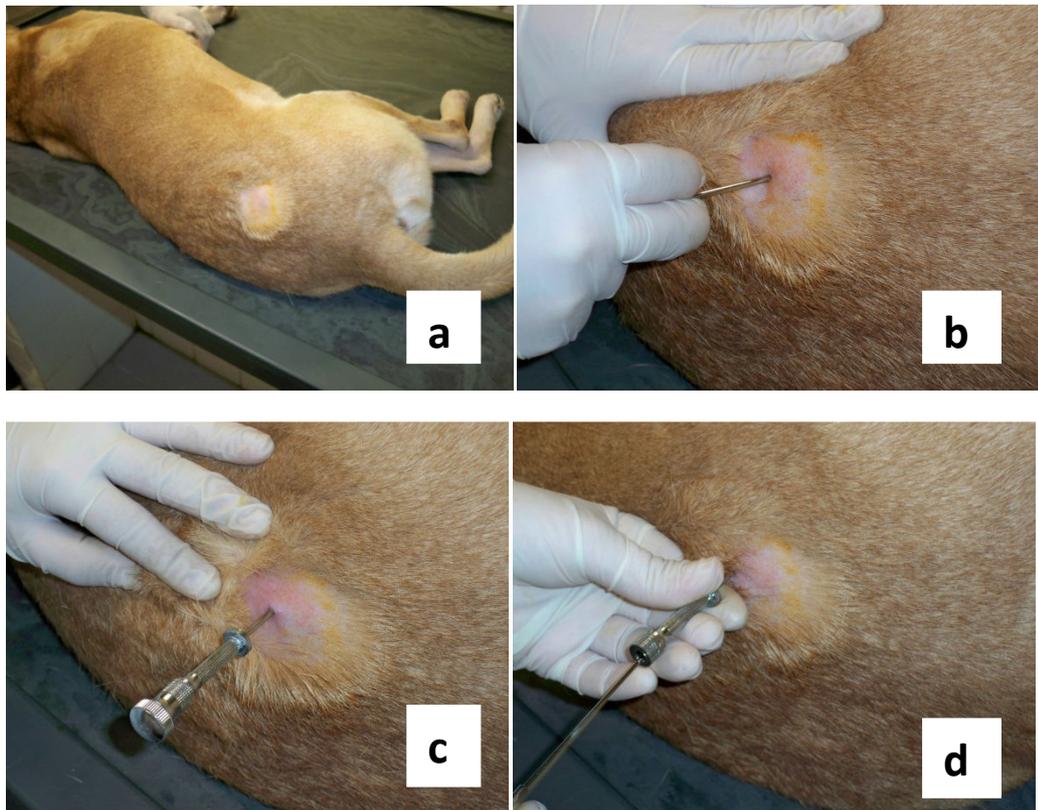
SINAIS CLÍNICOS	0	1	2
PESO	NORMAL	REDUZIDO	CAQUEXIA
LINFOADENOPATIA	AUSENTE	LOCALIZADA	GENERALIZADA
EPISTAXE	AUSENTE	MODERADA	SEVERA
DERMATITE ESFOLIATIVA	AUSENTE	MODERADA	GENERALIZADA
DERMATITE ULCERADA	AUSENTE	SIMPLES	MÚLTIPLA
ONICOGRIFOSE	AUSENTE	MODERADA	SEVERA
LESÕES OCULARES	AUSENTE	MODERADA	SEVERA
ESPLENOMEGALIA	AUSENTE	MODERADA	SEVERA
ANORMALIDADES CLÍNICO-PATOLÓGICAS	0	1	2
PROTEÍNA	NORMAL	ELEVADA	REDUZIDA
RELAÇÃO A/G	NORMAL	REDUZIDA	
URÉIA	NORMAL	ELEVADA	
CREATININA	NORMAL	ELEVADA	
CONTAGEM SANGUÍNEA COMPLETA	0=NORMAL		
	1=ANEMIA		
	2=LEUCOCITOSE		
	3=ANEMIA+LEUCOCITOSE		
	4=ANEMIA+LEUCOPENIA		

Foram colhidas amostras de sangue por meio de venipunção da jugular dos cães para a realização do hemograma (5 mL de sangue em tubos contendo anticoagulante, EDTA potássico à 10%), essas amostras foram processadas em Laboratório Clínico Veterinário comercial Hermes Pardini, Divisão Veterinária - Belo Horizonte/MG. Em seguida, os animais foram submetidos à tricotomia e anti-sepsia com iodo povidine degermante no membro posterior na extremidade da crista dorsal da asa do íleo, onde se procedeu a punção da medula óssea. Nos casos em que não foi possível a retirada de amostra de medula na crista ilíaca, o procedimento foi realizado no osso esterno. A punção aspirativa de medula óssea, foi realizada com auxílio de agulha Komiyashiki (Figura 1), (sempre precedido de anestesia geral com acepromazina 0,1 mL/kg/p.v.; tiopental sódico 0,5 mL/kg/p.v.) acoplada à seringa de 20 ml descartável contendo EDTA à 3% diluído em solução fisiológica estéril, sendo até 0,5 mL por 1,0mL de medula (ALENCAR et al., 2002) (Figura 2 e 3).



(FONTE: Kohayagawa, A.)

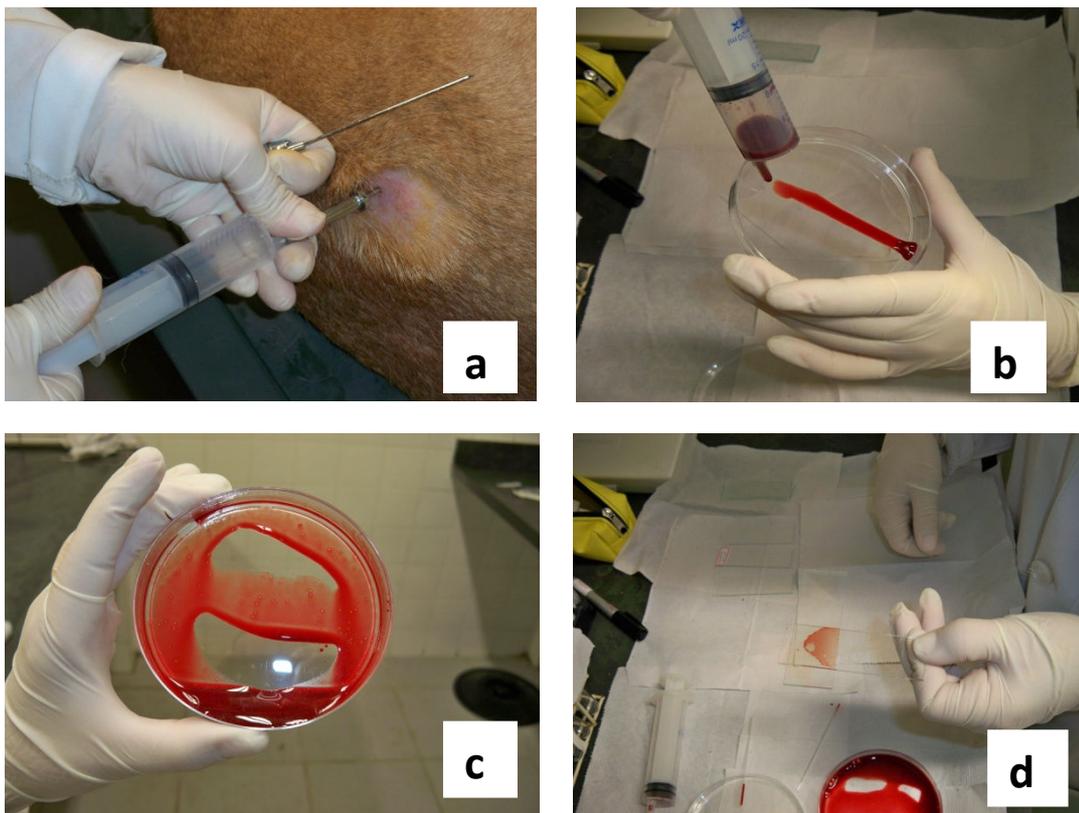
FIGURA 1. Agulhas Komiyashiki, específicas para colheita de medula óssea.



(FONTE: Acervo pessoal)

FIGURA 2 a. Tricotomia e antissepsia do local da punção; b. inserção da agulha Komiyashiki para retirada do aspirado medular; c. fixação da agulha para colheita de medula óssea; d. retirada do mandril.

Após a colheita, a medula óssea aspirada foi dispensada em placa de petri, onde as espículas presentes no aspirado medular foram capturadas com auxílio do tubo capilar para micro-hematócrito para a realização dos esfregaços medulares tipo *squash* (Figura 3). O objetivo deste procedimento foi concentrar as espículas no centro da lâmina, pois nestas se encontram as ilhas hematopoéticas que possibilitam a análise do ambiente medular. As lâminas foram fixadas ao ar e em seguida com metanol por 5 minutos. Posteriormente, as lâminas foram coradas com corante hematológico rápido e a classificação de diferenciação celular foi analisada em objetiva de 4x, 10x e 40x a celularidade, porcentagem de gordura, contagem de megacariócitos e em objetiva de imersão (100x) foi observada a morfologia e realizada a contagem diferencial em 500 células, além da avaliação de alterações significativas no ambiente medular provocadas pela presença do parasito da leishmaniose visceral canina, segundo Harvey, (2001).



(FONTE: Acervo pessoal)

FIGURA 3 a. Punção de medula óssea na crista ílica; b. depósito da medula óssea em placa de petri; c. observação das espículas; d. confecção das lâminas de medula óssea por *squash*.

Os dados foram apresentados na forma de média e a variabilidade na forma de desvio-padrão. A análise estatística realizada foi descritiva e a distribuição de frequência entre as diferentes variáveis foi realizada pelo teste Qui Quadrado considerando, Qui Quadrado tabelado (3,84) e Qui Quadrado calculado.

Este trabalho foi derivado do projeto intitulado de “**Avaliação imunológica e histopatológica de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) Chagasi*, tratados com antimoniato de meglumina encapsulados em lipossomas nanométricos e alopurinol**” que tem como responsável Wagner Luis Tafuri, aprovado em comissão de ética e experimentação animal (CETEA/UFMG), número de protocolo: 211/2007.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos achados do exame clínico: estado geral, linfadenopatia, coloração de mucosas, dermatopatias, classificação clínica, eritrograma, leucograma e mielograma estão representados nos quadros 2 ao 10 e nas figuras 6 à 8, respectivamente.

QUADRO 2. Estado de consciência e condição corporal identificados por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

EXAME CLÍNICO: ESTADO GERAL								
ANIMAL	ESTADO DE CONSCIÊNCIA				CONDIÇÃO CORPORAL			
	HIPER	ALERTA	APATIA	DEPRESSÃO	OBESIDADE	NORMAL	EMACIAÇÃO	CAQUEXIA
1		1				1		
2			1					1
3		1					1	
4			1				1	1
5		1				1		
6		1				1		
7	1					1		
8		1				1		
9		1				1		
10		1				1		
11		1				1		
12		1				1		
13		1				1		
14		1				1		
15		1				1		
16		1				1		
17		1				1		
18		1				1		
19		1					1	
TOTAL	1	16	2	0	0	15	3	2
PORCENTAGEM (%)	5,3	84,2	10,5	0	0	78,9	15,8	10,5

*HIPER: HIPERATIVIDADE

Analisando o estado de consciência, de acordo com o quadro 2, 16 animais (84%) (16/19) encontravam-se em estado de alerta, 2 animais (10,5%) (2/19) apresentaram apatia e apenas 1 animal (5,3%) (1/19) apresentou hiperatividade. Não foi observado nenhum animal em estado de depressão (Quadro 2).

Diferindo deste trabalho Marzochi et al., (1985), analisaram 40 animais positivos para leishmaniose no Rio de Janeiro e encontraram a apatia como achado clínico mais frequente, acometendo 71,4% dos animais. Estes dados se assemelham aos obtidos por Palis et al., (2007), que observaram a apatia em 46,2% dos animais positivos sorologicamente e parasitologicamente para a leishmaniose visceral. Moura (2012), encontrou números semelhantes aos obtidos neste trabalho, com apenas 5 animais infectados 14,3% que se apresentavam apáticos.

Em relação à condição corporal pôde-se observar que 79% (15/19) dos animais apresentaram condição corporal normal. Em 15,8% (3/19) dos animais, observou-se emaciação e em 10,5% (2/19), caquexia, não havendo registros de animais com obesidade (Quadro 2).

O emagrecimento foi um dos achados mais frequentes em pesquisas realizadas com animais soropositivos para leishmaniose visceral. Marzochi et al., (1985), observaram esta alteração presente em 100% dos animais estudados. Os dados obtidos por Assis et al., (2010), demonstram que 58% dos animais também apresentaram emagrecimento. Segundo dados de Abreu (2008), o emagrecimento moderado foi observado em 40,9% dos animais oligossintomáticos e 30,8% dos animais sintomáticos. Palis (2007), encontrou uma frequência de 61,6% animais com emaciação. Moura (2012), registrou o emagrecimento em 33,3% dos animais e a caquexia com frequência 14,3%. Estes dados diferem dos observados por Freitas et al., (2012), que obtiveram como sinal clínico mais frequente a caquexia acometendo 77,9% dos animais. Segundo Luvizzoto (2006), o emagrecimento pôde ser observado em cerca de 74,7% dos cães, sendo decorrente presença do parasito no trato gastrointestinal, o que compromete a função digestiva, esta alteração ocorre nos estágios crônicos da doença.

A presença de linfadenopatia foi observada em 94,7% (18/19) e apenas 1 dos 19 animais não apresentou a alteração palpável em nenhum dos linfonodos, confirmando a existência desta alteração em grande parte dos casos de

leishmaniose visceral (RIBEIRO et al., 2008). Foi observado o aumento nos linfonodos pré-escapulares em 18 animais (94,7%) (18/19), nos poplíteos em 13 animais (68,4%) (13/19) e nos submandibulares em 5 animais (26,3%) (5/19). Alguns animais apresentaram linfadenopatia em mais de um linfonodo (Quadro 3).

QUADRO 3. Linfadenopatia observada por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

EXAME CLÍNICO: ESTADO GERAL			
ANIMAL	LIFOADENOPATIA		
	SUBMANDIBULAR	PRÉ-ESCAPULAR	POPLÍTEO
1		1	
2	1	1	1
3	1	1	1
4		1	
5		1	1
6		1	1
7		1	1
8		1	1
9		1	
10	1	1	1
11	1	1	1
12		1	
13		1	1
14		1	1
15		1	1
16		1	1
17	-	-	-
18		1	
19	1	1	1
TOTAL	5	18	13
PORCENTAGEM (%)	26,3	94,7	68,4

Os linfonodos são importantes órgãos do sistema imunológico responsáveis pela filtração de todo o conteúdo dos vasos linfáticos. As infecções são detectadas pelos linfonodos, os mesmos desencadeiam reações de defesa, desta forma, estes órgãos sinalizam para diversas patologias (GETTY, 1986).

A linfadenopatia foi um dos achados mais observados, podendo se apresentar de forma generalizada ou localizada. Ciaramella et al., (1997), também observaram a presença de linfadenopatia, generalizada em 56,7% dos 150 animais estudados. Segundo Pinhão (2009), esta alteração foi detectada em 57 dos 158 animais estudados, correspondendo a 36,08% do total. Destes, 47,37% possuíam linfadenopatia generalizada, 31,58% apenas em linfonodos poplíteos, 9,6% em linfonodos retrofaríngeos e 3,8% em pré-escapulares. Este número foi ainda maior em estudo realizado por Feitosa et al., (2000), onde dos 215 cães soropositivos para leishmaniose visceral, 81% apresentaram linfadenopatia, sendo os linfonodos poplíteos os mais afetados corroborando com os achados de Pinhão (2009). De acordo com Lima et al., (2004), a linfadenopatia, generalizada foi observada em grande parte dos animais, no entanto, os linfonodos cervicais e poplíteos tiveram maior acometimento. Freitas et al., (2012), também encontraram maiores alterações nos linfonodos poplíteos. Alves et al., (2009), observaram linfadenopatia, mais frequente que nos linfonodos axilar e poplíteo, resultante da reatividade linfóide e proliferação de macrófagos na região medular. Com relação à localização mais frequente da linfadenopatia, todos os trabalhos estudados observaram os linfonodos poplíteos como os mais acometidos diferindo dos dados obtidos neste trabalho, que demonstrou um maior acometimento dos pré-escapulares seguido dos poplíteos.

Conforme a coloração das mucosas orais e oculares obteve-se os seguintes resultados: 42,1% (8/19) dos animais demonstraram mucosas normocoradas, 36,8% (7/19) hipocoradas e 26,3% (5/19) hiperacoradas (Quadro 4).

QUADRO 4. Coloração de mucosas observada por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

MUCOSAS			
ANIMAIS	HIPOCORADA	NORMOCORADA	HIPERCORADA
1		1	
2	1		
3		1	
4	1		
5	1		1
6		1	
7			1
8	-	-	-
9	1		
10	1		
11	1		
12		1	
13		1	
14			1
15		1	
16		1	
17		1	
18	1		1
19			1
TOTAL	7	8	5
PORCENTAGEM (%)	36,8	42,1	26,3

A maioria dos autores estudados observou a presença de mucosas hipocoradas como achado mais frequente com relação à coloração. Esta alteração está diretamente relacionada com a presença de anemia, pois se apresenta como um sinal característico da mesma. Magalhães et al., (2012), observaram que 14,7% dos 34 animais estudados apresentavam mucosas hipocoradas. Pinhão (2009), também observou este dado em 20,89% dos casos positivos. Marzochi et al., (1985), encontraram 33% dos animais analisados apresentando esta alteração. De acordo com Moura (2013), estes dados foram ainda maiores, pois ele observou mucosas hipocoradas em 62% dos animais positivos. Os resultados encontrados por outros autores foram diferentes dos obtidos neste trabalho, onde a presença de mucosas normocoradas foi o achado mais frequente.

Das diversas dermatopatias características da LVC, a mais observada foi a alopecia presente em (7/19) (36,8%). Dos animais analisados (5/19) (26,3%) apresentaram hiperqueratose e (5/19) (26,3%) não apresentaram qualquer tipo de dermatopatia. Foi encontrada a mesma porcentagem de animais com úlceras, seborréia seca e onicogribose, sendo 3 animais em cada dermatopatia, representando 15,8% (3/19). A hipotricose e dermatite esfoliativa representaram 10,5% das alterações encontradas, sendo 2 animais (2/19) para cada uma (Quadro 5).

Em estudo realizado por Moura (2013), as dermatopatias foram as principais alterações observadas em animais sintomáticos, estando presente em 90,5% dos cães. De acordo com Travi et al., (2001), as alterações dermatológicas são achados comuns em casos positivos para leishmaniose visceral, podendo estar presente em mais de 50% dos animais infectados.

A alteração mais comumente observada foi alopecia, que pode estar relacionada à presença de úlceras. Analisando 85 animais positivos para leishmaniose Freitas et al., (2012), encontraram a presença de úlceras cutâneas como o achado mais frequente dentre as alterações dermatológicas, acometendo 35,3% animais, seguido pela presença de onicogribose em 33,8% e alopecia (30,95%). Os dados encontrados por Almeida et al., (2005), foram úlceras de pele acompanhadas pela onicogribose e alopecia. Já os achados de Dias et al., (2008), diferem dos de Freitas et al., (2012), e Almeida et al., (2005), cujas dermatopatias mais encontradas nos animais foram onicogribose (60,71%), alopecia (39,28%), úlceras (39,28%) e descamação seca (28,57%) dos animais. A alopecia e a descamação foram os achados mais frequentes nos estudos de Pinhão (2009), acometendo 27,22% dos animais infectados, corroborando com o presente estudo. Ciaramella (1997), concluiu que as anormalidades na pele de animais positivos para leishmaniose eram muito comuns, observando a presença de seborréia seca em 56%, úlceras em 40%, alopecia periorbital em 18%, alopecia generalizada em 14% e onicogribose em 24% dos cães. O trabalho de Abreu (2008), obteve como achado mais frequente a onicogribose que esteve presente em 64,6% dos animais, seguido pela alopecia localizada (52,3%), pelagem opaca (50,8%) e úlceras localizadas (21,5%). Estes dados são semelhantes à maioria dos trabalhos encontrados bem como com o presente estudo. Porém, pode-se constatar que os achados clínicos e dermatológicos estão presentes na LVC e não são únicos, podendo estar

associados e acreditar que existe um sinal patognomônico pode ser controverso (Figura 4).

QUADRO 5. Dermatopatias encontradas por meio do exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

DERMATOPATIAS								
ANIMAL	SS	HC	SU	AL	UL	HI	ON	DE
1								1
2				1	1	1	1	
3				1			1	
4				1				
5		1						
6	1							
7	1	1						
8		1		1				
9	-	-	-	-	-	-	-	-
10				1	1			
11	-	-	-	-	-	-	-	-
12		1						1
13	-	-	-	-	-	-	-	-
14							1	
15	1	1		1				
16	-	-	-	-	-	-	-	-
17						1		
18	-	-	-	-	-	-	-	-
19				1	1			
TOTAL	3	5	0	7	3	2	3	2
PORCENTAGEM (%)	15,8	26,3	0	36,8	15,8	10,5	15,8	10,5

SS :Seborréia seca; HC: Hiperkeratose; SU: Seborréia úmida; AL: Alopecia; UL:Úlcera; HI:Hipotricose; ON: Onicogribose; DE: Dermatite esfoliativa.

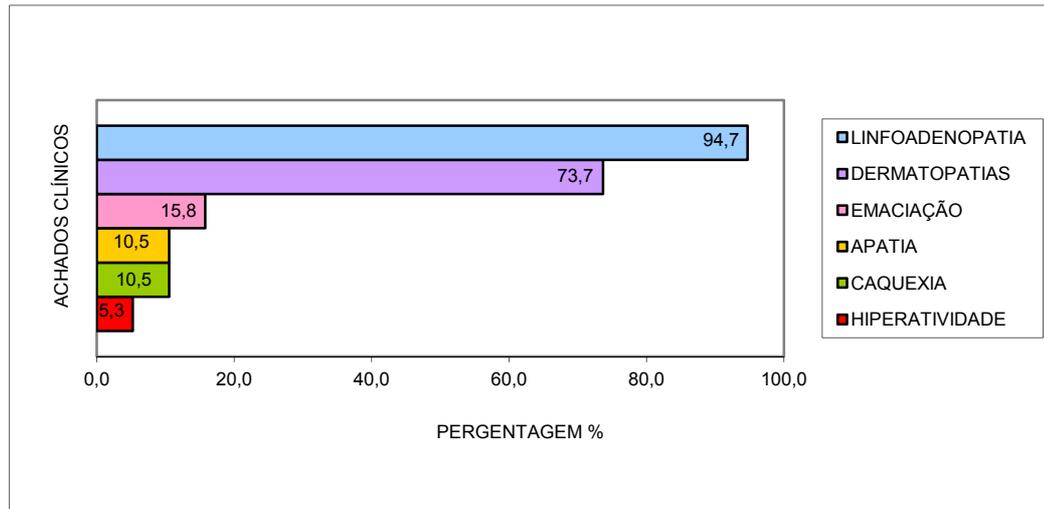


FIGURA 4. Frequência de alterações clínicas em cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

De acordo com os sinais clínicos alguns pesquisadores classificam os animais em três categorias: assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos conforme a presença e natureza de sinais clínicos. Esta é uma classificação tradicional sugerida por Mancianti et al., (1988), porém em desuso.

Solano-Gallego et al., (2009), criaram uma nova classificação clínica atual, com boa aceitação entre Médicos Veterinários de pequenos animais. Nesta classificação os animais são divididos em dois grupos: um com infecção clínica, envolve os animais que apresentam sinais clínicos ou alterações clínico-patológicas e outro com infecção sub-clínica, envolve os animais sorologicamente reagentes e parasitologicamente positivos, no entanto, não apresentam sinais clínicos ou alterações clínico-patológicas da leishmaniose.

O presente estudo optou por utilizar a classificação de Solano-Gallego et al., (2009), sendo observada a forma sub-clínica da LVC em (12/19) 63,2% dos animais e a forma clínica em (7/19) 36,8% dos animais positivos no diagnóstico sorológico e parasitológico. Esta classificação utilizou parâmetros clínicos, bioquímicos, e hematológicos (Quadro 6).

QUADRO 6. Classificação clínica realizada por meio de exame clínico de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

ANIMAIS	CLASSIFICAÇÃO CLÍNICA	
	SUB-CLÍNICO	CLÍNICO
1	1	
2		1
3		1
4		1
5	1	
6	1	
7	1	
8	1	
9	1	
10		1
11		1
12		1
13	1	
14	1	
15	1	
16	1	
17	1	
18	1	
19		1
TOTAL	12	7
PORCENTAGEM (%)	63,2	36,8

Freitas et al., (2012) utilizando a mesma classificação do presente estudo, dividiu os animais em dois grupos, observando que (10/78) 12,8% dos animais não apresentam alterações clínicas e laboratoriais mesmo sendo positivos para infecção por *Leishmania infantum chagasi* e (68/78) 87,2% dos animais apresentam alterações clínicas e laboratoriais, pelos testes de rotina, tendo infecção confirmada pela sorologia e parasitologia.

Junior, (2013) após realização dos exames clínicos e laboratoriais observou (16/35) 45,7% dos animais foram classificados como portadores de infecção subclínica enquanto (19/35) 54,3% dos animais foram categorizados como portadores de doença clínica. No mesmo estudo as alterações clínicas mais frequentes foram lesões de pele e linfadenopatia.

Analisando os valores de eritrograma (Quadro 7) dos cães infectados com *Leishmania infantum chagasi* pôde-se identificar que animais (5/19) 26% apresentaram anemia normocítica hipocrômica. Dos animais que apresentaram anemia três apresentaram também alterações dermatológicas e linfadenopatia e dois não apresentaram alterações dermatológicas, somente linfadenopatia. Todos os animais apresentaram mucosas hipocoradas.

Segundo Xavier (2002), a anemia é um achado bastante observado na leishmaniose visceral canina, podendo acometer entre 50 a 70% dos animais. Na maioria das vezes apresenta-se normocítica, normocrômica arregenerativa, indicando inicialmente ausência de resposta medular. Estes dados coincidem com os observados por Medeiros et al., (2008), que analisaram 145 cães reagentes, observando a anemia em 60% dos animais, tendo como característica marcante a forma normocítica e normocrômica em 47%. A anemia também foi um achado frequente nos trabalhos de Ciaramella (1997), onde observou a anemia normocítica e normocrômica arregenerativa em 90 animais, correspondendo a 60% do total.

No trabalho realizado por Freitas et al., (2012), observaram que 63% dos animais sintomáticos apresentaram redução no número de eritrócitos, 72% tinham o hematócrito abaixo de 37% e 62% apresentaram uma diminuição na hemoglobina, demonstrando um quadro de anemia. Quanto a diferença no tamanho das hemácias (9/19) 47% apresentaram anisocitose e quanto a diferença na coloração, (3/19) 16% apresentaram policromasia. Coincidindo com os dados de Medeiros et al., (2008), que encontraram anisocitose em 13,1% e policromasia 6,8% dos animais o que representa a presença de hemácias jovens (JAIN, 1993).

Segundo Ikeda et al., (2003), as possíveis causas de anemia em cães acometidos por leishmaniose visceral são seqüestro esplênico de hemácias, diminuição da produção medular, falência renal crônica, perda sangüínea, hemólise e mecanismos imunomediados.

Quanto ao número de plaquetas, (3/19) 16% apresentaram trombocitopenia (redução do número de plaquetas). Ciaramella (1997), também observou trombocitopenia em 29,3% dos 36 cães estudados. Freitas et al. (2012), encontraram redução no número de plaquetas em 50% dos animais classificados como sintomáticos. Estes números foram ainda maiores em estudos realizados por

Medeiros (2008), que observou a trombocitopenia em 77 animais correspondendo a 53,1%, do total. Segundo Feitosa (2001), a trombocitopenia ocorre principalmente nas fases finais da doença, no entanto, a contagem plaquetária pode se apresentar normal.

QUADRO 7. Avaliação hematológica de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

ERITROGRAMA							
ANIMAIS	He ($\times 10^6/\mu\text{L}$)	Hb (g/dL)	VG (%)	VCM (fL)	HCM (pg)	CHCM (g/dL)	PLT ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
Valores de referência	5,5 - 8,5	12 - 18	37 - 55	60 - 77	19,5 -24,5	32 – 36	166.000 - 500.000
1	7,06	15,3	49,3	●69,8	21,7	*31,3	355.000
2	3,86	8,3	26,5	●68,7	21,5	31,3	190.000
3	5,43	13	40	●73,7	23,9	32,5	462.000
4	4,76	10,1	32,2	●67,6	21,2	31,4	244.000
5	6,73	15,9	48,9	●72,7	23,6	*32,5	352.000
6	5,90	13,6	41,4	70,2	23,1	32,9	349.000
7	6,50	15,1	48,1	74	23,2	31,4	301.000
8	6,03	14,2	43,9	72,8	23,5	32,3	146.000
9	4,18	8,9	28,7	●68,7	21,3	*31	149.000
10	4,44	9,3	30,3	●68,2	20,9	30,7	228.000
11	3,43	7	23,1	67,3	20,4	30,3	97.000
12	7,17	17,1	52,3	72,9	23,8	32,7	273.000
13	6,45	15,1	47	72,9	23,4	32,1	351.000
14	6,62	14,6	44,4	●67,1	22,1	32,9	310.000
15	7,69	18	55,6	72,3	23,4	32,4	230.000
16	7,48	17,1	52,4	70,1	22,9	32,6	192.000
17	6,85	16,5	50,4	73,6	24,1	32,7	335.000
18	7,17	15,8	48,3	●67,4	22	32,7	291.000
19	5,62	12,2	37,1	66	21,7	32,9	265.000
MÉDIA	6	13,5	42,1	71,2	22,5	32,1	269473,7
DESVIO PADRÃO	1,4	3,3	9,8	2,7	1,2	0,8	90474,3

Número de eritrócitos (He) ($\times 10^6/\mu\text{L}$), concentração de hemoglobina (Hb) (g/dL), volume globular (VG) (%), volume corpuscular médio (VCM) (fL), hemoglobina corpuscular média (HCM) (pg), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM) (g/dL) e contagem de plaquetas (PLT) ($\times 10^3/\mu\text{L}$) mensurados de 19 cães sem raça definida (SRD) infectados naturalmente com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

Valores na tabela em *itálico*: abaixo dos valores de referência; valores na tabela em **negrito**: acima dos valores de referência; ● discreta anisocitose; *discreta policromasia

No leucograma (Quadro 8) observou-se que 11% (2/19) apresentaram leucocitose caracterizado por quantidade de leucócitos totais acima dos valores de normalidade, condição que pode estar relacionada a presença de um processo inflamatório (JAIN, 1993). Estes dois animais apresentaram linfadenopatia e alterações dermatológicas. Três animais apresentaram desvio à esquerda, caracterizado por quantidade de neutrófilos bastonetes absolutos acima dos valores de referência sendo indicativo de aumento de atividade medular para o combate de processos inflamatórios (JAIN, 1993). Dos três animais que apresentaram desvio a esquerda dois apresentaram hiperplasia medular da série mieloide (precursores de leucócitos).

A neutrofilia foi observada em 11% (2/19) podendo estar relacionada à presença de alterações dermatológicas. A linfocitose foi observada em 16% (3/19) e pode estar relacionada a um processo infeccioso viral associado, 16% (3/19) também apresentaram linfopenia por consumo das células para o local da infecção. Dos animais que apresentaram linfocitose, foi observada nos três animais a linfadenopatia de linfonodos pré-escapulares e poplíteos. Dois apresentaram mucosas hipocoradas (ocular) e hiperacoradas (oral). Dos animais que apresentaram linfopenia, todos apresentaram mucosas hipocoradas estando associada à ocorrência da anemia. A monocitose foi observada em 21% (4/19) e 16% (3/19) apresentaram eosinofilia, apenas um animal apresentou basofilia 5% (1/19).

Ciaramella (1997), também observou uma elevação na contagem total de leucócitos com acentuada neutrofilia. Estes dados condizem com os encontrados por Freitas et al., (2012), que observaram a leucocitose em 33% dos cães acompanhada de neutrofilia em 28% dos animais sintomáticos, não encontrando alterações nos cães assintomáticos. Os resultados anteriores diferem dos encontrados por Nicolato et al., (2013), que observaram acentuada eosinopenia, linfopenia e monocitopenia, estando estes achados diretamente relacionados a gravidade dos sinais clínicos apresentados. Pode-se observar que as contagens total e diferencial de leucócitos não obedeceram nenhum padrão, pois alguns animais responderam com leucocitose com desvio à esquerda regenerativo enquanto outros apresentaram leucograma normal.

QUADRO 8. Avaliação do leucograma de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

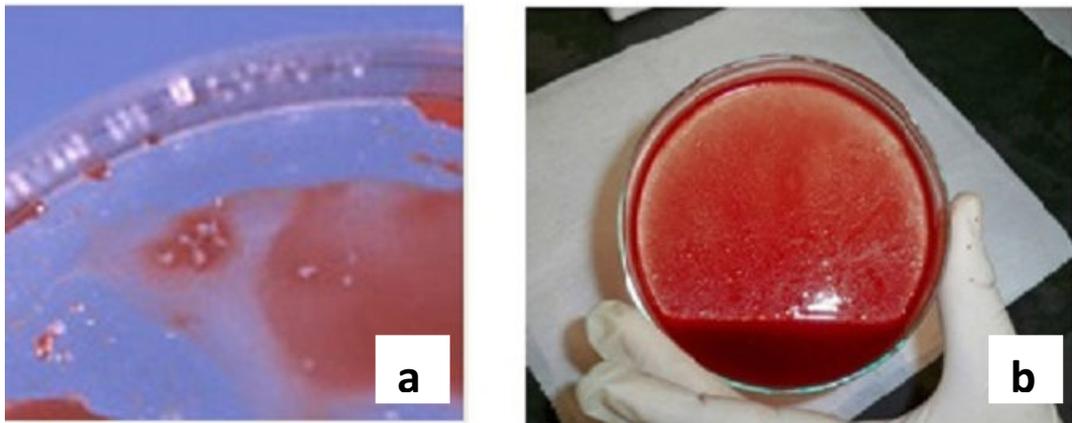
LEUCOGRAMA							
ANIMAIS	LEUC ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	BAST ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	SEG ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	LINF ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	MON ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	EOSIN ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	BAS ($\times 10^3/\mu\text{L}$)
Valores de referência	6.000 – 17.000	0 -300	3.000 – 11.500	1.000 – 4.800	150 – 1.350	100 – 1.250	0 -50
1	*11.568	0	5.784	4.512	347	925	0
2	13.100	0	11.397	○1.310	262	131	0
3	18.200	728	13.286	○1.092	1638	1456	0
4	23.900	1434	18.164	○2.629	□ 1673	0	0
5	13.200	0	6.204	4.884	264	1.848	0
6	13.200	132	9.504	2.376	792	396	0
7	12.500	0	5.750	5.500	1000	250	0
8	14.600	292	5.986	7.592	584	146	0
9	10.200	0	7.854	714	□ 1632	0	0
10	13.600	816	11.288	408	□816	272	0
11	6.500	0	5.200	975	260	65	0
12	14.300	0	10.725	1.144	□ 1430	1.001	0
13	10.600	0	6.784	1.802	1.166	848	0
14	15.900	0	11.130	2.385	1272	1113	0
15	9.300	0	3.906	4.464	651	279	0
16	13.900	139	6.811	4.309	556	1668	417
17	9.100	182	6.006	○2.548	182	182	0
18	11.500	0	6.325	3.220	□920	1035	0
19	8.300	0	5.478	1.826	498	498	0
MÉDIA	12814,1	195,9	8293,8	3074,1	676,6	637,5	21,9
DESVIO PADRÃO	3876,6	385,7	3569,6	2071,3	443,8	585,8	95,7

Contagem de leucócitos totais (LEUC) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), contagem absoluta de bastonetes (BAST) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), de neutrófilos segmentados (SEG) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), de linfócitos (LINF) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), de monócitos (MON) ($\times 10^3/\mu\text{L}$), de eosinófilos (EOSIN) ($\times 10^3/\mu\text{L}$) e de basófilos (BAS) ($\times 10^3/\mu\text{L}$) mensurados de 19 cães sem raça definida (SRD) infectados naturalmente com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

Valores em *itálico*: abaixo dos valores de referência; valores em **negrito**: acima dos valores de referência; ○ linfócitos reativos; □ monócitos ativados; *leucócitos totais corrigidos (metarrubricito 2)

O quadro 10 e figuras 5, 6, 7 representam a avaliação descritiva da medula óssea encontrada no quadro 9. Esses dados foram analisados segundo Jain (1993) e Harvey (2001) os quais estabeleceram que o valor de normalidade para relação M:E é de 0,75-2,53 e a relação de celularidade normal para animais adultos é de 50% de células e 50% de gordura.

Algumas observações foram detectadas ao realizar a colheita das amostras de medula óssea, pois em três cães (animais 1, 5 e 7) não foram encontradas visualmente nas amostras, espículas (pequenos fragmentos semelhantes à gelatina) (Figura 5) desse modo os animais tiveram que ser puncionados no osso externo, onde também não foram observadas espículas, obtendo-se apenas material sanguíneo e a presença de gordura visível, indicando que tratava-se de material medular.



(FONTE: Acervo pessoal)

FIGURA 5. a. Presença de espículas semelhante a material gelatinoso. b. Gordura visivelmente observada, indicando que trata-se de material medular.

Na avaliação da medula óssea 52,6% (10/19) dos animais apresentaram medula óssea hematopoeticamente ativa, 36,8% (7/19) hipoplasia mielóide com 28,6% (2/7) associada à discreta hiperplasia eritróide e 10,5% (2/19) apresentaram hiperplasia mielóide (Quadros 9 e 10).

Considerando a classificação clínica, dos animais sub-clínicos 66,6% (8/12) obtiveram uma medula óssea hematopoeticamente ativa nos demais em 33,3% (4/12) foi encontrada hipoplasia da série mielóide e em 25% (1/4) foi observada hiperplasia da série eritróide e hipoplasia megacariocítica. Já nos animais clínicos, 42,8% (3/7) apresentaram medula hematopoeticamente ativa, 28,5% (2/7) apresentaram hiperplasia mielóide e a mesma quantidade 28,5% (2/7), hipoplasia mielóide sendo que em 14,2% (1/7) esta alteração foi associada à hiperplasia eritróide.

Apesar da escassa literatura em relação à citologia da medula óssea de cães portadores de leishmaniose visceral, alguns autores relatam a ocorrência de

hiperplasia de precursores granulócitos neutrofílicos, o que pode justificar os quadros de leucocitose, aumentando desta maneira, a relação mielóide:eritróide (M:E); relatam, ainda, a ocorrência de um aumento na população de monócitos e macrófagos e elevação no número de plasmócitos e células *Mott*, que podem indicar uma estimulação antigênica associada à infecção (ANOSA e IDOWU, 1983; YAMAGUCHI et al., 1983; BURACCO et al., 1997).

Nos achados de Manzillo (2006), as principais alterações patológicas observadas na medula óssea de cães infectados foram displasia megacariocítica, presente em 66,6% dos cães, eritrofagocitose 53,3% e displasia eritróide, presente em 13,3%. Sessenta por cento dos animais que apresentaram displasia megacariocítica e 75% que apresentaram eritrofagocitose foram classificados como sintomáticos para a leishmaniose, podendo haver relação entre as alterações medulares e a presença de sinais clínicos provocadas pelo parasito.

Os resultados observados por Nicolato et al., (2013), demonstram hiperplasia mielóide, por aumento de precursores de leucócitos e hipoplasia eritróide, por redução no número de eritroblastos. Esta alteração refletiu na redução dos valores de eritrócitos, hemoglobina e hematócrito no sangue periférico de cães positivos para a LV.

Abreu (2011), observou alterações no número de pro-eritroblastos e eritroblastos policromáticos e ortocromáticos, evidenciando também uma hipoplasia da série eritróide presente em animais com diferente classificação clínica e carga parasitária. Segundo achados de Manzillo (2006), o aumento da relação M:E pode acontecer devido à hiperplasia ou hipoplasia mielóide ou eritróide, à displasia mielóide, eritróide e megacariocítica e eritrofagocitose.

Os achados anteriores, bem como do presente estudo, corroboram com os achados de Kontos e Koutinas (1993), Koutinas et al., (1999), Ciaramella e Corona (2003) e Ikeda et al. (2003), os quais verificaram que animais com leishmaniose visceral apresentam hipoplasia medular, e conseqüentemente anemia arregenerativa.

A presença do parasito foi identificada em 10,5% (2/19) dos animais (animais 9 e 14). Ikeda et al. (2003), também tiveram dificuldade com o exame parasitológico pois

não encontraram formas de *Leishmania* sp. a partir da punção aspirativa de linfonodo e medula óssea.

Dias et al. (2008), analisando a medula de 28 cães positivos sorologicamente, observaram formas amastigotas em apenas 2 animais, o que corresponde a 7,14% do material medular analisado. Ramos et al., (2012), observaram resultados diferentes, pois 42,8% dos 28 animais positivos na sorologia foram positivos no diagnóstico parasitológico de material medular.

Saridomichelakis et al. (2005), correlacionaram a presença de sinais clínicos com a sensibilidade da microscopia de esfregaços de linfonodos e de medula óssea, sendo que a sensibilidade pode atingir 94,7% cães considerados sintomáticos e menos de 30% em cães assintomáticos. Reis et al. (2006) observaram que a evolução da sintomatologia está relacionada ao intenso parasitismo na medula óssea. Observaram também que a cultura de material medular, bem como a utilização de *imprint* de pele, baço, fígado e nódulos linfáticos demonstrou maior eficiência do que esfregaço de medula direto.

QUADRO 9. Avaliação citológica de aspirado medular de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* apresentando diferentes formas clínicas.

MIELOGRAMA (em 500 células)											
ANIMAIS	MIELÓIDE	MIELÓIDE	ERITRÓIDE	ERITRÓIDE	LINF	PLASM	MONÓCITOS	EOSIN	M:E	CELULARIDADE (%)	PARASITISMO
	MADURO	IMATURO	MADURO	IMATURO	%	%	MACRÓFAGOS	%			
	%	%	%	%	(n° de céls)	(n° de céls)	%	(n° de céls)			
	(n° de céls)	(n° de céls)	(n° de céls)	(n° de céls)			(n° de céls)				
1	42,40%	3,60%	30%	4%	4,20%	0,60%	1,20%	2%	1,4:1	60	-
	212	18	150	20	21	3	6	10			
2	30%	1,60%	50%	3,20%	5%	0,80%	1,40%	8,20%	0,6:1	70	-
	150	8	250	16	25	4	7	41			
3	61%	5,20%	14,80%	7,60%	3,40%	2,60%	1%	4,40%	3,0:1	80	-
	305	26	74	38	17	13	5	22			
4	59,20%	3,80%	18,80%	8,40%	3%	2%	1,60%	3,20%	2,3:1	80	-
	296	19	94	42	15	10	8	16			
5	32%	8%	38,80%	13,80%	2%	2,60%	1%	1,80%	0,8:1	55	-
	160	40	194	69	10	13	5	9			
6	41,40%	11,80%	17,60%	18,40%	5%	2%	2%	1,80%	1,5:1	70	-
	207	59	88	92	25	10	10	9			
7	49,80%	3,20%	36%	2,80%	3,80%	1,40%	1,60%	1,40%	1,4:1	65	-
	249	16	180	14	19	7	8	7			
8	46%	8%	31,80%	5,20%	3,80%	1,40%	2%	1,80%	1,5:1	70	-
	230	40	159	26	19	7	10	9			
9	31%	11,20%	37,20%	13,80%	2,60%	2,60%	0%	1,60%	0,8:1	60	Amostra positiva
	155	56	186	69	13	13	0	8			
10	36%	2%	45,40%	2,80%	4,80%	1,20%	1,80%	6%	0,8:1	70	-
	180	10	227	14	24	6	9	30			
11	47,80%	2,60%	36,40%	3,40%	3,80%	1,20%	3,20%	1,60%	1,3:1	70	-
	239	13	182	17	19	6	16	8			
12	43%	3,20%	39,40%	5,80%	4,20%	0,60%	1,60%	2,20%	1,0:1	60	-
	215	16	197	29	21	3	-8	11			
13	37,60%	15%	33%	6%	4,40%	1,20%	1,20%	1,60%	1,3:1	75	-
	188	75	165	30	22	6	6	8			
14	56%	1,60%	25,40%	4,20%	4,80%	1,40%	4,60%	2%	1,9:1	60	-
	280	8	127	21	24	7	23	10			
15	34,80%	3%	43%	7,60%	4,20%	2,40%	2,60%	2,40%	0,7:1	60	Amostra positiva
	174	15	215	38	21	12	13	12			
16	27,80%	7%	42%	8,80%	6,40%	2,20%	3,20%	2,60%	0,7:1	75	-
	139	35	210	44	32	11	16	13			
17	49,20%	2,80%	37,40%	2,20%	4,20%	0,80%	1,60%	2%	1,3:1	55	-
	246	14	187	11	21	4	8	10			
18	40,60%	9,80%	19,80%	18%	5%	2,60%	2,20%	2%	1,3:1	70	-
	203	49	99	90	25	13	11	10			
19	48,20%	2%	34,80%	3,20%	5%	0,20%	4%	2,60%	1,3:1	50	-
	241	10	174	16	25	1	20	13			

Contagem diferencial em 500 células, da série mielóide madura e imatura, série eritróide madura e imatura, linfócitos (LINF), plasmócitos (PLASM), monócitos e macrófagos, eosinófilos (EOSIN), relação mielóide: eritróide (M:E) e celularidade realizada no mielograma de 19 cães sem raça definida (SRD) infectados naturalmente com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

*Células mielóides imaturas incluem mieloblastos e promielócitos. Células mielóides maduras incluem mielócitos, metamielócitos, bastonetes e segmentados. Células eritróides imaturas incluem rubroblastos e prorubrócitos. Células eritróides maduras incluem rubrócitos e metarrubrócitos.

QUADRO 10. Avaliação descritiva do mielograma de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

ANIMAIS	DESCRIÇÃO DOS ACHADOS MEDULARES
1	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se apresenta normal para a espécie e faixa etária. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.
2	A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal e grande quantidade de gordura. A relação M:E está diminuída. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 3-5 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se reduzida e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Hipoplasia mielóide.
3	A amostra apresenta celularidade aumentada para a espécie e faixa etária do animal e grande quantidade de gordura. A relação M:E está aumentada. Os megacariócitos estão presentes em pequena quantidade e morfologia reduzida de 1- 2 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se aumentada e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém foram encontrados macrófagos com hemossiderina (figura 13). Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Hiperplasia mielóide.
4	A amostra apresenta celularidade aumentada para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 2-5 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se discretamente aumentada e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Hiperplasia mielóide.
5	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se apresenta normal para a espécie e faixa etária. A relação M:E está normal porém a série mielóide está próxima ao valor inferior de normalidade. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se discretamente reduzida e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Discreta hipoplasia mielóide. (4)
6	A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal e grande quantidade de gordura. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 3-4 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Muitas células degeneradas. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.
7	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade apresenta-se discretamente aumentada para a espécie e faixa etária. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.
8	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade apresenta-se discretamente aumentada para a espécie e faixa etária. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.

9	<p>O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas e gordura. A celularidade se encontra normal para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal, porém a série mielóide está próxima ao valor inferior de normalidade. Os megacariócitos estão presentes em quantidade reduzida e morfologia normal de 0-1 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se discretamente aumentada e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se discretamente diminuída e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém foram encontrados macrófagos com hemossiderina em grande quantidade (figura 13). Raros plasmócitos foram observados (figura 12). Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Discreta hipoplasia mielóide e megacariocítica e discreta hiperplasia eritróide.</p> <p>A amostra positiva para <i>Leishmania infantum chagasi</i>.</p>
10	<p>A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 2-5 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se discretamente aumentada e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Discreta hipoplasia mielóide e discreta hiperplasia eritróide.</p>
11	<p>A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 5-6 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.</p>
12	<p>O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se encontra normal para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.</p>
13	<p>A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal e grande quantidade de gordura. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normal, de 3-7 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém foram encontrados macrófagos com hemossiderina (figura 13), raros plasmócitos e células Mott (figura 12). Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.</p>
14	<p>O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se encontra normal para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.</p> <p>A amostra positiva para <i>Leishmania infantum chagasi</i>.</p>
15	<p>A amostra apresenta celularidade normal para a espécie e faixa etária do animal. A relação M:E está diminuída. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 3-5 em cada espícula (figura 13). A série eritróide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se reduzida e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Hipoplasia mielóide.</p>
16	<p>A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal, porém poucas espículas por lâmina. A relação M:E está diminuída. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-4 em cada espícula. (figura 13). A série eritróide apresenta-se numericamente e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. A série mielóide apresenta-se reduzida e morfologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém foram encontrados macrófagos com hemossiderina (figura 13). Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Grande quantidade de leucofagocitose e presença de células Mott (figura 12). Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Hipoplasia mielóide.</p>

17	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se apresenta normal para a espécie e faixa etária. Observa-se uma grande quantidade de gordura. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-4 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém foram encontrados macrófagos com hemossiderina (figura13) e leucofagocitose. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.
18	A amostra apresenta celularidade discretamente aumentada para a espécie e faixa etária do animal e grande quantidade de gordura. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 3-5 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.
19	O material apresenta pouquíssima quantidade de espículas. A celularidade se apresenta normal para a espécie e faixa etária. A relação M:E está normal. Os megacariócitos estão presentes em quantidade e morfologia normais de 1-3 em cada espícula (figura 13). A série eritróide e mielóide apresenta-se numericamente e morfolologicamente normal, com maturação completa e ordenada. Ausência de anisocitose e policromasia. Estoque de ferro não foi avaliado com a coloração de Azul da Prússia, porém não foram encontrados macrófagos com hemossiderina. Figuras de mitose típicas e em quantidade normal. Ausência de células atípicas na amostra. Interpretação: Medula óssea hematopoeticamente ativa.

As amostras de sangue e bioquímico foram processadas e analisadas pelo laboratório veterinário comercial Hermes Pardini, Divisão Veterinária - Belo Horizonte/MG. Os valores de referência adotados foram do mesmo laboratório. A análise de medula óssea foi realizada no Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, campus Cruz das Almas/BA.

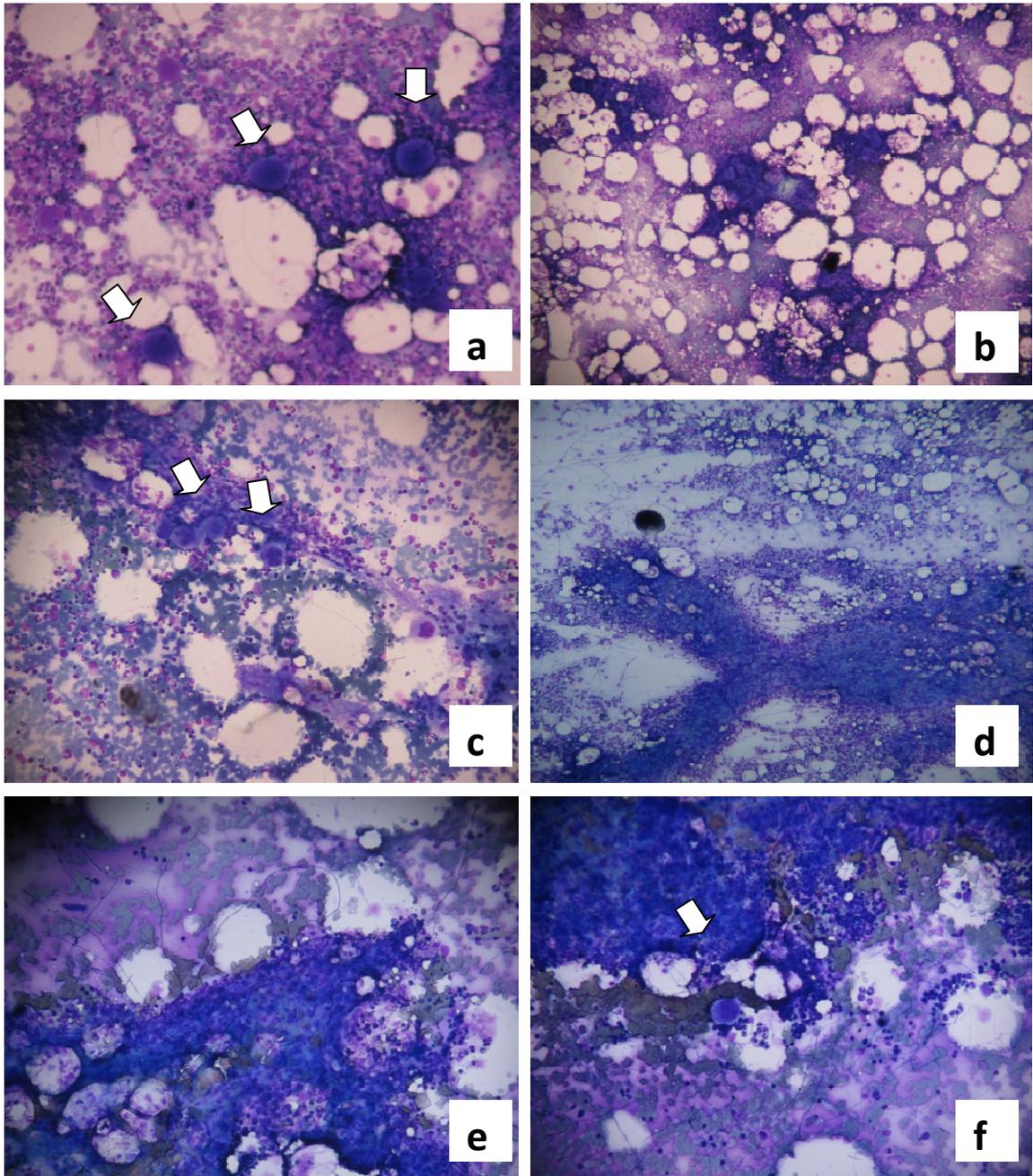


FIGURA 6. Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a. b. e d.** Medula com alta celularidade, megacariócitos (setas), 10x; **c.** Medula hematopoeticamente ativa, megacariócitos (setas), 10x. **e. e f.** Medula com baixa celularidade, megacariócito (seta), 10x.

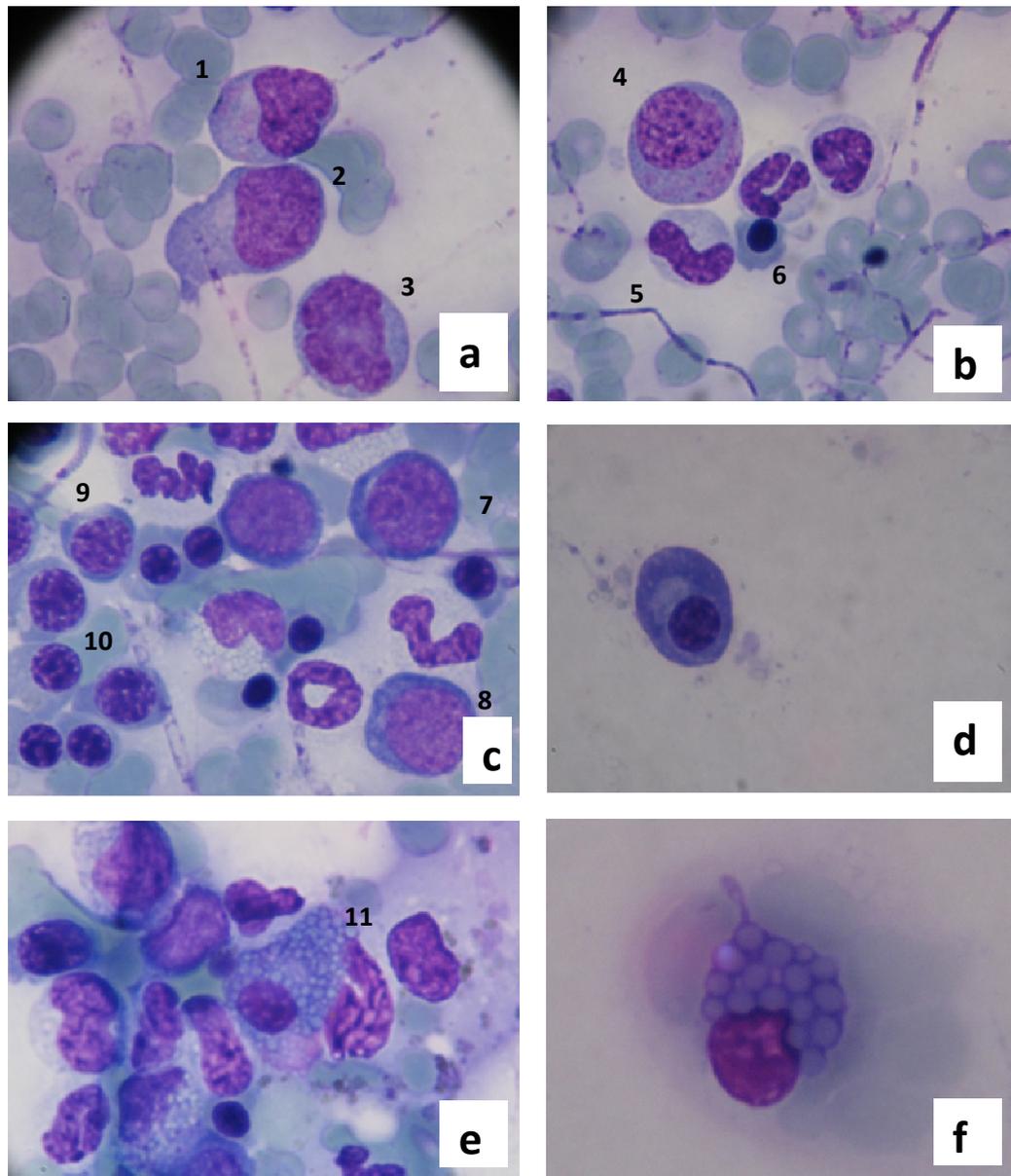


FIGURA 7. Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a.** promielócito (1), mieloblasto (2), promonócito (3), 100x. **b.** promielócito (4), neutrófilo bastonete (5), metarrubricito (6), 100x. **c.** prorubricito (7), rubriblasto (8), rubricito basofílico (9), rubricito policromatofílico (10), 100x. **d.** Plasmócito, 100x. **e.** e **f.** Plasmócito contendo corpúsculo de Russel (célula *Mott*) (11), 100x.

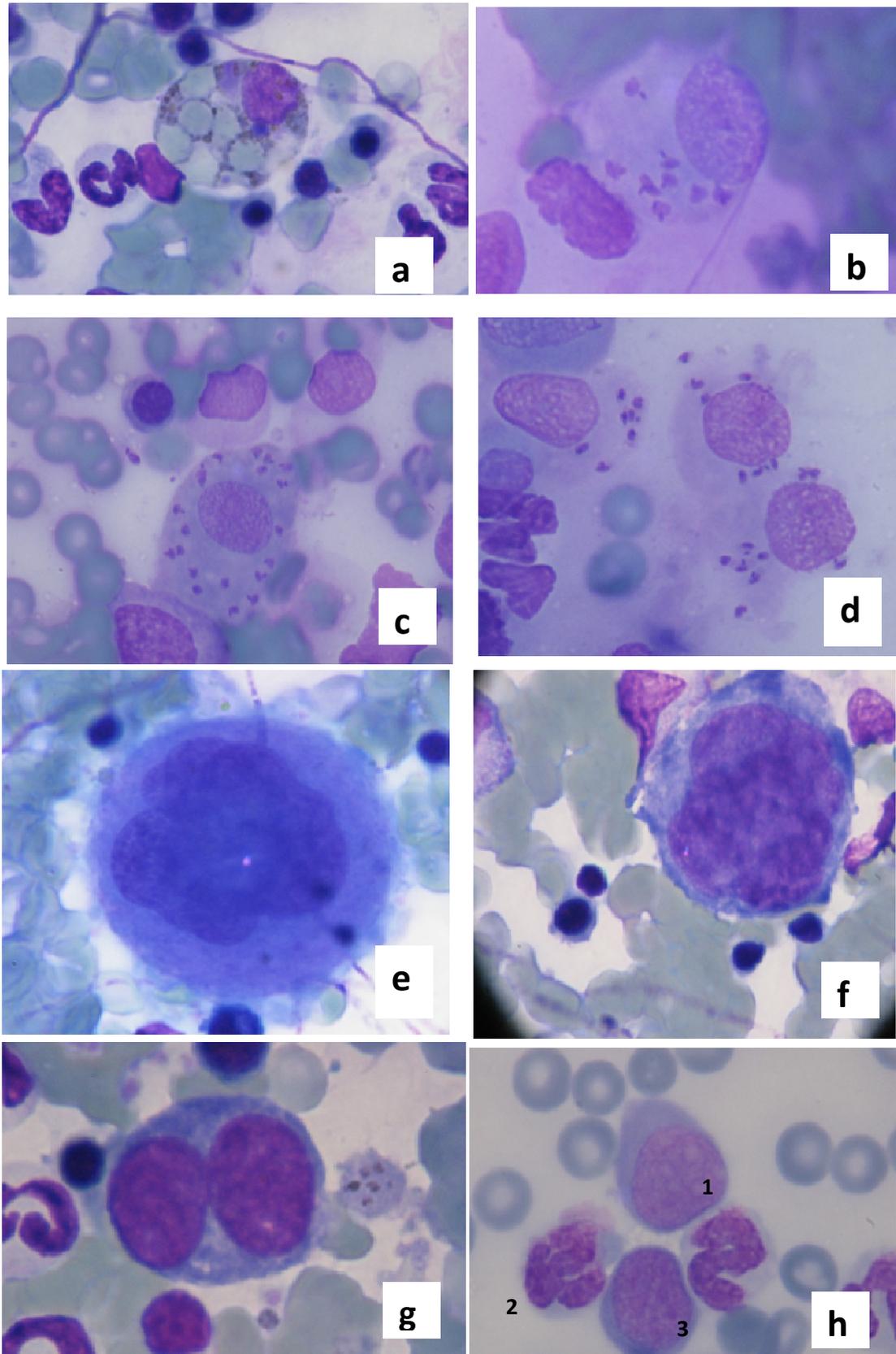


FIGURA 8. Citologia aspirativa da medula óssea de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas. **a.** macrófago realizando eritrofagocitose, presença de hemossiderina, 100x. **b. c. e d.** macrófago contendo *Leishmania (L.) infantum chagasi*, 100x. **e.** megacariócito maduro, 100x. **f.** megacariócito basofílico, 100x. **g.** rubroblasto binucleado, 100x. **h.** mieloblasto (1), neutrófilo segmentado (2) e prorubrócito (3), 100x.

Para avaliar a distribuição de frequências entre as diferentes variáveis, alterações medulares e as formas clínicas apresentadas pelos animais foi utilizado o teste estatístico Qui Quadrado. Este é um teste hipóteses que tem por objetivo encontrar um valor de dispersão para duas variáveis nominais e avaliar a associação existente entre variáveis qualitativas. Sempre que o valor de Qui Quadrado for menor que 3,84 aceita-se a hipótese de igualdade estatística entre os números de observados e de esperados (H0). Ou seja, admite-se que os desvios não são significativos e que não há dependência entre as variáveis analisadas (CONTI, 2009).

TABELA 1. Distribuição de frequência entre as alterações medulares e as formas clínicas de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

Animais	Medula óssea	
	Normal	Hipocelular ou Hiper celular
Sub-clínicos	8 (7)	4 (5)
Clínicos	3 (4)	4 (3)

Valores esperados ()

Qui Quadrado calculado=1,03; Qui Quadrado tabelado= 3,84

Desta forma, os achados hematológicos e medulares nem sempre dependem da forma de apresentação clínica da doença, pois estas estão associadas a vários fatores como a carga parasitária, o sistema imunológico do hospedeiro e o estágio da doença. Assim, os exames laboratoriais são auxiliares e imprescindíveis para a avaliação e o monitoramento de animais infectados com *Leishmania infantum chagasi*.

5. CONCLUSÕES

Diante das condições em que foi realizado o experimento, pôde-se concluir que não existe um padrão hematológico e medular para cães positivos para a LVC em virtude da variabilidade dos achados laboratoriais. Concluiu-se também que não houve dependência entre as alterações medulares e a classificação dos animais baseada em achados clínico-patológicos. Portanto, este trabalho pôde constatar que o auxílio dos exames laboratoriais é imprescindível para a avaliação e o monitoramento de animais infectados com *Leishmania infantum chagasi* e que novos estudos nesta área são imprescindíveis para investigar profundamente toda a patogênese da leishmaniose visceral canina no ambiente medular.

6. REFERÊNCIAS

- ABREU, R. T. **Alterações Eritropoéticas e Leucopoéticas na Leishmaniose Visceral Canina**. 2008. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Ouro Preto, Minas Gerais.
- ABREU, R.T. et al. Influence of clinical status and parasite load on erythropoiesis and leucopoiesis in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **PLoS ONE**, v.6, n.5, p.1-9, 2011.
- AGUIAR, P.H.P. et al. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Rev. Bras. Saúde Prod. An.**, v.8, n.4, p. 283-294, 2007.
- ALENCAR, N. X. et al. Mielograma: indicações e colheita do material Parte I. **Rev. Educ. Contin. CRMV-SP**, v.5, p.157-163, 2002.
- ALMEIDA, M. A. et al. Clinical and serological aspects of visceral leishmaniasis in northeast Brazilian dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Vet Parasitol.**, v. 28, n.127(3-4), p.227-32, 2005.
- ALVAR, J. et al. Canine leishmaniasis. **Adv.Parasitol.**, v.57, p. 1-88, 2004.
- ALVES, C.F. et al. Expression of IFN- γ , TNF- α , IL-10 and TGF- β in lymph nodes associates with parasite load and clinical form of disease in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.128, p.349-358, 2009.
- ANOSA, V.O.; IDOWU, A.L. The clinico-haematological features and pathology of leishmaniasis in a dog in Nigeria. **Zentralbl Veterinarmed B.**, v.30, p.600-608, 1983.
- ASSIS, J. et al. Estudo comparativo dos métodos diagnósticos para leishmaniose visceral em cães oriundos de Ilha Solteira, SP. Jaboticabal, **Rev. Bras. Parasitol. Vet.**, v. 19, n. 1, p. 17-25, 2010.
- BACELLAR, O.; CARVALHO, E. M. Imunopatogênese da leishmaniose visceral, **Gaz. Méd. Bahia**, v.75, n.1, p.24-31, 2005.
- BADARÓ, R. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. **J. Infec. Dis.**, v.154, p.639- 649, 1986.
- BARATA, R. A. et al. Controle da leishmaniose visceral no município de Porteirinha, Estado de Minas Gerais, no período de 1998 a 2003. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 44, n.3, p.386-388, 2011.
- BOGGIATTO, P. M. et al. Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. **PLoS Negl. Trop. Dis.**, v. 5, n.4, p. e1019, 2011.

BRASIL. Tribunal Regional Federal da 3ª Região. Documento nº 2.200-2/2001. DIÁRIO ELETRÔNICO DA JUSTIÇA FEDERAL DA 3ª REGIÃO. Edição nº 167/2013 São Paulo, 08 de outubro de 2013. <Disponível em: [http://www.stf.jus.br/portal/autenticacao/ sob o número 4653209.](http://www.stf.jus.br/portal/autenticacao/sob_o_numero_4653209)> Acesso em 18 de Fevereiro de 2014.

BRASIL, Ministério da saúde. **Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade**. Serie A. normas e manuais técnicos. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Guia de vigilância epidemiológica**. 7. ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Nota de esclarecimento sobre as vacinas Antileishmaniose Visceral Canina registradas no MAPA. Brasília, 2009. <Disponível em: [http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/Aniamal/Registros_Atorizacoes/Produtos_veterinarios/Comunicacoes_e_instrucoes_tecnicas/Nota de esclarecimento%20 sobre a vacina .pdf.](http://www.agricultura.gov.br/arg_editor/file/Aniamal/Registros_Atorizacoes/Produtos_veterinarios/Comunicacoes_e_instrucoes_tecnicas/Nota_de_esclarecimento%20sobre_a_vacina_.pdf)> Acesso em: 17 de Janeiro de 2014.

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

BRASIL, Ministério da saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

BURACCO, p. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with *Leishmania donovani* infection in a dog. **J. Small. Anim. Pract.**, v.38, n.1, p.29-30, 1997.

CAMARGO, L.B.; LANGONI, H. Impact of leishmaniasis on public health. **J. Venom. Anim. Toxins incl. Trop. Dis**, v.12, n.4, p.527-548, 2006.

CAMARGO-NEVES, V.L.F. et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. **Cad Saúde Pública**, v.17, p.1263-7, 2001.

CASTRO, I. P. et al. Perfil hepático e protéico em cães com leishmaniose visceral. **Biosci. J.**, v. 28, n. 5, p. 799-804, 2012.

CIARAMELLA, P. et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Vet. Rec.**, v.141, p. 539-543, 1997.

CIARAMELLA, P. et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Vet. Rec.**, v.141, p.539-543, 1997.

CIARAMELLA, P.; CORONA, M. Canine leishmaniasis: clinical and diagnostic aspects. **Compendium**, v.25, p.358-368, 2003.

COELHO, E. A. F. et al. Specific serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis using leishmania species ribosomal protein extracts. **Clin. Vaccine Immunol.**, v.16, n.12, p.1774-1780, 2009.

CONTI, F. Biometria Qui Quadrado. Laboratório de informática. ICB. Universidade Federal do Pará. 2009. Disponível em:
< <http://www.ufpa.br/dicas/biome/biopdf/bioqui.pdf>.> Acesso em: 22 de Fevereiro de 2014.

DESJEUX P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** , v.27, p. 305-318, 2004.

DESJEUX, P. **Information on the epidemiology and control of the leishmaniasis by country or territory**. Geneva, WHO, 47p., 1991.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: public health aspects and control. **Clin. Dermatol**, v. 14, p. 417-423, 1996.

DIAS, E. L. et al. Canine visceral leishmaniasis (CVL): seroprevalence, clinical, hematological and biochemical findings of dogs naturally infected in an endemic area of São José de Ribamar municipality, Maranhão state, Brazil. **Ciênc. Anim. Bras.**, v.9, n.3, p. 740-745, 2008.

DYE, C. The logic of visceral leishmaniasis control. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v.55, p.125-130, 1996.

FEITOSA, M. M. et al. Avaliação líquórica de cães, com ou sem sintomatologia neurológica, naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. **Vet. Not.**, p.61-69, 2005.

FEITOSA, M. M. **Leishmaniose visceral: um desafio crescente**. São Paulo: Editora Intervet pet, p.15, 2001.

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

FOLI, B.A.; SAVILLE, M.W.; YARCHOAN, R. Effects of the th-1 and th-2 stimulatory cytokines interleukin-12 and interleukin-4 on human immunodeficiency virus replication. **Blood.**, v.85, p.2114-2123, 1995.

FREITAS, J. C. C. Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, p.24-29, 2012.

FUNASA. **100 anos de saúde pública: A visão da funasa**. Brasília, 2004. Disponível em:<http://www.funasa.gov.br/site/wp-content/files_mf/livro_100-anos.pdf>. Acesso em: 18 dez. 2013.

GETTY, R. **Anatomia dos animais domésticos**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1986.

GONÇALVES, A. J. R. Calazar: relato de três pacientes adultos internados no HSE-INAMPS (RJ): considerações sobre esta endemia de grande importância em nosso território. **Arq. Bras. Med.**, v.60, p.369-376, 1986.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Visceral leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. **Rev. Bras. Epidemiol.**, v.7, n.3, p. 338-349, 2004.

GRADONI, L. The diagnosis of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2002, Sevilla. **Proceedings...**Sevilla, 2002, p.7-14.

GRINDEM, C. B.; NEEL, J. A.; JUOPPERI, T. A. Cytology of bone marrow. **Vet. Clin. Small Anim.** v.32, p.1313-1374, 2002.

HARVEY, J.W. **Atlas of veterinary hematology**: blood and bone marrow of domestic animals. Philadelphia: W. B. Saunders. 2001. 228p.

IKEDA, F.A. et al. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba - SP: um estudo retrospectivo de 191 casos. **Rev. Clin. Vet.**, v.8, n.47, p.42-48, 2003.

IKEDA, F.A. et al. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba - SP: um estudo retrospectivo de 191 casos. **Rev. Clin. Vet.**, v.8, n.47, p.42-48, 2003.

JAIN, N. C. **Essential of veterinary hematology**. Philadelphia: Lea & Fabiger, 1993.

JERÔNIMO, S.M. et al. An urban outbreak of visceral leishmaniasis in Natal, Brazil. **Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.** v. 88, p.386-388, 1994.

JUNIOR, J. T. M. **ASPECTOS DA ATRAÇÃO E INFECÇÃO DE *Lutzomyia longipalpis* POR CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *Leishmania* sp.** 2013 Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Salvador.

KONTOS, V.J.; KOUTINAS, A.F. Old world canine leishmaniasis. **Compend. Contin. Educ. Pract. Vet.**, v.15, n.7, p.949-959, 1993.

KOUTINAS, A.F. et al. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.35, n.5, p.376-383, 1999.

KRAUSPENHAR, C. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciênc. Rural**, v.37, n.3, p.907-910, 2007.

LAINSON, R. et al. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.**, v.81, p. 517, 1987.

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

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.

LEISHMAN, W.B. On the possibility of the occurs of trypanosomiasis in Índia. **British Medical Journal**, v.1, p.1252-1254, 1903.

LIMA, W.G. et al. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. **Acta Tropica**, v.92, p.43–53, 2004.

LUVIZOTTO, M.C.R. Alterações patológicas em animais naturalmente infectados. In: 1º FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. **Anais...**São Paulo, 2006, p.15-22.

MAGALHÃES, L.F. et al. Quadro clínico de cães com leishmaniose visceral e sua correlação com a sensibilidade do teste parasitológico. **Vet. Not.**, v.18. n. 2, p. 67-72, 2012.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. **Vet Parasitol.**, v.158, n.4, p.274-87, 2008.

MANCIANTI, F. et al. 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.

MANZILLO, V.F. Pathological changes in the bone marrow of dogs with leishmaniosis. **Vet. Rec.**, v.158, p.690–694, 2006.

MARZOCHI, M.C A. et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil: clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.80, n.3, p. 349-357, 1985.

MAURÍCIO, I.L.; STOTHARD, J.R.; MILES, M. A. The strange case of *Leishmania infantum*. **Parasitol. Today**, v. 16, n.5, p.181, 2000.

MEDEIROS, C.M.O. et al. Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de fortaleza, ceará. **Ciênc. Anim.**, v.181, p.43-50, 2008.

MICHALICK, M. S. M. Gênero *Leishmania*. In: NEVES, D. P. 11.ed. **Parasitologia Humana**. São Paulo: Editora Atheneu, 2004. p. 41-46.

MICHALICK, M.S.M.; GENARO, O. Leishmaniose visceral americana. In: Parasitologia humana. Neves, D. P. (ed.). 11. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. p.67-83.

MOURA, A.C.J. **Avaliação clínico-laboratorial e do xenodiagnóstico de cães com anticorpos anti- leishmania e de cães vacinados com leishmune®, provenientes de área endêmica para leishmaniose visceral canina**. 2013. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

NEVES, D. P. Leishmaniose Visceral Americana. In: __. **Parasitologia humana**. 10. ed. São Paulo: Atheneu, 2005. Cap.10, p. 56-72.

NICOLATO, R.C. et al. Clinical forms of canine visceral leishmaniasis in naturally leishmania infantum–infected dogs and related myelogram and hemogram changes. **PLoS ONE**, v.8, n.12, p.1-9, 2013.

NOGUCHI H. Comparative studies of Herpetomonads and leishmanias. II. Differentiation of the organisms by serological reactions and fermentation tests. **J. exp. Med.**, v.44, p. 327, 1926.

PASSOS, V.M.A. Epidemiological aspects of american cutaneous leishmaniasis in a periurban area of the metropolitan region of Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst Oswaldo Cruz**. v.88, n.1, p.103-110, 1993.

PASTORINO, A. C. Leishmaniose visceral: aspectos clínicos e laboratoriais. **J. Pediatr.**, v.78, n.2, p.120-127. Rio de Janeiro, 2002.

PINELLI, E. et al. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infect. Immun.**, v.62, p.229–235, 1994.

PINHÃO, C.P.R. **Leishmaniose canina – estudo de 158 casos da região de Lisboa**. 2009. 45f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa.

RAMOS, R.A.N. et al. Avaliação da biópsia de medula óssea esternal e ilíaca no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Cienc. Anim.**, v.22, n.2, p.13-16, 2012.

REIS, A. B. et al. Phenotypic features of circulating leucocytes as immunological markers for clinical status and bone marrow parasite density in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Clin. Exp. Immunol**, v.146, p.303-311, 2006.

REIS, L. C. et al. Mecanismos imunológicos na resposta celular e humoral na leishmaniose tegumentar americana. **Rev. Patol. Trop.**, v.35, n.2, p. 103-115, 2006.

RIBEIRO, R. R. et al. Reduced tissue parasitic load and infectivity to sand flies in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi* following treatment with a liposome formulation of meglumine antimoniate. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v.52, n.7, p.2564-2572, 2008.

RIBEIRO, V. M.; MICHALICK, M. S. M.. Leishmaniose, Estratégia de Controle. **Nosso Clínico**, v.4, n.24, p.10, 2001.

ROSA, R. **Estudo da resposta imunitária induzida por proteínas libertadas por promastigotas de *Leishmania infantum***. 2005. 191f. Tese (Doutorado)- Instituto de Higiene e Medicina Tropical, Universidade Nova de Lisboa, Lisboa.

SACKS, D.; NOBEN-TRAUTH, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in mice. **Nat. Ver. Immunol.**, v. 2, n.11, p.845-858, 2002.

SANTOS-GOMES, G.M. et al. Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. **J. Vet. Immunol. Immunopathol.**, v.88, p.21– 30, 2002.

- SARIDOMICHELAKIS, M.N., et al. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of canine *leishmaniasis* (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, 73, p. 82–86, 2005.
- SCHLEIN, Y. Leishmania and sandflies: interactions in the life cycle and transmission. **Parasitol. Today**, v.9, p. 255-257, 1993.
- SILVA, A.R. et al. Leishmaniose visceral (Calazar) na ilha de São Luís, Maranhão, Brasil: evolução e perspectivas. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v.30, p.359-368, 1997.
- SILVA, E.S. et al. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v.3, p. 285-91, 2001.
- SILVA, F. T. S. et al. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina no distrito de Monte Gordo, Camaçari (Ba). **Rev. Baiana de Saúde Pública**, v.34, n.4, p.783-795, 2010.
- SILVA, S. F. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **R. Tróp.: Ci. agr . biol.** v.1, n. 1, p. 20, 2007.
- SOLANO-GALLEGO, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Vet. Parasitol.**, v. 165, p. 1-18, 2009.
- SOUSA, M.V.C. et al. Níveis séricos de uréia e creatinina em cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. **PUBVET**, n. 5, n. 12, Ed. 159, Art. 1078, 2011.
- SOUZA, V. et al. Community assay for assessment of effectiveness of strategies for prevention and control of human visceral leishmaniasis in the municipality of Feira de Santana, State of Bahia, Brazil. **Epidemiol. Serv. Saude.**, v.17, p.97-106, 2008.
- SUNDAR, S.; RAI, M. laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clin. Diag. Lab. Immunol.**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.
- TOSCANO, C. P. et al. Caracterização clínica e epidemiológica das leishmanioses em cães no Estado de São Paulo. São Paulo, Brasil. **J. Vet. Res. Anim. Sci.**, v. 50, n. 2, p. 121-128, 2013.
- TRAVI, B.L. et al. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. **Am. J. Trop. Med. Hyg.**, v. 64, n.3-4, p. 119-124 2001.
- TURK, J.L.; BRYCESON, A.D.M. Immunological phenomena in leprosy and related diseases. **Advanc. Immunol.**, v.13, p.209, 1971.
- VAL, A.P.C. **Tratamento de leishmaniose visceral canina com antimonial pentavalente encapsulado em lipossomas**. 2004. 127f. Tese (Doutorado em Patologia e Ciências Clínicas), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.
- VIEIRA, J. B. F. O controle das leishmanioses no Brasil. **Hileia Med.**, v.8, p.13-35. 1987.

WILSON, T. M. et al. Alterações macroscópicas em cães sororreagentes para *Leishmania chagasi* e sua correlação com teste parasitológico. **Vet. Not.**, v.18. n. 2, p.20 - 25, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION, **Control of the Leishmaniasis**. Geneva: WHO, 158 p. 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Programme for the surveillance and control of leishmaniasis**. Geneva: WHO, 2001.

XAVIER, S. C. **Aspectos clínicos, histopatológicos e parasitológicos da pele de cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi***. 2002. 46f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte.

YAMAGUCHI, R. A. *Leishmania donovani* in the synovial fluid of a dog with visceral leishmaniasis. **J. Am. Anim. Hosp. Assoc.**, v.19, p.723-726. 1983.

ANEXOS

Valores bioquímicos de cães (N=19) naturalmente infectados com *Leishmania infantum chagasi* nas diferentes formas clínicas.

BIOQUÍMICOS				
ANIMAIS	CREATININA	UREIA	PPT	A/G
Valores de referência	0,6 a 1,6 mg/dL	12,0 a 25,0 mg/dL	5,4 a 7,7 g/dL	0,5 a 1,7
1	0,70	22	11,9	0,2
2	0,90	195	9,8	0,2
3	0,90	41	8,5	0,6
4	1,10	110	8,4	0,3
5	0,60	32	5,1	0,8
6	1,30	31	8	0,6
7	1,00	81	7,4	0,9
8	0,50	36	7,8	0,4
9	0,80	37	7,8	0,3
10	0,70	44	5,4	1,2
11	0,80	28	13,7	0,2
12	0,50	53	4,4	0,8
13	0,40	19	5	0,9
14	0,60	25	5,4	0,7
15	0,90	26	7,1	0,7
16	0,50	37	4,7	0,7
17	1,20	70,9	7,6	0,6
18	0,90	37	8,1	0,6
19	9,00	423	7,4	0,5
MÉDIA	1,23	70,94	7,55	0,59
DESVIO PADRÃO	1,90	94,80	2,40	0,27

PPT= Proteínas plasmáticas totais; A/G= Relação albumina/globulina