

Poliartrite em cão por Leishmaniose - tratamento com miltefosina

Polyarthritis in a Dog Due to Leishmaniasis - Treatment with Miltefosine

André Castilhano Marcelino Silva¹, Ana Flávia Prestes Conceição², Silvana Marques Caramalac³,
Simone Marques Caramalac⁴, Alexandre Coltro Gazzone⁵,
Paulo Antonio Terrabuio Andreussi⁶ & Mariana Isa Poci Palumbo⁷

ABSTRACT

Background: Canine visceral leishmaniasis causes several clinical signs, such as lymphadenomegaly, exfoliative dermatitis, ulcerative skin lesions, and lameness. The most commonly reported locomotor changes are claudication, edema, arthralgia, joint stiffness, and muscle atrophy. Radiographic exam revealed cortical and medullary destruction, increase, or decrease in medullary opacity, proliferative periosteal reaction, osteolysis, collapse of joint spaces and soft tissue edema are observed. The aim of this report is to describe the clinical and radiographic evolution of a case of erosive polyarthritis associated with leishmaniasis in a dog before, during and after treatment with miltefosine.

Case: A 7-month-old mixed-breed dog was attended due pain and limited mobility. In the orthopedic evaluation, joint swelling, stiffness, and increased pain sensitivity of the four limbs, as well as neck stiffness, were noted. Radiographic examination showed joint changes compatible with edema, with increased volume and radiopacity of the soft tissues adjacent to the joints. The segments of the patient's spine showed more severe bone alterations, the cervical spine being one of the most affected regions, with multiple bone proliferations throughout the vertebral body, especially in the ventral portion (spondylosis), compatible with polyarthritis due to leishmaniasis. Due to the suspicion, lymph node and spleen cytology was performed, confirming the diagnosis. Hematological examination revealed anemia, leukopenia due to lymphopenia and thrombocytopenia in addition to increased AST (79,4 U/L; reference: 6,2 - 13 U/L), creatine kinase (517,6 U/L; reference: 1,5 - 28,4 U/L), lactate dehydrogenase (688,4 IU/L; reference: 45 - 233 IU/L) and hyperproteinemia (7,34 g/dL; reference: 5,4 - 7,1 g/dL). Treatment with miltefosine, allopurinol, domperidone, prednisone, gabapentin and dipyrone was started. Reassessments were performed monthly for 3 consecutive months. Hematological examinations showed improvement, with resolution of anemia and thrombocytopenia, and a marked decrease in creatine kinase values. Thus, it is evident that the dog did not develop liver or kidney changes during treatment. During the treatment and monitoring in this period, the dog had a clinical improvement, which started to walk without pain. In addition, joint swellings were no longer present, however, there was no improvement in the radiographic evaluation of the joints.

Discussion: Clinical signs of the locomotor system are compatible with those described in animals that had osteoarticular manifestations associated with leishmaniasis, such as arthralgia, edema, and joint stiffness. In the present report, treatment with miltefosine associated with allopurinol resulted in an improvement in the clinical picture, and this therapy is therefore promising in dogs with polyarthritis due to leishmaniasis. A case published in human medicine demonstrated the intra-articular absorption capacity of this drug. There is only one study to date that describes the radiographic evolution of a dog with arthritis due to leishmaniasis after treatment with miltefosine and allopurinol. In this case described, the dog reported remained with the osteoarticular lesions after treatment, although clinical improvement was observed, as in our report. The use of miltefosine and allopurinol are in accordance with stage II staging for leishmaniasis. In this study, although there was no improvement in the radiographic examinations, the treatment was effective in the remission of the animal's clinical condition.

Keywords: allopurinol, amastigotes, domperidone, joint, leishmanicide.

Descritores: alopurinol, amastigotas, articulação, domperidona, leishmanicida.

DOI: 10.22456/1679-9216.123307

Received: 18 September 2022

Accepted: 10 February 2023

Published: 24 March 2023

Veterinary Medicine and Zootechnics College, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande, MS, Brazil. CORRESPONDENCE: M.I.P. PALUMBO [mariana.palumbo@ufms.br]. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). Av. Senador Filinto Müller n. 2443. Cidade Universitária. CEP 79074-460 Campo Grande, MS, Brazil.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é responsável pelo desenvolvimento de diversos sinais clínicos inespecíficos, entre eles, sinais osteoarticulares. Alterações locomotoras provocadas por esta doença são comuns e podem ser encontradas em até 44,8% dos animais com LVC [1,28-30],

Clinicamente, o envolvimento osteoarticular em animais com LVC pode ser caracterizado por claudicação, edema, artralgia, rigidez e atrofia muscular [1,3,5,19,31,35,38]. Esses sinais podem ser decorrentes da presença de macrófagos com formas amastigotas do parasito [14,16,31,35] ou devido ao depósito de imunocomplexos circulantes na sinóvia [14,16,31].

As alterações osteoarticulares podem ser observadas no exame radiográfico e incluem destruição cortical [1,19,35], destruição medular [35], alteração na opacidade medular [1], reação periosteal proliferativa [1,5,34,35], osteólise [1,5,19,34,38], colapso dos espaços articulares [19] e edema de partes moles [24,36,38]. Além disso, as lesões osteoarticulares podem ser classificadas como erosivas [1,4,14,19,38] e não erosivas [1,14,35]. Como os amastigotas podem ser encontradas na sinóvia, a análise parasitológica do líquido sinovial (LS) auxilia na identificação da artrite por LVC [24,30].

No que se refere ao tratamento da LVC, o protocolo utilizado consiste no uso de um leishmanioestático, como o alopurinol, um leishmanicida, a miltefosina [17] e um imunomodulador, como a domperidona [10]. Já para o tratamento das poliartrites utiliza-se os corticosteróides [6,9].

O objetivo deste relato é descrever a evolução clínica e radiográfica de um caso de poliartrite erosiva associado à leishmaniose em um cão antes, durante e após o tratamento com miltefosina.

CASO

Um cão sem raça definida, de 7 meses de idade e 7,1 kg, foi atendido no Setor de Clínica Médica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (HV-UFMS) apresentando dor, dificuldade para andar e queda de pelo. Ao exame físico, a inspeção mostrou mucosas pálidas, escore corporal diminuído, onicogribose, linfadenomegalia, lesões corporais alopecicas, lesão periocular alopecica e com crostas bilateralmente e hiperqueratose de narina, além do animal se manter a maior parte do tempo em decúbito esternal e, ao andar, apresentar hipometria. Na avaliação

ortopédica, notou-se edema articular, rigidez e aumento da sensibilidade dolorosa dos 4 membros, assim como rigidez cervical, que não permitia movimentação do pescoço à palpação. A avaliação neurológica não mostrou alterações em propriocepção, reflexos espinhais ou em sensibilidade superficial ou profunda.

O animal foi submetido ao exame radiográfico, que mostrou alterações articulares compatíveis com edema articular, apresentando aumento de volume e de radiopacidade dos tecidos moles adjacentes às articulações, além da presença de pequenas áreas circulares radiolúcidas no trabeculado ósseo e diminuição discreta da radiopacidade dos ossos constituintes das articulações, sendo evidentes principalmente na região das articulações radiocárpicas (Figura 1). Os segmentos da coluna vertebral do paciente apresentaram alterações ósseas mais severas, sendo a coluna cervical um dos mais acometidos, apresentando múltiplas proliferações ósseas em todo corpo vertebral mas principalmente na porção ventral (espondilose), além de várias áreas de esclerose. Juntamente, é possível observar importante diminuição do espaço entre as vertebbras, além de aumento de radiopacidade considerável no canal medular (Figura 2). Apesar de algumas alterações serem pouco comuns, essas alterações são características de poliartrite gerada pela leishmaniose.

A partir da suspeita de leishmaniose, foi realizada punção aspirativa por agulha fina (PAAF) dos linfonodos poplíteos e baço (guiado por ultrassom) para pesquisa de *Leishmania* sp., além de coleta de sangue para hemograma, bioquímica sérica e hemogasometria e coleta de urina por cistocentese para urinálise.

Na citologia de linfonodo e baço por PAAF, foi evidenciada a presença de formas amastigotas do protozoário, confirmando o diagnóstico de LVC. Ao exame hematológico (realizado no dia 1), foi revelado anemia normocítica normocrômica com grau mínimo de regeneração, leucopenia por linfopenia e trombocitopenia com presença de macroplaquetas, com aumento de P.D.W. e volume globular médio (Tabela 1). Ao exame bioquímico (dia 1), foi visto diminuição de ALT, aumento da AST, creatina quinase e lactato desidrogenase, além de discreta hiperglobulinemia e hiperproteinemia. Na urinálise e hemogasometria não foram encontradas alterações dignas de nota (Tabela 2). Também foi realizada coleta de líquido sinovial por artrocentese das articulações afetadas para análise, porém, a amostra foi insatisfatória devido a hemodiluição.

Para descartar coinfeções, foi realizado o exame de PCR de sangue, que foi negativo para os seguintes agentes: *Ehrlichia canis*, *Trypanosoma* sp., *Neospora caninum*, *Brucella* sp., Herpesvirus e *Hepatozoon* sp.

Desta forma, foi instituída a abordagem terapêutica com miltefosina¹ [MilteforanTM - 2 mg/kg, v.o, SID, durante 28 dias], alopurinol² [Alopurinol[®] - 10 mg/kg, v.o, SID, uso contínuo], domperidona³ [Domperidona[®] - 0,5 mg/kg, v.o, SID, durante 60 dias], prednisona⁴ [Prednisona[®] - 0,5 mg/kg, v.o, BID, durante 40 dias], gabapentina⁵ [Gabapentina[®] - 10 mg/kg, v.o, BID, durante 30 dias] e dipirona⁶ [Dipirona[®] - 25 mg/kg,

v.o, TID]. O tutor assinou um termo declarando livre consentimento para realização e monitoramento do tratamento. Para tal, foram realizados 3 retornos mensais.

O acompanhamento da avaliação hematológica mostrou os parâmetros da série vermelha dentro dos valores de referência, não sendo observado mais anemia (Tabela 1). Na série branca, no primeiro retorno (dia 30), a leucopenia inicial teve melhora, sendo mantido apenas discreta linfopenia e, nos seguintes (dias 60 e 90), observou-se leucocitose por neutropenia, sendo mais discreta no último. Na contagem de plaquetas, foi visto trombocitose no primeiro retorno (dia 30) e, no segundo



Figura 1. Projeções mediolateral e dorsopalmar das articulações radiocárpicas direita e esquerda. As articulações apresentam aumento de volume e radiopacidade dos tecidos moles, caracterizando edema articular, além de pequenas áreas circulares radiolúcidas nas extremidades proximais dos metacarpos.

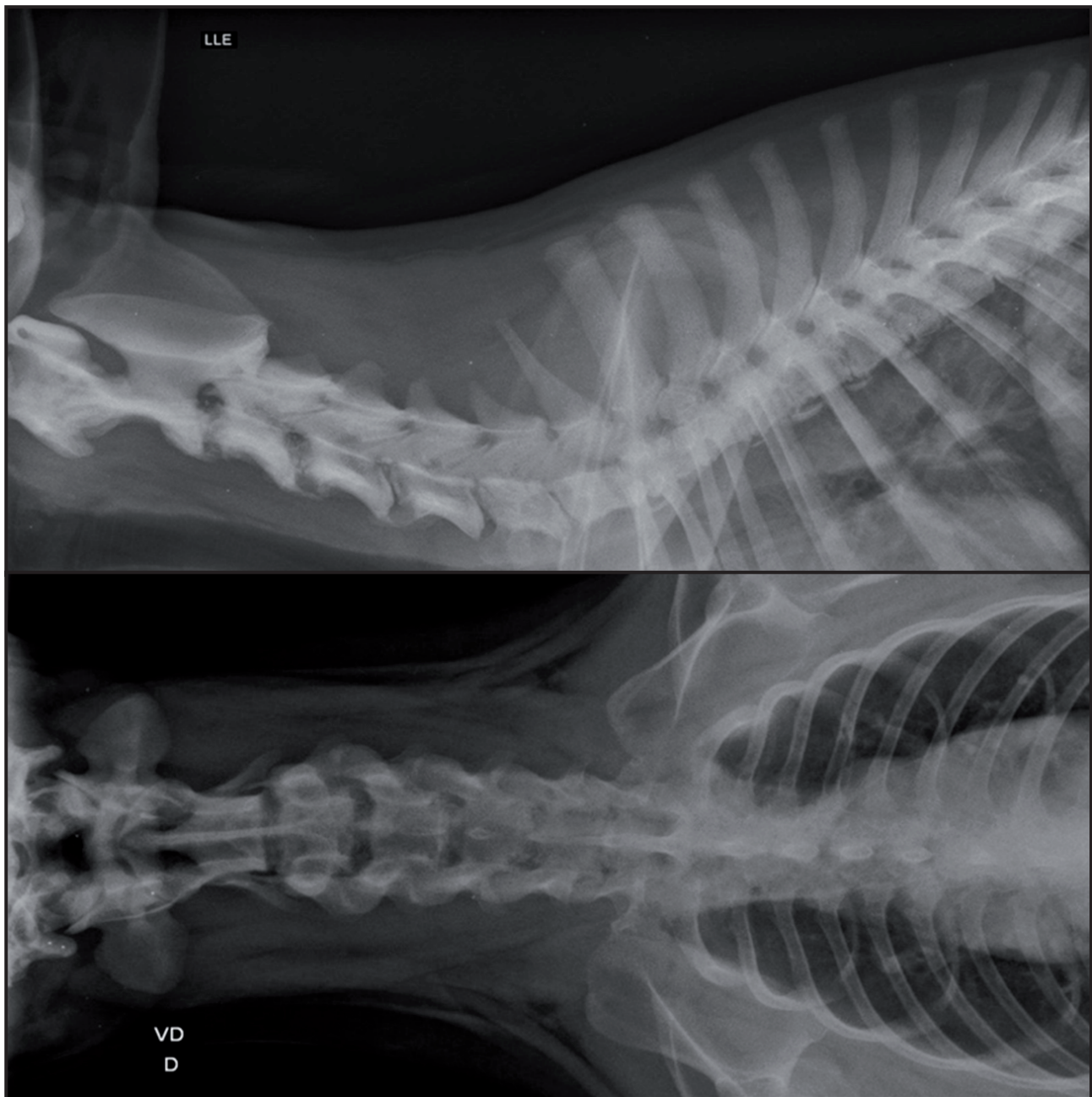


Figura 2. Projeções lateral esquerda e ventrodorsal da coluna cervical. Os corpos vertebrais apresentaram múltiplas reações proliferativas em todo corpo vertebral, principalmente da porção ventral, além de apresentar várias áreas de esclerose. É possível observar a diminuição de espaço intervertebral e acentuado aumento de radiopacidade do canal medular.

(dia 60) e terceiro (dia 90), as plaquetas encontravam-se dentro do intervalo de referência. O P.D.W., que estava aumentado antes do início do tratamento (dia 1), foi visto dentro dos valores de referência e, apenas no último exame (dia 90), foi visto diminuído. O V.P.M., por sua vez, manteve-se aumentado no primeiro retorno (dia 30) e, nos demais, ficou dentro dos valores de referência.

O acompanhamento da avaliação bioquímica evidenciou aumento gradativo de albumina, ALT intercalando entre discretamente diminuído a dentro do intervalo de referência, hiperglobulinemia, que foi vista

apenas nos exames dos dias 1 e 30, hiperproteinemia em todos os exames e uréia diminuída no primeiro retorno (dia 30), sem alterações nos demais (Tabela 2). A enzima lactato desidrogenase estava aumentada antes do início do tratamento (dia 1), assim como a enzima creatina quinase, que se manteve elevada durante todo o acompanhamento, entretanto, os dois últimos exames mostraram valores muito mais próximos do limite máximo de referência. Creatinina, fósforo, glicose e triglicerídeos não tiveram alterações durante todo acompanhamento. Sendo assim, evidencia-se que o

animal não desenvolveu alterações hepáticas ou renais durante o tratamento.

A urinalise, durante os 3 meses de acompanhamento, manteve-se sem alterações. Durante o tratamento

e o monitoramento do animal neste período, notou-se melhora clínica do mesmo, que passou a andar sem manifestar dor. Além disso, os edemas articulares não estavam mais presentes, entretanto, não houve melhora na avaliação radiográfica das articulações (Figuras 3 e 4).

DISCUSSÃO

Os sinais clínicos de sistema locomotor são compatíveis com os descritos em animais que tiveram manifestações osteoarticulares associadas à leishmaniose, como artralgia, edema e rigidez articular [1,3,5,19,31,35]. No presente relato, o tratamento com miltefosina associado a alopurinol e domperidona resultou na melhora do quadro clínico, sendo, portanto, promissor esta terapia em cães com poliartrite por leishmaniose. Um caso publicado na medicina humana verificou que a concentração sinovial de miltefosina alcançou a concentração de 20,3 mg/L, enquanto a concentração sérica foi de 29,5 mg/L (relação concentração no líquido sinovial/plasma de 0,69), ressaltando a capacidade de absorção intra-articular deste fármaco [7]. Pelo conhecimento dos autores, na veterinária, há apenas um estudo até o momento que descreve a evolução radiográfica de um cão com artrite por leishmaniose após tratamento com miltefosina e alopurinol. Estes autores verificaram que o cão relatado permaneceu com as lesões osteoarticulares após o tratamento, apesar de



Figura 3. Projeção dorsopalmar da articulação radiocárpica direita e esquerda após o tratamento com a miltefosina. As articulações não apresentam mais características de edema articular, porém ainda é possível observar a presença de áreas circulares radiolúcidas na porção proximal dos metacarpos.

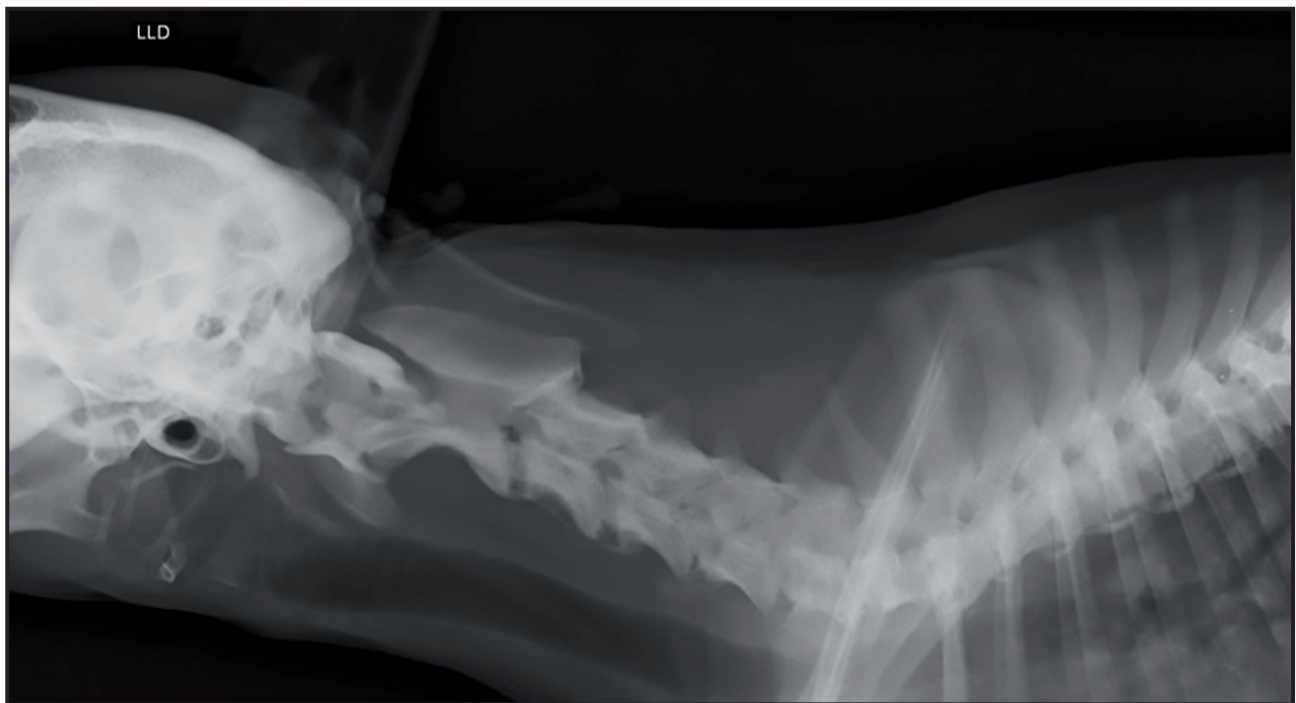


Figura 4. Projeção Lateral direita da coluna cervical após o tratamento com miltefosina. As alterações radiográficas foram mantidas, apresentando remodelamento com proliferação óssea dos corpos vertebrais, com áreas de esclerose, juntamente com diminuição de espaço intervertebral e aumento de radiopacidade do canal medular.

ter sido observada melhora clínica [13], assim como no nosso relato. No Brasil, a utilização de glucantime para tratamento de leishmaniose em cães é proibido, sendo permitido seu uso apenas para seres humanos. Estudos internacionais, entretanto, testaram a resposta a associação de glucantime com alopurinol em um cão com severo comprometimento osteoarticular tarsal [9]. Após 5 meses do início do tratamento (que foi associado a inserção cirúrgica de um pino na região para prevenção de fratura), foi verificada formação óssea na área previamente osteolítica [9]. Outro estudo que também utilizou glucantime verificou melhora de um quadro de osteomielite e sinovite em um cão de 10 meses com leishmaniose após 2 meses de tratamento, sem, todavia, apresentar descrição radiográfica após o tratamento [5].

O animal do relato foi diagnosticado com LVC por meio do diagnóstico parasitológico, com observação das formas amastigotas de *Leishmania* sp. em esfregaço de material obtido PAAF de linfonodo e baço, diagnóstico esse que possui especificidade de 100%, sendo, portanto, o método diagnóstico mais confiável quando positivo [22,23,27].

Quanto aos demais sinais clínicos, é descrito na literatura emagrecimento progressivo, caquexia, linfadenopatia [15], alopecia multifocal, úlceras, lesões crostosas na orelha, focinho e região periorbital e onicogribose [12,16]. Destes, apenas a caquexia, úlceras e lesões crostosas na orelha não foram observadas no animal do relato.

A anemia normocítica normocrômica é descrita como o achado hematológico mais frequente [25] e foi encontrada no cão do relato, assim como trombocitopenia, também corroborando com estudos que mostraram as alterações laboratoriais em cães com LVC [22,37]. Além disso, é descrito que frequentemente há linfopenia [20], o que também foi observado no relato. Embora haja possibilidade de haver alterações renais e/ou hepáticas [18], no animal em questão essas não foram evidenciadas no momento do diagnóstico e durante o tratamento.

Desta maneira, o cão do estudo foi estadiado para LVC no estágio II [32], em doença moderada, tendo em vista os sinais clínicos apresentados, como linfadenomegalia, perda de peso, lesões cutâneas difusas, onicogribose e lesões em plano nasal e periocular, e as anormalidades clínico patológicas, como anemia e hiperglobulinemia. Além disso, foi classificado no subestágio a, com perfil renal normal. Portanto, o prognóstico do animal do relato é de bom a reservado.

Quanto ao tratamento instituído, o uso da miltefosina e do alopurinol estão de acordo com o estágio II do estadiamento para LVC [33]. A miltefosina é uma droga importante para o tratamento devido a sua atividade antiparasitária direta que não depende do sistema imunológico funcional, além de ter sua eficácia clínica e laboratorial relatada em estudos [2, 21,37]. Já o alopurinol é uma droga leishmanioestática, que possui ação efetiva quando combinada com outras medicações [21,33]. A domperidona também foi utilizada, tendo essa ação imunomoduladora, se mostrado efetiva em estudos na redução de sinais clínicos e anticorpos em animais em tratamento para LVC [10]. Já para o tratamento específico da poliartrite, foi utilizado glicocorticoide, como é indicado na literatura [6,11].

O recomendado é realizar exames após 1 mês do início do tratamento, e depois, a cada 3-4 meses durante o primeiro ano. Caso haja remissão completa dos sinais clínicos, recomenda-se reavaliação a cada 6 meses ou 1 ano [26,33]. No relato em questão, foi feito o acompanhamento do tratamento durante um período de 3 meses, sendo realizado exames de hemograma e bioquímicos mensais, para efeito de estudo.

Com esse acompanhamento, foi possível concluir que o tratamento com a miltefosina associada ao alopurinol e domperidona foi eficaz na remissão do quadro clínico, assim como trouxe melhora no perfil hematológico, com resolução da anemia, e trombocitopenia. O tratamento com essas drogas não induziu lesão hepática e nem causou alterações nos indicadores de função hepática, portanto, não apresentou efeitos hepatotóxicos. Da mesma forma, não houve alterações da função renal, não apresentando também efeitos nefrotóxicos.

MANUFACTURERS

¹Virbac France. Carros, France.

²Sandoz do Brasil Indústria Farmacêutica Ltda. Cambé, PR, Brazil.

³Eurofarma Laboratórios S.A. Itapevi, SP, Brazil.

⁴Brainfarma Indústria Química e Farmacêutica S.A. Anápolis, GO, Brazil.

⁵Concessionária Paulista de Medicamentos S.A. Américo Brasiliense, SP, Brazil.

⁶EMS Farmacêutica S.A. Hortolândia, SP, Brazil.

Acknowledgments. This study was financed in part by the Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Finance Code 001.

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest. The authors alone are responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Agut A., Corzo N., Murciano J., Laredo F.G. & Soler M. 2003. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record*. 153(21): 648-652. DOI: 10.1136/vr.153.21.648
- 2 Andrade H.M., Toledo V.P.C.P., Pinheiro M.B., Guimarães T.M.P.D., Oliveira N.C., Castro J.A., Silva R.N., Amorim A.C., Brandão R.M.S.S., Yoko M., Silva A.S., Dumont K., Ribeiro M.L., Jr Bartchewsky W. & Monte S.J.H. 2011. Evaluation of miltefosine for the treatment of dogs naturally infected with *L. infantum* (= *L. chagasi*) in Brazil. *Veterinary Parasitology*. 181(2-4): 83-90. DOI: 10.1016/j.vetpar.2011.05.009
- 3 Baneth G., Koutinas A. F., Solano-Gallego L., Bourdeau P. & Ferrer L. 2008. Canine leishmaniosis – new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends in Parasitology*. 24(7): 324-330. DOI: 10.1016/j.pt.2008.04.001
- 4 Blavier A., Keroack S., Denerolle P.H., Goy-Thollot I., Chabanne L., Cadore J.L. & Bourdoiseau G. 2001. Atypical forms of canine leishmaniosis. *Veterinary Journal*. 162(2): 108-120. DOI: 10.1053/tvjl.2000.0556
- 5 Buracco P., Abate O., Guglielmino R. & Morello E. 1997. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with leishmania donovani infection in a dog. *Journal of Small Animal Practice*. 38(1): 29-30. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1997.tb02983.x
- 6 Clements D.N., Gear R.N., Tattersall J., Carmichael S. & Bennett D. 2004. Type I immune-mediated polyarthritis in dogs: 39 cases (1997-2002). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 224(8): 1323-1327. DOI: 10.2460/javma.2004.224.1323
- 7 Contejean A., Aryal X., Dorlo T.P.C., Roseboom I.C., Yera H., Gana I., Chouchana L., Canouï E., Buffet P. & Charlier C. 2021. Relapsing leishmanial arthritis: report of a tricky localization and evidence of miltefosine diffusion in synovial fluid. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 76(8): 2740-2741. DOI: 10.1093/jac/dkab218
- 8 Cortes S., Rolão N., Ramala J. & Campino L. 2004. PCR as a rapid and sensitive tool in the diagnosis of human and canine leishmaniasis using *Leishmania donovani* s. l. - specific kinetoplast primers. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 98(1): 12-17. DOI: 10.1016/S0035-9203(03)00002-6
- 9 Franch J., Pastor J., Torrent E., Lafuente P., Diaz-Bertrana M.C., Minilla A. & Durall I. 2004. Management of leishmanial osteolytic lesions in a hypothyroid dog by partial tarsal arthrodesis. *The Veterinary Record*. 155: 559-562. DOI: 10.1136/vr.155.18.559
- 10 Gómez-Ochoa P., Castillo J.A., Gascón M., Zarate J.J., Alvarez F. & Couto C.G. 2009. Use of domperidone in the treatment of canine visceral leishmaniasis: A clinical trial. *Veterinary Journal*. 179(2): 259-263. DOI: 10.1016/j.tvjl.2007.09.014
- 11 Johnson K.C. & Mackin A. 2012. Canine immune-mediated polyarthritis. Part 1: pathophysiology. *Journal of the American Animal Hospital Association*. 48(1): 12-17. DOI: 10.5326/JAAHA-MS-5744
- 12 Krauspenhar C., Beck C., Sperotto V., Silva A.A., Bastos R. & Rodrigues L. 2007. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural*. 37(3): 907-910.
- 13 König M.L., Howard J., Schmidhalter M., Hentrich B. & Hettlich B. 2019. Leishmaniosis manifesting as osteomyelitis and monoarthritis in a dog and outcome following treatment with miltefosine and allopurinol. *Veterinary Record Case Reports*. 7: 793. DOI: 10.1136/vetreccr-2018-000793
- 14 Koutinas A.F., Polizopoulou Z.S., Saridomichelakis M.N., Argyriadis D., Fytianou A. & Plevraki K.G. 1999. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: a retrospective study of 158 cases (1989-1996). *Journal of the American Animal Hospital Association*. 35(45): 376-383. DOI: 10.5326/15473317-35-5-376
- 15 Lima W.G., Michalick M.S.M., Melo M.N. & Tafuri W.L. 2004. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. *Acta Tropica*. 92: 43-532. DOI: 10.1016/j.actatropica.2004.04.007
- 16 Linhares G.F.C., Chaves N.S.T., Duarte S.C., Fernandes P.R., Amaral A.V.C. & Souza M.A. 2005. Relato de um caso clínico de Leishmaniose visceral em um cão na cidade de Goiânia. *Revista de Patologia Tropical*. 34: 69-72.
- 17 Manna L., Vitale F., Reale S., Picillo E., Neglia G., Vescio F. & Gravino A.E. 2009. Study of efficacy of miltefosine and allopurinol in dogs with leishmaniosis. *The Veterinary Journal*. 182(3): 441-445. DOI: 10.1016/j.tvjl.2008.08.009
- 18 Mattos Jr. D.G., Pinheiro J.M., Menezes R.C. & Costa D.A. 2004. Aspectos clínicos e de laboratório de cães soropositivos para leishmaniose. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*. 56(1): 119-122. DOI: 10.1590/S0102-09352004000100019
- 19 McConkey S.E., López A., Shaw D. & Calder J. 2002. Leishmanial polyarthritis in a dog. *The Canadian Veterinary Journal*. 43(8): 607-609.
- 20 Medeiros C.M.O., Melo A.G.C., Lima A.K.F., Silva I.N.G., Oliveira L.C. & Silva M.C. 2008. Perfil hematológico de cães com leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. *Ciência Animal*. 18(1): 43-50.

- 21 Miró G., Oliva G., Cruz I., Canavate C., Mortarino M., Vischer C. & Bianciardi P. 2009. Multicentric, controlled clinical study to evaluate effectiveness and safety of miltefosine and allopurinol for canine leishmaniosis. *Veterinary Dermatology*. 20(5-6): 397-404. DOI: 10.1111/j.1365-3164.2009.00824.x
- 22 Moreira M.A.B., Luvizotto M.C.R., Nunes C.M., Silva T.C.C., Laurenti M.D. & Corbett E.P. 2002. Aplicação da técnica de imunofluorescência direta para o diagnóstico da leishmaniose visceral canina em aspirado de linfonodo. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 39(2): 103-106. DOI: 10.1590/S1413-95962002000200009
- 23 Nogueira J.L., Silva M.V.M., Passos C.C. & Ambrósio C.E. 2009. A importância da leishmaniose visceral canina para a saúde pública: uma zoonose reemergente. *Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária*. 7(13): 6-7.
- 24 Pedersen N.C. 1978. Synovial fluid collection and analysis. *Veterinary Clinics North America*. 8(3): 495-499. DOI: 10.1016/s0091-0279(78)50056-7
- 25 Reis A.B., Martins-Filho O.A., Teixeira-Carvalho A., Carvalho M.G., Mayrink W., França-Silva J.C., Giunchetti R.C., Genaro O. & Corrêa-Oliveira R. 2006. Parasite density and impaired biochemical/hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science*. 81(1): 68-75. DOI: 10.1016/j.rvsc.2005.09.011
- 26 Roura X., Fondati A., Lubas G., Gradoni L., Maroli M., Oliva G., Paltrinieri S., Zatelli A. & Zini E. 2013. Prognosis and monitoring of leishmaniasis in dogs: A working group report. *Veterinary Journal*. 198(1): 43-47. DOI: 10.1016/j.tvjl.2013.04.001
- 27 Saridomichelakis M.N., Mylonakis, M.E., Leontides L.S., Koutinas A.F., Billinis C. & Kontos V. 2005. Evaluation of lymph node and Bone Marrow cytology in the diagnosis of canine Leishmaniasis (*Leishmania infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *American Journal of Tropical, Medicine Hygiene*. 73(1): 82-86.
- 28 Silva A.R.S. 2009. Avaliação radiográfica das articulações dos membros locomotores de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral no município de Araçatuba-SP. 83f. Araçatuba, SP. Dissertação (Mestrado em Ciência Animal – Fisiopatologia Médica e Cirúrgica) - Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.
- 29 Silva A.R.S., Oliveira H.S., Beserra H.E.O., Tsunemi M.H. & Mamprim M.J. 2015. Achados de tomografia computadorizada das articulações de cães naturalmente acometidos por leishmaniose visceral. In: *V Simpósio Internacional de Diagnóstico por Imagem - SINDIV*. (Bonito, Brasil). 6p.
- 30 Silva M.N.G., Pereira D.T.P., Mistieri M.L. & Lubeck I. 2014. Parasitological analysis of synovial fluid from dogs naturally infected with *Leishmania* sp. *Ciência Rural*. 44(7): 1236-1239. DOI: 10.1590/0103-8478cr20130965
- 31 Slappendel R.J. 2011. Canine leishmaniasis: a review based on 95 cases in the Netherlands. *Veterinary Quarterly*. 10(1): 1-16. DOI: 10.1080/01652176.1988.9694140
- 32 Solano-Gallego L., Miró G., Koutinas A., Cardoso L., Pennisi M.G., Ferrer L., Bourdeau P., Oliva G. & Baneth G. 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites & Vectors*. 4(1): 86. DOI: 10.1186/1756-3305-4-86
- 33 Solano-Gallego L., Koutinas A., Miró G., Cardoso L., Pennisi M.G., Ferrer L., Bourdeau P., Oliva G. & Baneth G. 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*. 165(1-2): 1-18. DOI: 10.1016/j.vetpar.2009.05.022
- 34 Souza A.I., Juliano R.S., Gomes T.S., Diniz S.A., Borges A.M., Tafuri W.L. & Santos R.L. 2005. Osteolytic osteomyelitis associated with visceral leishmaniasis in a dog. *Veterinary Parasitology*. 129(1-2): 51-54. DOI: 10.1016/j.vetpar.2005.01.008
- 35 Spreng D. 1993. Leishmanial polyarthritis in two dogs. *Journal of Small Animal Practice*. 34(11): 559-563. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1993.tb03548.x
- 36 Turrel J.M. & Pool R.R. 1982. Bone lesions in four dogs with visceral leishmaniasis. *Veterinary Radiology*. 23(6): 243-249. DOI: 10.1111/j.1740-8261.1982.tb01290.x
- 37 Woerly V., Mayenard L., Sanquer A. & Eun H.M. 2009. Clinical efficacy and tolerance of miltefosine in the treatment of canine leishmaniosis. *Parasitology Research*. 105(2): 463-469. DOI: 10.1007/s00436-009-1404-2
- 38 Wolschrijn C.F., Meyer H.P., Hazewinkel H.A.W. & Wolvekamp W.T.H.C. 1996. Destructive polyarthritis in a dog with leishmaniasis. *Journal Small Animal Practice*. 37(12): 601-603. DOI: 10.1111/j.1748-5827.1996.tb02342.x