

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**EFETIVIDADE DA ANÁLISE ULTRASSONOGRÁFICA DAS
ARTICULAÇÕES NA LEISHMANIOSE CANINA NATURALMENTE
ADQUIRIDA**

PRISCILA VASCONCELOS OLIVEIRA

Médica Veterinária

Salvador - BA

2025



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL NOS TRÓPICOS**

**EFETIVIDADE DA ANÁLISE ULTRASSONOGRÁFICA DAS
ARTICULAÇÕES NA LEISHMANIOSE CANINA NATURALMENTE
ADQUIRIDA**

PRISCILA VASCONCELOS OLIVEIRA
Médica Veterinária

Salvador - BA
2025

Dados internacionais de catalogação-na-publicação
(SIBI/UFBA/Biblioteca Universitária Reitor Macedo Costa)

Oliveira, Priscila Vasconcelos.

Efetividade da análise ultrassonográfica das articulações na leishmaniose canina naturalmente adquirida / Priscila Vasconcelos Oliveira. - 2025.

75 f.: il.

Orientadora: Profa. Dra. Stella Maria Barrouin Melo.

Coorientadora: Profa. Dra. Caterina Muramoto.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal da Bahia, Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Salvador, 2025.

1. Medicina Veterinária. 2. Medicina veterinária - Diagnóstico por imagem. 3. Ultrassonografia veterinária. 4. Articulações - Doenças. 5. Cães - Doenças. 6. Leishmaniose. I. Melo, Stella Maria Barrouin. II. Universidade Federal da Bahia. Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia. III. Título.

CDD - 636.089607543

CDU - 636.09:616-073

Efetividade diagnóstica da análise ultrassonográfica das articulações na leishmaniose canina naturalmente adquirida

PRISCILA VASCONCELOS OLIVEIRA

Dissertação defendida e aprovada para obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal nos Trópicos

Salvador, 30 de junho de 2025

Comissão examinadora:

Documento assinado digitalmente
 STELLA MARIA BARROUIN MELO
Data: 30/06/2025 18:11:23-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dra. Stella Maria Barrouin Melo
Orientadora
UFBA – Salvador – BA – Brasil

Documento assinado digitalmente
 ALEXANDRE REDSON SOARES DA SILVA
Data: 01/07/2025 17:17:34-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Alexandre Redson Soares da Silva
UNIVASF – Petrolina – PE – Brasil

Documento assinado digitalmente
 LUANNA FERREIRA FASANELO GOMES
Data: 02/07/2025 10:31:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dra. Luanna Ferreira Fasanelo Gomes
UFMT – Sinop – MT – Brasil

Documento assinado digitalmente
 PAULA VELOZO LEAL
Data: 01/07/2025 16:02:56-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof.^a Dra. Paula Velozo Leal
UFBA – Salvador – BA – Brasil

DADOS CURRICULARES DO AUTOR

PRISCILA VASCONCELOS OLIVEIRA – Nascida em Salvador, Bahia, em 1983. Graduou-se em Medicina Veterinária pela Universidade Federal da Bahia (UFBA) em 2009. Possui especialização em Clínica e Cirurgia de Pequenos Animais e em Diagnóstico por Imagem Veterinária. Atualmente atua em clínicas e hospitais de Salvador realizando exames de diagnóstico por imagem, com ênfase em ultrassonografia. Exerce também a função de coordenadora da pós-graduação em Diagnóstico por Imagem da Faculdade Anclivepa – polo Salvador.

PRISCILA VASCONCELOS OLIVEIRA

**EFETIVIDADE DA ANÁLISE ULTRASSONOGRÁFICA DAS
ARTICULAÇÕES NA LEISHMANIOSE CANINA NATURALMENTE
ADQUIRIDA**

Dissertação de Mestrado apresentado ao Programa de
Pós-Graduação em Ciência Animal nos Trópicos da
Universidade Federal da Bahia, como requisito para
obtenção do título de Mestre em Ciência Animal nos
Trópicos.

Orientadora: Prof.^a Dra. Stella Maria Barrouin Melo

Coorientadora: Prof.^a Dra. Caterina Muramoto

Salvador - BA

2025

RESUMO

OLIVEIRA, P. V. Efetividade da análise ultrassonográfica das articulações na leishmaniose canina naturalmente adquirida. Salvador, Bahia, 2025. 75 p. Dissertação (Mestranda em Ciência Animal nos Trópicos) Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2025.

A leishmaniose canina (LCan) causada por *Leishmania infantum* é uma doença parasitária zoonótica, crônica, que cursa com acometimento multissistêmico. As lesões osteoarticulares descritas na LCan têm sido atribuídas a doença por imunocomplexos associada a inflamação da microvasculatura da membrana sinovial e/ou presença do parasito na sinóvia. O objetivo deste estudo foi estabelecer e descrever os achados identificados por meio de ultrassonografia (USG) articular em cães naturalmente infectados por *L. infantum*, para avaliar a efetividade diagnóstica dessa técnica na caracterização clínica em cães com LCan. Foram estudados 43 cães positivos à PCR para *L. infantum*, atendidos entre fevereiro/2023 e janeiro/2025 no Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas do Hospital Veterinário da UFBA. Os cães foram avaliados por exames clínico geral, físico locomotor, laboratoriais e de imagem por radiografia e/ou USG. Os exames ultrassonográficos foram aplicados nas articulações târsicas de todos os cães; outras articulações foram examinadas por USG quando apresentavam alterações ao exame físico locomotor. Os cães foram divididos em dois grupos: o G1 (n=23) composto por cães avaliados apenas por USG e o G2 (n=20) por cães avaliados por USG e radiografia. A maioria dos cães era de fêmeas (51,2%), em idade adulta (67,4%) e de raça definida (65,1%). Lesões articulares foram identificadas pela ultrassonografia em 86% (37/43) dos cães avaliados, sendo osteófitos (83,8%), derrame articular (64,9%) e espessamento capsular (56,7%) os achados mais frequentes. Entre os cães com alterações articulares detectadas por ultrassonografia, 29,7% (11/37) não apresentavam alterações clínicas ortopédicas. A radiografia identificou lesões nas articulações tarsais em 40% (8/20) dos cães avaliados. Considerando-se o exame físico como referência, a ultrassonografia apresentou sensibilidade de 89,7% na identificação de alterações articulares, enquanto a radiografia apresentou sensibilidade de 66,7%. De forma geral, 88,4% (38/43) dos cães com CanL apresentaram alterações articulares detectáveis por métodos de imagem, compatíveis com processos degenerativos, inclusive na ausência de sinais locomotores clínicos. Conclui-se que a ultrassonografia demonstrou superioridade em relação à radiografia na detecção de alterações articulares em cães com CanL, incluindo casos de artropatia subclínica. Esses achados sustentam a recomendação da ultrassonografia articular como ferramenta de primeira escolha no diagnóstico precoce de lesões osteoarticulares associadas à infecção por *L. infantum*.

Palavras-chave: articulação, leishmaniose canina, ultrassom articular, radiografia.

ABSTRACT

OLIVEIRA, P. V. **Effectiveness of Ultrasonographic Joint Analysis in Naturally Acquired Canine Leishmaniasis.** Salvador, Bahia, 2025. 75 p. Dissertação (Mestre em Ciência Animal nos Trópicos) Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Federal da Bahia, 2025.

Canine leishmaniasis (CanL), caused by *Leishmania infantum*, is a chronic zoonotic parasitic disease with multisystemic involvement. The osteoarticular lesions described in CanL have been attributed to immune complex-mediated disease associated with inflammation of the synovial membrane microvasculature and/or the presence of the parasite within the synovium. The aim of this study was to establish and describe the findings identified through joint ultrasonography (USG) in dogs naturally infected with *L. infantum*, in order to evaluate the diagnostic effectiveness of this technique in the clinical characterization of dogs with CanL. A total of 43 *L. infantum* PCR-positive dogs, examined between February 2023 and January 2025 at the Zoonotic Leishmaniasis Outpatient Clinic of the Veterinary Hospital at UFBA, were included. The dogs underwent general clinical examination, locomotor physical assessment, laboratory tests, and imaging by radiography and/or USG. Ultrasonographic examinations were performed on the tarsal joints of all dogs, while other joints were evaluated by USG when alterations were identified during the locomotor physical exam. The dogs were divided into two groups: G1 (n=23), composed of dogs assessed only by USG, and G2 (n=20), composed of dogs evaluated by both USG and radiography. Most dogs were females (51.2%), adults (67.4%), and purebred (65.1%). Articular lesions were identified by ultrasonography in 86% (37/43) of the evaluated dogs, with osteophytes (83.8%), joint effusion (64.9%), and capsular thickening (56.7%) being the most frequent findings. Among dogs with articular alterations detected by ultrasonography, 29.7% (11/37) did not show clinical orthopedic abnormalities. Radiography detected tarsal joint lesions in 40% (8/20) of the dogs evaluated. Considering the physical examination as the reference, ultrasonography showed a sensitivity of 89.7% in identifying articular changes, whereas radiography showed a sensitivity of 66.7%. Overall, 88.4% (38/43) of the dogs with CanL presented articular alterations detectable by imaging methods, consistent with degenerative processes, even in the absence of clinical locomotor signs. We conclude that ultrasonography demonstrated superiority over radiography in detecting joint alterations in dogs with CanL, including cases of subclinical arthropathy. These findings support the recommendation of joint ultrasonography as a first-line tool in the early diagnosis of osteoarticular lesions associated with *L. infantum* infection.

Keywords: joint, canine leishmaniasis, articular ultrasound, radiography.

LISTA DE FIGURAS

Página

Figura 1 Imagens ultrassonográficas e radiográficas de articulações de cães positivos para *Leishmania* sp. (a, b) Ultrassonografia da articulação do tarso evidenciando efusão articular (asterisco) e espessamento da cápsula articular/membrana sinovial (seta dupla). (c, d) Radiografias do tarso nas projeções dorsoplantar e mediolateral demonstrando aumento de volume de tecidos moles periarticulares. (e, f) Ultrassonografia da articulação femorotibiopatelar revelando irregularidades ósseas na superfície articular da tíbia e efusão articular associada (seta branca). (g, h) Radiografias da mesma articulação em projeções craniocaudal e mediolateral evidenciando aumento de volume de tecidos moles.

37

Figura 2 Imagens ultrassonográficas e radiográficas da articulação társica esquerda em um cão positivo para *Leishmania* sp. por PCR (Boiadeiro Bernês, 2 anos). (a) Radiografia em projeção mediolateral evidenciando aumento de volume de tecidos moles (seta branca); (b-d) Imagens ultrassonográficas demonstrando efusão articular (asterisco) e espessamento da cápsula articular/membrana sinovial (seta dupla e seta branca).

38

Figura 3 Gráfico de dispersão que demonstra a correlação entre a gravidade das lesões nas articulações társicas e em outras articulações em 11 cães com leishmaniose canina..

40

Figura 4 Imagens radiográficas da articulação do tarso em um cão positivo por método PCR para *Leishmania* sp. em incidências dorsoplantar e mediolateral do membro pélvico direito e esquerdo: anquilose óssea e reação periosteal (A e B); Aumento de volume de tecidos moles (C); esclerose óssea (D).

41

Figura 5 Imagens radiográficas da articulação tarsal em cão positivo por método PCR para *Leishmania* sp. em projeção mediolateral (esquerda) e projeção dorsoplantar evidenciando efusão articular (direita-seta).

42

Figura 6 Gráfico em barras que indica os níveis de globulina sérica conforme a gravidade da leishmaniose canina em 36 cães que realizaram exames de ultrassonografia articular.

46

Figura 7 Fotomicrografia de exame citológico de líquido sinovial de cão positivo para leishmaniose, na qual se identifica macrófago com formas amastigosta de *Leishmania* sp. Objetiva de 100x.

47

LISTA DE TABELAS

Página

| | | |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Características gerais dos 43 cães diagnosticados com leishmaniose canina, descritas de acordo com a presença ou ausência de alterações ortopédicas identificadas no exame físico. | 35 |
| Tabela 2 | Frequência e intensidade (escore) ultrassonográficos das lesões nas articulações târsicas nos 37 cães com leishmaniose canina com ou sem alterações ortopédicas no exame físico | 36 |
| Tabela 3 | Quantitativo das alterações articulares por antímero encontradas nos exames ultrassonográficos em 37 cães do estudo | 39 |
| Tabela 4 | Quantitativo das alterações articulares por antímero encontradas nos exames radiográficos em 12 cães do estudo. | 43 |
| Tabela 5 | Comparação entre os achados de lesões articulares na avaliação ultrassonográfica ou radiográfica do tarso em cães com leishmaniose canina por <i>Leishmania infantum</i> , com ou sem alterações ortopédicas clínicas detectadas no exame físico | 44 |
| Tabela 6 | Comparação entre a frequência e intensidade (escore) das lesões ultrassonográficas (USG) das articulações târsicas e a gravidade da leishmaniose canina nos 37 cães com leishmaniose estudados | 45 |
| Tabela 7 | Comparação entre a frequência das alterações ortopédicas observadas no exame físico, os achados ultrassonográficos das articulações târsicas e a presença de hiperglobulinemia nos 43 cães com leishmaniose | 46 |
| Tabela 8 | Perfil clínico, gravidade da LCan e as alterações de imagens (USG e RX) de três cães que apresentaram amastigotas de <i>Leishmania sp.</i> no líquido sinovial | 48 |

LISTA DE SIGLAS

ALZ – Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas

DNA - Ácido Desoxirribonucleico

ELISA - Ensaio de Imunoadsorção Enzimática

GAG - Glicosaminoglicano

HOSPMEV: Hospital de Medicina Veterinária Prof. Renato Rodenburg de Medeiros Netto

IgG - Imunoglobulinas G

IL-2: Interleucina 2

IL-4: Interleucina 4

IL-5 Interleucina 5

IL -10 Interleucina 10

IFN - γ Interferon gama

L. infantum: Leishmania infantum

LCan: Leishmaniose canina

LeishVet – Organização colaborativa internacional no estudo das leishmanioses

LS – Líquido sinovial

Mg/dL – Miligramas por decilitro

NK: Natural Killer

OA - Osteoartrite

PCR: Reação de Cadeia da Polimerase

RIFI - Reação de Imunofluorescência Indireta

RX – Raio X

Linfócitos Th1 (do inglês T helper 1) - células T auxiliares tipo 1

Linfócitos Th2 - (do inglês T helper 2) células T auxiliares tipo 2

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa

UFBA – Universidade Federal da Bahia

UPC – Razão proteína/creatinina urinária

USG – Ultrassonografia

SUMÁRIO

| SUMÁRIO | Página |
|--|---------------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2 OBJETIVOS..... | 15 |
| 2.1 OBJETIVO GERAL..... | 15 |
| 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS..... | 15 |
| 3 HIPÓTESES..... | 16 |
| 4 REVISÃO DE LITERATURA..... | 17 |
| 4.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO DE TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE CANINA..... | 17 |
| 4.2 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA LEISHMANIOSE CANINA POR <i>Leishmania infantum</i> | 18 |
| 4.3 DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE CANINA..... | 21 |
| 4.4 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA ARTICULAR NA LCAN..... | 22 |
| 4.4.1 Aspectos anatômicos e fisiológicos das articulações dos cães..... | 22 |
| 4.4.2 Aspectos imunopatológicos da LCan e a doença articular associada..... | 24 |
| 4.5 TÉCNICA DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM DE OSTEOARTROPATIAS EM CÃES..... | 27 |
| 4.5.1 Radiografia no diagnóstico de osteoartropatias em cães..... | 27 |
| 4.5.2 Técnica ultrassonográfica no diagnóstico de osteoartropatias em cães..... | 29 |
| 4.5.2.1 Técnica de USG articular da articulação do tarso..... | 31 |
| 5 MATERIAL E MÉTODOS..... | 32 |
| 5.1 AMOSTRA DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS..... | 32 |
| 5.2 EXAME CLÍNICO E ESCORE DA GRAVIDADE DA LEISHMANIOSE CANINA..... | 32 |
| 5.3 EXAMES DE IMAGEM..... | 33 |
| 5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... | 34 |
| 6 RESULTADOS..... | 35 |
| 6.1 DETECÇÃO DE AMASTIGOTAS DE <i>LEISHMANIA</i> EM EXAMES CITOLÓGICOS DE LÍQUIDO SINOVIAL..... | 47 |
| 7 DISCUSSÃO..... | 49 |

| | |
|---|----|
| 8 CONCLUSÃO..... | 52 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 53 |
| APÊNDICE..... | 55 |
| A. Quadro com diferentes estadiamento clínico da LCan de acordo com anticorpos, sinais clínicos, achados de patologia clínica, tratamento e prognóstico. | 67 |
| B. Quadro com parâmetros para estadiamento clínico da LCan baseado em escore clínico. | 68 |
| ANEXOS..... | 69 |
| Anexo 1. Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) | 69 |
| Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido | 70 |
| Anexo 3. Minuta do Artigo | 71 |

1. INTRODUÇÃO

Os avanços no conhecimento sobre a leishmaniose em cães e o desenvolvimento de tecnologias diagnósticas têm evidenciado a elevada prevalência desta zoonose parasitária, bem como a ampla variedade de alterações patológicas que acometem o hospedeiro canino (Baneth et al., 2008; Solano-Gallego et al., 2009; Silva et al., 2022; WHO, 2024). A apresentação clínica da leishmaniose canina (CanL), causada por *Leishmania infantum*, pode variar desde infecção subclínica até formas sistêmicas graves e terminais (Barrouin-Melo et al., 2006; Gomes et al., 2008; Solano-Gallego et al., 2011; Koutinas & Koutinas, 2014; Meléndez-Lazo et al., 2018). A ocorrência e a intensidade das manifestações clínicas são determinadas pelo equilíbrio entre as respostas imune humoral e celular do cão frente ao parasita (Pinelli et al., 1994; Esch et al., 2013; Hosein et al., 2017; Toepp et al., 2019; 2020).

A imunidade protetora, mediada por linfócitos T auxiliares e por citocinas como IFN- γ , IL-2 e TNF- α , induz a atividade anti-*Leishmania* no interior dos macrófagos (Koutinas & Koutinas, 2014; Tsouloufi et al., 2022). Por outro lado, a suscetibilidade à infecção e à progressão da doença decorre de uma resposta humoral não protetora predominante, associada à inibição da imunidade celular, caracterizada por uma resposta mista de citocinas Th1 e Th2 (Pinelli et al., 1994; Esch et al., 2013; Hosein et al., 2017; Toepp et al., 2019; Toepp et al., 2020). Cães suscetíveis desenvolvem CanL multissistêmica, com manifestações clínicas na pele, olhos ou comportamento, comprometendo a integridade e a função dos sistemas renal, digestório, nervoso, respiratório, musculoesquelético e/ou hemolinfático, resultando em falência orgânica e morte (Solano-Gallego et al., 2011; Sonoda et al., 2013; Koutinas & Koutinas, 2014; Tsouloufi et al., 2022; Silva et al., 2021).

A poliartrite é a alteração musculoesquelética mais comumente descrita em cães com CanL (Spreng, 1993; Agut et al., 2003; Silva et al., 2022; Sbrana et al., 2014). Entre as lesões articulares previamente relatadas estão o acometimento de múltiplas articulações, sinovite, osteoartrite, formação de osteófitos, reação periosteal e anquilose óssea (Agut et al., 2003; Souza-Filho et al., 2024). As manifestações ortopédicas incluem claudicação, dor, aumento de volume articular com edema, derrame articular, limitação de movimento e prostração (Buracco et al., 1997; Agut et al., 2003; Silva et al., 2022). Contudo, a artrite pode ser a única manifestação clínica da CanL. Dois mecanismos fisiopatológicos têm sido propostos para explicar o desenvolvimento de artropatias: uma reação inflamatória de hipersensibilidade tipo III, resultante da deposição de imunocomplexos nas estruturas vasculares articulares, e uma reação inflamatória granulomatosa decorrente da presença direta de

amastigotas de *L. infantum* na articulação (Spreng, 1993; Agut et al., 2003; Koutinas & Koutinas, 2014; Sbrana et al., 2014).

A caracterização por imagem das lesões articulares em CanL, na literatura, baseia-se principalmente em radiografias simples, que evidenciam esclerose subcondral, proliferações ósseas periarticulares, osteófitos e entesófitos, aumento da radiopacidade intra-articular, diminuição do espaço articular, mineralização de tecidos moles adjacentes, formação de cistos subcondrais e redução da radiopacidade subcondral (Agut et al., 2003; Silva et al., 2021). Estudos comparativos demonstraram alterações articulares em exames radiográficos em cerca de 67% dos cães infectados por *L. infantum* (Silva et al., 2021; 2022), enquanto a tomografia computadorizada identificou artropatia em mais de 90% desses animais (Silva et al., 2022).

A ultrassonografia articular, método de baixo custo, rápido e de fácil acesso, permite avaliação da superfície óssea em múltiplos planos, possibilitando identificar alterações que não são detectadas em radiografias (Gomes, 2019). A técnica é validada e considerada confiável para avaliação de alterações sinoviais em humanos (Sellam & Berenbaum, 2010; D'Agostino et al., 2017) e em cães (Ramírez-Flores et al., 2017; Carreira et al., 2024). A sinovite, principal responsável pelos sinais clínicos de artrite, desempenha papel fundamental na progressão das alterações ósseas e cartilaginosas (Sellam & Berenbaum, 2010; Scanzello & Goldring, 2012). Além disso, a ultrassonografia é sensível para detecção de sinovite e possibilita avaliação da cartilagem articular tanto em humanos (Cipolletta et al., 2025; Okano et al., 2016) quanto em cães (Ramírez-Flores et al., 2017), algo que não é possível por meio da radiografia. Outro ponto relevante é que a ultrassonografia apresenta maior sensibilidade que a radiografia para identificação de pequenos osteófitos em humanos (Mathiessen et al., 2013; 2017; Okano et al., 2016) e em cães (Gomes, 2019).

Diante desse contexto, o objetivo deste trabalho foi avaliar a efetividade da ultrassonografia articular no exame de cães com CanL. Para isso, parâmetros obtidos nos exames radiográficos, ortopédicos e nos escores clínicos de estadiamento foram analisados, visando evidenciar a aplicabilidade da técnica na detecção precoce e precisa de alterações locomotoras decorrentes da infecção por *L. infantum* em cães.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Estabelecer e descrever os achados ultrassonográficos articulares em cães naturalmente infectados por *L. infantum*, com a finalidade de conhecer e analisar a taxa de detecção de alterações por essa modalidade de diagnóstico por imagem.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar a ocorrência e caracterizar através de exames físicos específicos e de imagem as alterações ortopédicas diagnosticadas ao exame clínico de um grupo de cães domiciliados em área endêmica e portadores de infecção natural por *L. infantum*, classificados nos diferentes estadios de leishmaniose canina (LCan);

- Avaliar a ocorrência e caracterizar as alterações osteoarticulares detectadas por meio de ultrassonografia nesses cães;
- Analisar comparativamente os achados ultrassonográficos osteoarticulares e os achados radiográficos, relacionando-os aos achados de exame ortopédico.
- Correlacionar os achados ultrassonográficos osteoarticulares o estadiamento clínico em cães com LCan

3. HIPÓTESES

- As lesões articulares que ocorrem na leishmaniose canina, ainda que em fase inicial, podem ser facilmente detectadas por meio de ultrassonografia articular;
- A ultrassonografia articular em cães com leishmaniose possibilita determinar os diferentes graus de intensidade de lesão articular que, por sua vez, é proporcional ao estadio clínico da doença;
- A ultrassonografia articular em cães com leishmaniose identifica parâmetros mais precisos quando comparada à técnica radiográfica e ao exame ortopédico.

4. REVISÃO DE LITERATURA

4.1 ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, AGENTE ETIOLÓGICO E CICLO DE TRANSMISSÃO DA LEISHMANIOSE CANINA

As leishmanioses compõem um grupo de doenças transmitidas por vetores flebotomíneos, causadas por protozoários do gênero *Leishmania* sp., que estão entre as zoonoses de maior relevância globalmente (Oryan; Akbari, 2016; Akhouni *et al.*, 2017). Leishmanioses são consideradas endêmicas em mais de 99 países e territórios no mundo. Desses, 71 países apresentam endemicidade para ambas as formas, visceral e cutânea. A LV é responsável por cerca de 83% dos casos globais em 2023, presentes especialmente em Brasil, Etiópia, Índia, Quênia, Somália, Sudão do Sul e Sudão. Enquanto a LC cerca de 83% dos casos ocorreu em seis países: Afeganistão, Argélia, Brasil, Paquistão, Peru e Síria (Sonoda *et al.*, 2013; Kaszak; Planellas; Dworecka-Kaszak, 2015; Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022). A incidência de infecções por *Leishmania* sp. tem expandido para territórios anteriormente pouco acometidos, como o norte europeu e América do Norte (Oryan; Akbari, 2016). Estima-se que cerca de 2,5 milhões de cães tenham a leishmaniose canina (LCan), doença que tem um impacto significativo para a saúde pública mundial (Teixeira *et al.*, 2005; Oryan; Akbari, 2016).

No Brasil, *Leishmania infantum* é o principal agente causal da leishmaniose visceral (LV) em seres humanos e também da LCan (Brasil, 2014; Ribeiro *et al.*, 2018; Marcondes *et al.*, 2019; Nascimento *et al.*, 2022). Entre 2016 e 2022, a LV por *L. infantum* foi registrada em 53,3% dos municípios brasileiros (2.970), havendo uma média anual de 9.521,8 casos (total em cinco anos = 66 648), com uma taxa de mortalidade de 0,21 óbitos a cada 100.000 habitantes no período (total de 2.261) (Brasil, 2024). Em cães, alguns estudos indicam a prevalência de infecção por *L. infantum* variando entre 4% em Minas Gerais, até 75% em Alagoas (Coura-Vital *et al.*, 2011; Rocha *et al.*, 2018).

L. infantum é a espécie que predominantemente afeta canídeos domésticos e silvestres (Dantas-Torres; Brandão-Filho, 2006; Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022). No âmbito da medicina veterinária, a LCan assume particular importância, uma vez que o cão doméstico é considerado o principal reservatório de *L. infantum* para o vetor flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, que transmite a infecção para e entre hospedeiros mamíferos, incluindo os humanos (Davies *et al.*, 2003; Solano-Gallego *et al.*, 2016; De Sousa Gonçalves *et al.*, 2020). Observa-se um número crescente de relatos de infecção por *L. infantum* em outras espécies domésticas, incluindo felinos e equinos, os

quais manifestam quadro clínico atribuído à ação patogênica do parasito (Ashford, 1996; Dantas-Torres; Brandão-Filho, 2006; Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022).

A transmissão ocorre quando a fêmea de flebotomíneo infectada inocula as formas promastigotas infectantes de *L. infantum* ao se alimentar do sangue de um hospedeiro vertebrado suscetível (Teixeira *et al.*, 2005; Brasil, 2014; Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022). No organismo do hospedeiro vertebrado, o parasito é fagocitado e se transforma na forma amastigota intracelular, que se desenvolve e replica, disseminando-se para diversos tecidos (Koutinas; Koutinas, 2014; Oryan; Akbari, 2016). Os flebotomíneos estão adaptados para a transmissão biológica de *Leishmania* sp., e uma pequena parcela dos flebotomíneos consegue manter a transmissão da doença em zonas endêmicas (Ribeiro *et al.*, 2018; Beasley *et al.*, 2021). Além da via vetorial, outras formas de transmissão já foram identificadas como transfusões sanguíneas, transmissão vertical (transplacentária), e transmissão venérea (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Guedes *et al.*, 2020). Outras formas de transmissão que já foram sugeridas, incluindo a transmissão direta por mordeduras ou lesões cutâneas em canídeos, bem como a transmissão por outros artrópodes hematófagos, como carapatos e pulgas (Davies *et al.*, 2003; Solano-Gallego *et al.*, 2009).

4.2 ASPECTOS FISIOPATOLÓGICOS E MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA LEISHMANIOSE CANINA POR *Leishmania Infantum*

A infecção por *L. infantum* em cães pode gerar um amplo espectro de respostas imunológicas, que resultam em condições patológicas que podem variar de infecção subclínica, com caráter autolimitante, ao desenvolvimento de doença que acomete diversos órgãos e sistemas, apresentando quadros clínicos graves (Gharbi *et al.*, 2015; Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017).

A resposta imune celular é essencial no controle da LCan no organismo do hospedeiro e é mediada principalmente pelos linfócitos T auxiliares do tipo 1 (Th1), os quais produzem citocinas como o interferon gama (IFN- γ), a interleucina 2 (IL-2) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α). Essas citocinas atuam diretamente na ativação de macrófagos infectados, promovendo a destruição do parasito intracelular (Bogdan; Röllinghoff, 1998; Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017; Molina *et al.*, 2023). Cães que desenvolvem uma resposta Th1 ativa e predominante apresentam maior capacidade de eliminação do parasito por meio da resposta imune celular, o que resulta em baixa carga parasitária, menores títulos de anticorpos séricos e ausência ou manifestações clínicas moderadas (Sbrana *et al.*,

2014; Brito *et al.*, 2021). Esses cães são descritos como resistentes e menos infecciosos aos flebotomíneos (Magalhães-Júnior *et al.*, 2016; Travi *et al.*, 2018).

Entretanto, *L. infantum* pode modular e evadir a resposta imune do cão, remodelando o vacúolo parasítóforo e impedindo a ação leishmanicida dos macrófagos, e multiplica-se a ponto de causar a ruptura da membrana desses fagócitos, liberando mais formas amastigotas (Pinelli *et al.*, 1994; Ribeiro-Gomes; Sacks, 2012; Gupta *et al.*, 2013). Essas amastigotas serão então fagocitadas por outras células do sistema fagocitário mononuclear, cuja migração as transporta ao sangue, fígado, baço e medula óssea (Gregory, 2011; Kim; Shin, 2021; Rettiger, 2022; Karthik; Kannan, 2023). Animais que desenvolvem uma resposta imune predominantemente Th2 são incapazes de controlar ou eliminar os parasitos dentro dos macrófagos, devido à inibição da reação de oxidação por óxido nítrico dentro dos fagolisossomos que contêm as amastigotas de *Leishmania* (Debrabant *et al.*, 2003; Goto; Mizobuchi, 2023). Esses cães apresentam alta carga parasitária, elevados títulos de anticorpos e desenvolvem sinais e manifestações clínicas da doença. Devido à predominância da resposta imune do tipo Th2, ocorre a ativação dos linfócitos B, e produção intensa de imunoglobulinas M e G, que, além de serem incapazes de controlar a infecção, se ligam a抗ígenos circulantes, formando imunocomplexos que se depositam em vasos de tecidos e órgãos, entre eles a membrana sinovial e rins (Solano-Gallego *et al.*, 2009).

Os anticorpos são as imunoglobulinas produzidas pelos linfócitos B com a função de neutralizar e opsonizar para eliminar os microrganismos e toxinas presentes fora das células do organismo hospedeiro (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). Essas imunoglobulinas têm um papel fundamental na prevenção da invasão de células e tecidos pelo agente patogênico, impedindo assim o estabelecimento de infecções (Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017). Por outro lado, a maioria das células T possui função de reconhecimento a apenas alguns抗ígenos proteicos, produzidos por microrganismos no interior da célula (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). *Leishmania* sp. é um parasito intracelular, e por isso anticorpos não possuem a capacidade de neutralizá-lo, sendo assim a defesa contra esses microrganismos intracelulares é mediada, primordialmente, por células como os linfócitos T (LT). O grupo de linfócitos T é composto pelos LT auxiliares (ou helper, do inglês) CD4+, que secretam citocinas que direcionam o tipo predominante de resposta imune Th1 ou Th2 (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). Na resposta Th1, esses linfócitos produzem as citocinas interleucina-2 (IL-2), interferon gama (IFN- γ) e fator de necrose tumoral alfa (FNT- α) que ativam fagócitos para eliminação de microrganismos nas vesículas fagocitadas, enquanto os LT CD8+ destroem células infectadas por patógenos (Debrabant *et al.*, 2003; Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). Na resposta Th2, os linfócitos

TCD4+ produzem interleucina-4 (IL-4), interleucina-5 (IL-5) e interleucina-10 (IL-10) as quais estimulam a produção de anticorpos circulantes (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Abbas; Lichtman; Pillai, 2017).

A resposta humoral nas formas subclínicas ou clinicamente manifestas da LCan tem sido motivo de debate (García-Castro *et al.*, 2022). Algumas pesquisas têm demonstrado uma predominância de IgG-1 em infecções subclínicas, enquanto outras colocam esse subtipo de IgG como marcador de suscetibilidade associado ao aparecimento de sinais clínicos (Nieto *et al.*, 1999; Solano-Gallego *et al.*, 2001; Carrillo *et al.*, 2007; Lima *et al.*, 2017). Por outro lado, a IgG-2 também tem sido associada à proteção imune em cães com infecção subclínica que apresentariam níveis elevados desse subtipo de IgG, enquanto os cães com LCan manifesta produziriam níveis ainda mais altos (Solano-Gallego *et al.*, 2001; Fernández-Pérez *et al.*, 2003; Da Costa-Val *et al.*, 2007). Outros autores, porém, não verificaram essa relação entre as respostas de IgG-1 e IgG-2 e o quadro clínico canino (Quinnell *et al.*, 2003; Travi *et al.*, 2009; Boggiatto *et al.*, 2010; Carson *et al.*, 2010; Coura-Vital *et al.*, 2011; Ribeiro *et al.*, 2011). De qualquer forma, os quadros graves são associados a resposta humoral intensa e alta carga parasitária (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Montserrat-Sangrà *et al.*, 2018; Segarra, 2021).

Os sinais clínicos podem começar com a lesão no local de inoculação, geralmente ulcerativa, em decorrência da resposta inflamatória no local, que pode regredir após alguns dias, enquanto pode ocorrer replicação nos demais órgãos e tecidos, onde também haverá resposta inflamatória granulomatosa (Ciaramella *et al.*, 1997; Kaszak; Planellas; Dworecka-Kaszak, 2015). Os estadios iniciais da doença não estão associados a sinais gerais claros, mas com a progressão da infecção, o sinal mais frequentemente observado é a adenomegalia, na qual os linfonodos se tornam dolorosos e palpáveis (Koutinas; Koutinas, 2014; Gharbi *et al.*, 2015; Kaszak; Planellas; Dworecka-Kaszak, 2015).

As manifestações dermatológicas são, normalmente, as primeiras observadas pelos responsáveis pelos animais, e as mais frequentes incluem descamação da pele, lesões cutâneas nodulares, ulcerativas ou pustulares, dermatite esfoliativa, alopecia, reações eritematosas e onicogrifose (Solano-Gallego *et al.*, 2011; Meléndez-Lazo *et al.*, 2018; Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022). Outras apresentações envolvem alterações oculares (blefarite, uveíte e ceratoconjuntivite), hepáticas e esplênicas, porém os sinais obtidos ao exame físico podem ser inespecíficos (Morales-Yuste; Martín-Sánchez; Corpas-Lopez, 2022). Na maioria dos casos, é observada linfonodomegalia, apatia, emaciação e atrofia muscular, e insuficiência renal que consiste na principal causa de óbito decorrente da infecção (Ciaramella *et al.*, 1997; Manzillo *et al.*, 2013;

Solano-Gallego *et al.*, 2011; Kaszak; Planellas; Dworecka-Kaszak, 2015). Em alguns casos, o acometimento articular e, consequentemente, a claudicação, podem ocorrer (Spreng, 1993; Sbrana *et al.*, 2014).

O grupo de pesquisa LeishVet desenvolveu um sistema de estadiamento clínico e laboratorial para o diagnóstico, prognóstico e tratamento mais precisos, de acordo com a gravidade da apresentação clínica e parâmetros laboratoriais (Solano-Gallego *et al.*, 2009; 2011). São quatro estadios de evolução: estadio I (doença leve), estadio II (doença moderada), estadio III (doença grave) e estadio IV (doença muito grave) (Apêndice A). Outros autores também descrevem sistemas para determinar a gravidade da LCan por meio de pontuação (escore) para as alterações clínicas classificando a gravidade da LCan com base no escore total em doença leve (escore <16), moderada (escore 16–30) e grave (>30) (Silva *et al.*, 2017) (Apêndice B).

4.3 DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE CANINA

O diagnóstico da leishmaniose canina é complexo dada a diversidade de manifestações clínicas nos cães, além do que a infecção por *Leishmania* sp. pode não implicar, necessariamente, doença clínica (Gharbi *et al.*, 2015; Solano-Gallego *et al.*, 2001). A detecção de DNA de *Leishmania* sp. em amostras biológicas de cães clinicamente saudáveis de regiões endêmicas sugere a ocorrência de infecção subclínica, indicando que esses animais são portadores do patógeno, mas não manifestam sinais clínicos (Molina *et al.*, 2023).

O estabelecimento do estadio clínico da LCan deve ser embasado não apenas nos sinais verificados ao exame físico, mas também em alterações clínico-patológicas detectáveis em análises clínico-patológicas (Solano-Gallego *et al.*, 2011). Além do aumento de globulinas, que caracteriza hiperproteinemia devido à hiperglobulinemia, as alterações bioquímicas mais frequentes podem incluir azotemia associada à disfunção renal e hipoalbuminemia, resultante da perda proteica na urina, decorrente de lesão e disfunção renais (Meléndez-Lazo *et al.*, 2018). As principais alterações nos exames urinários incluem proteinúria persistente e aumento da relação proteína/creatinina urinária (UPC), decorrentes de lesões associadas à deposição de imunocomplexos nos glomérulos renais (Solano-Gallego *et al.*, 2009). Dentre as alterações hematológicas, destacam-se a anemia não regenerativa, leucocitose ou leucopenia e trombocitopenia, associadas a processos inflamatórios sistêmicos crônicos e/ou distúrbios na medula óssea.

A identificação de imunoglobulinas G (IgG) específicas para antígenos de *Leishmania* sp. pode ser realizada por meio de técnicas sorológicas, dentre elas a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) e o Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA) são os mais utilizados (Gharbi *et al.*, 2015; Solano-Gallego *et al.*, 2016). Concentrações elevadas de anticorpos são frequentemente correlacionadas com altas cargas parasitárias e manifestações clínicas mais intensas (Rodríguez-Cortés *et al.*, 2006). No entanto, existem cães soronegativos, o que pode ser atribuído ao período de incubação ou infecções autolimitantes (Molina *et al.*, 2023; Solano-Gallego *et al.*, 2000).

Métodos diagnósticos como a citologia, histopatologia e a reação em cadeia da polimerase (PCR) permitem o diagnóstico do parasito envolvido no quadro (Nunes *et al.*, 2007; Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017). Para confirmar a infecção, os métodos disponíveis incluem exames parasitológicos por meio de citologia, que permitirá a identificação de amastigotas em amostras provenientes de aspirados de lesões cutâneas, linfonodos, medula óssea e baço, por meio de microscopia direta (Gharbi *et al.*, 2015). Técnicas de biologia molecular permitem detectar o DNA parasitário em amostras teciduais (Lachaud *et al.*, 2002; Quaresma, 2007; Hosein *et al.*, 2015). A PCR (convencional e quantitativa) confere acurácia do diagnóstico parasitológico, sendo reconhecida como o método diagnóstico de maior sensibilidade e especificidade (Solano-Gallego *et al.*, 2009; Molina *et al.*, 2023), e é aplicável em amostras de medula óssea, linfonodos, baço ou pele, embora a sensibilidade para detecção em sangue total e urina seja menor (Quaresma, 2007; Hosein *et al.*, 2015; Molina *et al.*, 2023). A PCR quantitativa em tempo real é capaz de detectar cargas parasitárias em quantidades significativamente menores, quando comparada à PCR convencional (Rodríguez-Cortés *et al.*, 2006; Hosein *et al.*, 2015; Molina *et al.*, 2023).

4.4 FISIOPATOLOGIA DA DOENÇA ARTICULAR NA LCAN

4.4.1 Aspectos anatômicos e fisiológicos das articulações dos cães

A função das articulações é proporcionar estabilidade no suporte de peso do corpo em movimento, e a movimentação articular deve ser indolor para que o animal possa ter uma deambulação normal (Constantinescu; Constantinescu, 2009; Villamonte-Chevalier *et al.*, 2015). O diagnóstico e manejo da doença articular dependem da compreensão da anatomia e fisiologia do sistema musculoesquelético (Agut *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2021).

A classificação anatômica das articulações pode ser resumida em articulações fibrosas (sinartroses), cartilaginosas (anfiartroses) e sinoviais (diartroses) (Decamp *et al.*, 2015). As

articulações sinoviais permitem a maior quantidade de movimentos e são compostas por cavidade articular, cápsula articular, líquido sinovial, cartilagem articular e osso subcondral (Decamp *et al.*, 2015; Tabar *et al.*, 2022). Algumas articulações possuem, também, ligamentos intra-articulares, meniscos e coxins gordurosos. A superfície articular do osso é coberta por cartilagem hialina e os ossos são unidos por uma cápsula articular e ligamentos. A cápsula articular é composta por uma membrana sinovial interna que produz líquido sinovial e uma camada fibrosa externa que auxilia na estabilidade articular (Decamp *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2022).

A amplitude de movimento das articulações é limitada pela ação de músculos, ligamentos, cápsula articular e pela conformação óssea. Assim e como qualquer sistema mecânico sujeitos ao desgaste, as articulações dos animais não são exceção. Embora o processo degenerativo ocorra naturalmente com o envelhecimento, ele pode ser acelerado ou agravado por trauma, doenças, bem como por alterações estruturais e bioquímicas na cartilagem articular (Tabar *et al.*, 2022).

A lubrificação articular, fundamental para reduzir o atrito e manter a estrutura articular em condições funcionais adequadas (Caine *et al.*, 2009), e pode ser afetada pela natureza e geometria das superfícies articulares, pela integridade da membrana sinovial, pelas propriedades físicas e químicas do fluido sinovial, pela carga empreendida na articulação e pelo tipo de movimento articular realizado (Buracco *et al.*, 1997; Decamp *et al.*, 2015).

A membrana sinovial é altamente vascularizada, aderindo-se ao periôsteo nas regiões de reflexão óssea e recobrindo todas as estruturas intra-articulares, exceto a cartilagem articular e os meniscos (Decamp *et al.*, 2015). Seu revestimento pode estender-se além da camada fibrosa, formando bolsas sinoviais sob tendões e ligamentos. Os sinoviócitos, células constituintes da membrana sinovial, desempenham funções essenciais de fagocitose e de produção do líquido sinovial (Decamp *et al.*, 2015).

A cartilagem articular normal de um animal adulto apresenta coloração branca, superfície lisa, brilhante e translúcida, além de ser desprovida de vasos sanguíneos, linfáticos e terminações nervosas. O suprimento nutricional da cartilagem ocorre por difusão através do líquido sinovial e da matriz cartilaginosa, antes de alcançar os condrócitos (Decamp *et al.*, 2015; Tabar *et al.*, 2022).

O líquido sinovial é um dialisado do plasma sanguíneo ao qual os sinoviócitos adicionam glicosaminoglicanos (GAG) (Araujo *et al.*, 2016; Silva *et al.*, 2022). Sua principal função é a lubrificação, reduzindo o atrito e prevenindo o desgaste da cartilagem articular. Além disso, o líquido

sinovial fornece nutrientes para a cartilagem e contribui para a manutenção do equilíbrio eletrolítico e metabólitos intra-articular. O principal GAG do fluido sinovial é o ácido hialurônico, que é altamente polimerizado e impede que proteínas séricas de alto peso molecular entrem no fluido (Tabar *et al.*, 2022). As proteínas do líquido sinovial aumentam em condições inflamatórias devido a uma diminuição neste estado polimerizado do ácido hialurônico ou como resultado de um aumento na permeabilidade capilar do subsinóvio. Ambas as situações causam derrame articular (Decamp *et al.*, 2015).

4.4.2 Aspectos imunopatológicos da LCan e a doença articular associada

Alguns autores propõem que o desenvolvimento de artrite ou poliartrite na LCan pode estar associado a diferentes mecanismos patogênicos, incluindo a presença de formas amastigotas no interior da articulação, transportadas por células de defesa do organismo, desencadeando uma resposta inflamatória local e/ou reação de hipersensibilidade tipo III decorrente de inflamação sistêmica, com deposição de imunocomplexos nos vasos dos tecidos periarticulares e da membrana sinovial (Agut *et al.*, 2003; Debrabant *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2022). Esses estudos também indicam que ambos os mecanismos podem coexistir em uma mesma articulação.

A degeneração articular observada na LCan pode ser desencadeada tanto pela presença do parasita na articulação, induzindo uma reação inflamatória linfoplasmocitária a granulomatosa, quanto por uma reação de hipersensibilidade do tipo III, caracterizada por inflamação neutrofílica subsequente à deposição complexos imunes na sinóvia, resultando em sinovite e poliartrite (Decamp *et al.*, 2015). Os sinais clínicos frequentemente relatados incluem febre, claudicação, artroginia, crepitação articular, edema de tecidos moles periarticulares e atrofia muscular. Em estudos recentes, os sinais mais comuns foram claudicação (40%) e artralgia (20%) em cães com alterações ao exame físico, enquanto manifestações menos frequentes incluíram edema de tecidos moles ao redor da articulação, rigidez, crepitação articular e incapacidade funcional (Silva *et al.*, 2021).

No caso da LCan, a resposta imune à infecção é muito variável e, dependendo do desenvolvimento, pode influenciar no controle ou progressão da infecção, evoluindo para doença clínica imunomediada (Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017; Molina *et al.*, 2023). Assim, a resposta imune também pode gerar lesão tecidual e, consequentemente, doenças imunomediadas, classificadas como reações de hipersensibilidade. Na doença imunomediada, a resposta ao antígeno desencadeia a ativação de respostas imunes excessivas ou anormais resultando em lesão tecidual (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017; Hosein; Blake; Solano-Gallego, 2017; Tsouloufi *et al.*, 2022). As reações de

hipersensibilidade já foram descritas como sendo a base de muitas doenças imunológicas e imunomediadas crônicas em seres humanos e em animais (Debrabant *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2006; Paz *et al.*, 2021). A reação de hipersensibilidade tipo III, ou doença por imunocomplexos é uma categoria de doenças mediadas por anticorpos (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017). Na LCan, os imunocomplexos são compostos de proteínas agregadas de *Leishmania* sp., anticorpos IgG e IgM anti-*Leishmania* e, em menor quantidade, partes do sistema complemento (Parody *et al.*, 2019). Esses complexos imunes ativam os macrófagos enquanto impedem a síntese de IL-12 e, consequentemente, a produção de IFN- γ ; esses macrófagos, ao migrar para as áreas em que há deposição de imunocomplexos, secretam níveis elevados de IL-10, citocina que impede a atuação da imunidade mediada por células, incapacitando o macrófago a conter a infecção (Miles *et al.*, 2005; Gizzarelli *et al.*, 2020). Assim, os imunocomplexos se depositarão nos vasos sanguíneos de órgãos específicos, levando à inflamação crônica e lesão tecidual, causando também uma série de manifestações clínicas encontradas na LCan (Abbas; Lichtman; Pillai, 2017; Debrabant *et al.*, 2003; Gizzarelli *et al.*, 2020).

Quando os imunocomplexos se depositam em vasos sanguíneos, pelos quais o plasma é filtrado em alta pressão, como os glomérulos renais, a úvea e a sinóvia articular, a inflamação resultante pode causar glomerulites, glomerulonefrites, nefrite, uveítis e artrites. Essas condições são comumente observadas em cães com formas graves de leishmaniose causada por *L. infantum* (Chamizo; Moreno; Alvar, 2005; Costa *et al.*, 2003; Koutinas; Koutinas, 2014). As artropatias descritas na LCan, assim, decorrem de uma série de eventos que envolvem ações quimiotáticas e ativação do complemento (Parody *et al.*, 2019; Tsouloufi *et al.*, 2022).

A artrite canina induzida pela leishmaniose pode ser classificada como infecciosa ou não-infecciosa (Spreng, 1993; Debrabant *et al.*, 2003). A poliartrite pode ainda ser subdividida em erosiva ou não-erosiva, com base na presença ou ausência de destruição da cartilagem articular e do osso subcondral, visualizados por radiografia, tomografia. Contudo, nada há na literatura acerca da ultrassonografia (Sbrana *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2022). A forma não-erosiva imunomediada é a mais comum entre os cães com LCan e resulta de uma reação inflamatória granulomatosa causada pela deposição de imunocomplexos nos vasos da membrana sinovial (Agut *et al.*, 2003; Santos *et al.*, 2006; Sbrana *et al.*, 2014). A forma erosiva se caracteriza pela fagocitose de amastigotas realizada por macrófagos, ativação do complemento e leucotaxia, promovendo a liberação de citocinas (colagenases), que degradam a matriz cartilaginosa causando uma lesão de desgaste (Agut *et al.*, 2003; Blavier *et al.*, 2001; McConkey *et al.*, 2002; Sbrana *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2022).

Histologicamente, a cartilagem articular é composta de condrócitos, fibras e substância fundamental, com 80% da cartilagem é água, 10% é colágeno e 10% é proteoglicano (Decamp *et al.*, 2015; Tabar *et al.*, 2022). As condições articulares inflamatórias podem ser distinguidas das não inflamatórias pela análise do líquido sinovial (Agut *et al.*, 2003; Silva *et al.*, 2022). Em condições inflamatórias, o padrão eletroforético da proteína do líquido sinovial se torna alterado: os açúcares ficam diminuídos, a população celular aumenta e as proporções do tipo celular mudam (Marcelino Silva *et al.*, 2023). O estado polimerizado do ácido hialurônico pode ser estimado usando o teste de precipitado de ácido acético glacial. A qualidade dos glicosaminoglicanos diminui rapidamente na presença de algumas infecções e pode diminuir lentamente na osteoartrite crônica (Caine *et al.*, 2009). A viscosidade do líquido sinovial está relacionada a esta mucoproteína; sendo maior em pequenas articulações e em baixas taxas de cisalhamento e uso (Decamp *et al.*, 2015; Silva *et al.*, 2022). Assim, uma lesão articular mecânica ou química não é reconhecida pelo sistema imunológico e nociceptivo até que uma reação sinovial ocorra. Como a cartilagem não possui vasos sanguíneos, o processo de reparo inflamatório após o trauma não ocorre, assim, as lesões profundas invadem o osso subcondral (Decamp *et al.*, 2015).

A diminuição da atividade física associada à osteoartropatia e aos distúrbios locomotores na LCan podem chegar a 30% dos cães afetados (Buracco *et al.*, 1997). Contudo, estudos mais recentes observaram o acometimento em 83,1% dos animais acometidos por LCan (Silva *et al.*, 2022). O envolvimento osteoarticular desses animais com poliartrite vêm sendo descrito clinicamente por claudicação, artroginia, edema de tecidos moles, diminuição da amplitude de movimento articular, paresia e atrofia muscular associada, que podem ser proporcionadas devido às poliartrites (Agut *et al.*, 2003; Caine *et al.*, 2009; Drumond; Uno; Xavier, 2021; Tabar *et al.*, 2022). Associado à degeneração articular pode ocorrer um processo de proliferação óssea com formação de osteófitos, que no caso da osteoartrite acontece quando células no revestimento sinovial são estimuladas a proliferar e iniciam o processo de osteogênese (Decamp *et al.*, 2015; Araújo, 2016). Essas células, em desenvolvimento, passam por condrogênese e depositam moléculas da matriz, como agrecano (uma macroproteína presente na matriz extracelular dos tecidos cartilaginosos), sofrendo hipertrofia, seguido por ossificação endocondral e formação de cavidades medulares, e o osteófito já desenvolvido é integrado ao osso subcondral original (Van der Kraan; Van den Berg, 2007; Lima de Sousa; Tereza; Borges, 2019). Adicionalmente, a viscosidade e a qualidade do coágulo de mucina diminuem nos cães com LCan, principalmente naqueles com parasito no líquido sinovial. Esses animais apresentam no líquido sinovial (LS) aumento de polimorfonucleares, sobretudo de neutrófilos, sendo possível visualizar as

formas amastigotas. Parasitos são visibilizados no LS em maior frequência nos cães classificados no estadiamento II e III da doença (Araújo, 2016).

As doenças osteoarticulares provocam dor, inflamação, alterações funcionais e estruturais, além comprometimento da mobilidade, fatores que contribuem para sua progressão (Decamp *et al.*, 2015). A dor, por sua vez, resulta em deterioração do aparelho locomotor, tanto local quanto de forma sistêmica, em consequência da diminuição e alteração da mobilidade (Sbrana *et al.*, 2014).

Os processos patológicos envolvidos na artrite e osteoartrite (OA), como espessamento da cápsula articular, reações periosteais, osteófitos e anquilose, contribuem para a alteração da amplitude de movimento, que agrava as alterações musculoesqueléticas levando a um ciclo de progressão da doença (Tabar *et al.*, 2022). A ruptura do ligamento cruzado cranial provavelmente possui uma origem multifatorial, envolvendo fatores genéticos, conformação anatômica e inflamação articular crônica. Contudo, estudos sugerem que mecanismos imunopatológicos podem estar envolvidos no desenvolvimento de lesões degenerativas do ligamento cruzado cranial (Decamp *et al.*, 2015). Além disso, os impulsos nociceptivos contínuos para o sistema nervoso central provocam a deterioração do sistema somatossensorial e sensibilização central, que corroboram a intensificação da percepção geral da dor. O tratamento para as alterações funcionais e estruturais associadas à OA canina é difícil e complexo, assim, a intervenção precoce tem um grande potencial para um manejo clínico mais eficaz da OA (Decamp *et al.*, 2015).

Medidas preventivas, dentre elas diagnóstico precoce, uso de protetores articulares e controle da imunidade do animal permitem interromper o círculo progressivo da deterioração multifuncional, e incluem iniciar um plano de cuidados apropriado em longo prazo e associação com terapia analgésica, evitando assim a dor crônica (Cachon *et al.*, 2018; Tabar *et al.*, 2022).

4.5 TÉCNICAS DE DIAGNÓSTICO POR IMAGEM DE OSTEOARTROPATHIA EM CÃES

4.5.1 Radiografia no Diagnóstico de Osteoartropatias em Cães

Os sinais radiográficos de doença articular podem aparecer de forma inespecífica, principalmente em animais com doença articular progressiva, quando examinados durante as diferentes fases da doença, sendo, portanto, fundamental a avaliação diagnóstica por imagem das artropatias (Slappendel; Slappendel, 1988; Thrall; Widmer, 2019). Os ossos e as articulações podem responder a lesões ou doenças de diversas formas, sendo que vários fatores podem influenciar direta

ou indiretamente na ativação ou inibição da remodelação óssea, dentre os quais podem levar à estimulação de osteoclastos, desencadeando a absorção óssea (Muramoto; Sterman; Pinto, 2005).

O aumento de opacidade óssea é associado à presença de mineralização ou à proliferação óssea, e o estresse anormal contínuo em uma superfície articular leva ao espessamento cortical e caracterização de esclerose óssea nessa região. Margens escleróticas geralmente cercam áreas inflamatórias ou de infecção (Kealy; McAllister; Graham, 2005).

As alterações radiolucentes podem estar relacionadas a áreas de osteólise ou absorção óssea em decorrência de um processo de lise ou degradação. A reação periosteal surge como uma irregularidade fina de margens tortuosas que confere ao osso uma imagem de contorno indistinta no local da lesão. Os tipos de reação periosteal podem ser identificados como: regular, lamelar, paliçada, espicular, amorfa ou triângulo de Codman e evidenciação do trabeculado ósseo (Turrel; Pool, 1982; Kealy; McAllister; Graham, 2005; Mathiessen *et al.*, 2017; Silva *et al.*, 2021).

Um aumento moderado do volume articular capsular ou intracapsular de tecidos moles pode ser detectado em radiografias de boa qualidade. Em contrapartida, a cartilagem articular, líquido sinovial, membrana sinovial e a cápsula articular não podem ser diferenciados no exame radiográfico, pois possuem densidades de tecidos moles semelhantes (Widmer; Thrall, 2018).

Em comparação aos métodos de diagnóstico mais sofisticados, como a tomografia computadorizada, a radiografia possui uma sensibilidade de 67% e com maior acurácia nos estádios mais avançados da doença, nos quais é possível observar achados mais evidentes, sendo as articulações mais acometidas a articulação tarsal, seguida pelo joelho, carpo e cotovelo (Silva *et al.*, 2021).

No exame radiográfico das alterações articulares encontradas na LCan, os achados sugerem lesões relacionadas à osteoartrite, incluindo evidenciação do trabeculado ósseo, esclerose do osso subcondral, diminuição do espaço intra-articular, edema de tecidos moles, reações proliferativas e osteófitos (Silva *et al.*, 2022).

No que tange aos achados radiográficos, diferentes relatos têm descrito que as lesões osteoarticulares podem ser classificadas como erosivas (Wolschrin *et al.*, 1996; Koutinas *et al.*, 1999; Blavier *et al.*, 2001; McConkey *et al.*, 2002; Agut *et al.*, 2003) e não erosivas (Spreng, 1993; Koutinas *et al.*, 1999; Agut *et al.*, 2003), dependendo da evolução da doença e da resposta imune do animal.

Alguns outros relatos afirmam que as lesões podem ocorrer de forma mista, ou seja, osteolítica e osteogênica concomitantemente (Silva *et al.*, 2007; Silva, 2009; Silva *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2012).

4.5.2 Técnica Ultrassonográfica no Diagnóstico de Osteoartropatias em Cães

A ultrassonografia é um método relativamente versátil, acessível e relativamente econômico, que atua de forma complementar à radiografia no exame de estruturas musculoesqueléticas. Nos casos em que a radiografia não permite elucidar o diagnóstico, a ultrassonografia deve ser considerada antes da utilização de modalidades de imagem mais onerosas, como a tomografia computadorizada ou a ressonância magnética. Tal como em outras regiões anatômicas, a avaliação ultrassonográfica do aparelho locomotor requer conhecimento detalhado da anatomia envolvida e atenção rigorosa à técnica de varredura. Essa modalidade é particularmente desafiadora devido ao tamanho reduzido de muitas estruturas de interesse, o que demanda o uso de transdutores de alta frequência e posicionamento preciso para obtenção de imagens de qualidade ideal (Zwingenberger; Benigni; Lamb, 2014).

A ultrassonografia é uma ferramenta importante no diagnóstico de afecções musculoesqueléticas em pacientes humanos e seu uso na rotina clínica tem reduzido a necessidade de ressonância magnética (Sousa; Borges, 2019). Na medicina veterinária, a ultrassonografia é pouco utilizada para avaliação musculoesquelética em pequenos animais, mesmo quando a ressonância magnética não está ainda amplamente disponível no Brasil e os exames radiográficos ainda são utilizados com maior frequência para diagnosticar alterações osteoarticulares em cães e gatos (Caine *et al.*, 2009; Sakellariou *et al.*, 2017; Gomes; Hagen, 2019).

A presença de osteófitos periarticulares identificados em imagens radiográficas é um sinal importante de osteoartrite. No entanto, alterações inflamatórias mais precoces, como efusão intra-articular, sinovite, degradação da cartilagem e lesões meniscais, são difíceis de serem observadas radiograficamente (Sakellariou *et al.*, 2017; Sousa; Borges, 2019). A ultrassonografia é capaz de diferenciar efusão sinovial, identificar lesões meniscais com alta sensibilidade e especificidade, avaliar a cartilagem articular e osso subcondral em áreas passíveis de avaliação. Além disso, sua capacidade de avaliação multiplanar da superfície óssea permite identificar osteófitos não detectados pela técnica radiográfica (Nosovicki, 2016; Gomes; Hagen, 2019). Estudos em humanos acerca de osteoartrite de joelho e mão demonstraram que a ultrassonografia articular é a técnica mais sensível do que a radiografia convencional na detecção de osteófitos (Van der Kraan; Van den Berg, 2007; Mathiessen *et al.*, 2017). Assim como outras modalidades de imagem, a ultrassonografia tem limitações, sendo uma delas a incapacidade de acessar toda a articulação, e a dependência da habilidade do examinador,

exigindo conhecimento e treinamento especializado (Nosovicki, 2016; Gomes; Hagen, 2019; D'Anjou; Blond, 2025).

Na técnica ecográfica articular, um transdutor linear de alta frequência é requerido para realização do exame, mas nem sempre é ideal devido à superfície pequena e/ou curva de algumas estruturas (Kealy; McAllister; Graham, 2005; Sousa; Borges, 2019). As sondas curvilíneas podem ser úteis para áreas com superfície curva ou porções mais profundas que requerem menor frequência do transdutor (Zwingenberger; Benigni; Lamb, 2014; Carvalho; Vianna, 2016; D'Anjou; Blond, 2025).

Muitos estudos de ultrassom musculoesquelético podem ser concluídos sem anestesia ou sedação, embora um paciente parado e relaxado facilite um exame detalhado e completo, que inclui a varredura de estruturas durante o movimento passivo (Kealy; McAllister; Graham, 2005; Sousa; Borges, 2019). A varredura de comparação de estruturas contralaterais pode ser necessária quando uma referência anatômica adequada estiver faltando. Para pacientes que também requerem radiografia e pacientes com lesões dolorosas ou que podem precisar de aspiração por agulha fina guiada por ultrassom ou biópsia, realizar todo o exame durante uma sessão com anestesia geral pode ser mais eficiente (Zwingenberger; Benigni; Lamb, 2014; Carvalho; Vianna, 2016; D'Anjou; Blond, 2025).

Alterações inflamatórias como a sinovite e a efusão são relacionadas com a degradação da cartilagem articular. A USG identifica a efusão articular e a sinovite com boa acurácia, tendo a vantagem de ser uma modalidade não invasiva e de baixo custo. Contudo, o exame radiográfico, apesar de não identificar com precisão a sinovite e efusão articular, ainda é a modalidade de imagem mais utilizada no diagnóstico de pacientes com osteoartrite (Sousa; Borges, 2019). Adicionalmente, a avaliação multiplanar da ecografia articular é mais sensível na detecção de osteófitos milimétricos e localizados em regiões de difícil visualização pela técnica radiográfica (Van der Kraan; Van den Berg, 2007; Nascimento *et al.*, 2022).

O menisco é formado por tecido fibrocartilaginoso e é visualizado na ultrassonografia como uma estrutura triangular, hiperecogênica e homogênea entre os côndilos do fêmur e da tibia. Presença de efusão, hiperecogenicidade ou hipoeogenicidade do menisco, contorno irregular e deslocamento são as principais alterações que podem ser encontradas na USG (Kealy; McAllister; Graham, 2005). Foi demonstrado em trabalhos anteriores que a ecografia articular para avaliação meniscal possui elevada sensibilidade e especificidade em comparação com a artroscopia (Mahn *et al.*, 2005).

A cartilagem articular é composta de tecido cartilaginoso que é caracterizado como uma forma especializada de tecido conjuntivo de consistência rígida. Essa cartilagem desempenha a função de suporte de tecidos moles, reveste superfícies articulares, onde absorve choques, e facilita o deslizamento dos ossos na articulação (Carvalho; Vianna, 2016; Maeguchi *et al.*, 2018). O grau de alteração e a espessura da cartilagem podem ser avaliadas no exame de USG articular de forma eficiente quando comparado com a artroscopia (Maeguchi *et al.*, 2018).

A USG articular requer equipamentos de imagem de alta definição e transdutores de alta frequência, mas a sua incapacidade de penetrar tecido mineralizado restringe o acesso a certas estruturas anatômicas; entretanto, as principais limitações ao uso da ultrassonografia musculoesquelética são devidas à dependência do operador, exigindo experiência técnica Zwingenberger; Benigni; Lamb, 2014). Em decorrência de seu baixo custo e a maior disponibilidade em comparação com a ressonância magnética, a USG tem potencial para o diagnóstico precoce de alterações musculoesqueléticas em cães (Carvalho; Vianna, 2016).

4.5.2.1 Técnica de USG articular da articulação do tarso

A ultrassonografia do tarso para diagnóstico de lesões articulares tem sido aplicada em equinos há bastante tempo (Genovese *et al.*, 1986; Dik, 1993). Pode ser utilizada para diagnosticar lesões em estruturas de tecidos moles que sustentam articulações do cão. Trabalhos anteriores demonstraram que é a articulação mais acometida em cães que apresentam osteoartropatias devido a LCan (Kramer *et al.*, 1999; Lamb; Wong, 2005; Mattern *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2021). A USG já foi usada para examinar partes do tarso saudável de cães, principalmente o tendão calcâneo (Lamb; Duvernois, 2005). Várias estruturas de tecidos moles tarsais e periarticulares podem ser avaliadas com ultrassom, especialmente em cães de grande porte e médio (Caine *et al.*, 2009).

O tipo de transdutor utilizado para realização do procedimento ultrassonográfico deve ser levado em consideração, pois transdutores convexos e microconvexos, por apresentarem menor frequência e formato curvilíneo, não oferecem acoplamento ideal às superfícies articulares, o que pode comprometer a definição das estruturas avaliadas. Já o transdutor linear tem se mostrado com maior resolução devido à sua alta frequência (Lamb; Wong, 2005).

Além dessas estruturas, a avaliação dessa articulação pode trazer informações sobre a cápsula articular, presença de efusão articular, de osteófitos, irregularidade de contornos ósseos, anquilose e lise óssea (Carvalho; Vianna, 2016). A avaliação da articulação do tarso é eficaz e vantajosa, pois não

há necessidade de sedação, e a restrição é mínima, tornando a técnica bastante útil em contextos envolvendo dor (Abako *et al.*, 2021; Caine *et al.*, 2009).

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 AMOSTRA DO ESTUDO E ASPECTOS ÉTICOS

Trata-se de um estudo de coorte prospectivo que utilizou amostras não probabilísticas por conveniência. Cães atendidos no Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas do Hospital de Ensino da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia foram prospectivamente incluídos entre fevereiro de 2023 e janeiro de 2025. Todos os responsáveis receberam informações prévias sobre os procedimentos do estudo e formalizaram a concordância com a participação de seus animais por meio da assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.

Os critérios de inclusão determinaram que os cães deveriam apresentar infecção naturalmente adquirida por *L. infantum*, confirmada por exame parasitológico direto de esfregaços de medula óssea em lâminas e/ou pela detecção de DNA do parasita em aspirados esplênicos e/ou de medula óssea por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), além da autorização do responsável para a coleta de amostras biológicas. Foram excluídos do estudo cães com peso corporal inferior a 5 kg, gestantes, com idade inferior a seis meses, comportamento agressivo que compromettesse o manejo seguro, positivos para os hemoparasitos *Ehrlichia canis* e/ou *Babesia* sp., ou cujos responsáveis não assinaram o termo de consentimento no momento da inclusão.

O estudo foi conduzido de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal estabelecidos pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, sob protocolo nº 109/2023-CEUA.

5.2 EXAME CLÍNICO E ESCORE DE GRAVIDADE DA LEISHMANIOSE CANINA

Todos os cães foram submetidos a exame clínico, incluindo anamnese, exame físico geral e exames de patologia clínica. Em seguida, realizou-se exame físico específico do sistema locomotor,

avaliando dor, crepitação articular, aumento de volume dos tecidos moles periarticulares e distúrbios de locomoção, como claudicação. Adicionalmente, foram realizados os testes de compressão tibial, a manobra de Ortolani e o teste de gaveta.

Os exames laboratoriais de patologia clínica compreenderam hemograma completo e bioquímica sérica para avaliação de enzimas hepáticas, creatinina, ureia, proteínas totais, albumina, globulinas, urinálise e relação proteína/creatinina urinária.

A aspiração de líquido sinovial, utilizando agulha hipodérmica 25 x 0,70 mm acoplada a seringa de 10 mL, foi realizada em cães que apresentaram aumento de volume de tecidos moles periarticulares e naqueles que evoluíram a óbito durante o estudo. O material coletado foi esfregado em lâminas para análise microscópica, coradas pelo kit Panótico Rápido (Renylab, Barbacena, Brasil). As áreas de maior celularidade foram examinadas em objetiva de 100x para identificação de formas amastigotas de *Leishmania* sp. As imagens foram capturadas por sistema de fotomicrografia acoplado ao microscópio (PrimeCam HD12pro, Prime Lifescience Corp., Boca Raton, EUA).

Um sistema de pontuação foi aplicado aos sinais clínicos para determinar a gravidade da CanL. A soma total de pontos classificou os cães como doença leve (escore <16), moderada (escore 16–30) ou grave (>30), conforme adaptação da literatura (Ribeiro et al., 2021).

5.3 EXAMES DE IMAGEM

As avaliações ultrassonográficas incluíram a análise das articulações târsicas de todos os cães, independentemente da presença de sinais clínicos ortopédicos. Quando havia indícios de alterações em outras articulações durante o exame físico ortopédico, essas articulações também foram avaliadas por ultrassonografia. Todos os exames foram realizados pelo mesmo examinador (P.V.O.), utilizando equipamentos Logiq F6 ou Logiq V2 (GE Healthcare, Brasil), com transdutor linear L6-12 de até 12 MHz, aplicado sobre a região previamente tricotomizada e com uso de gel acústico.

As imagens ultrassonográficas articulares foram obtidas nos planos transverso e sagital, com o membro em semiflexão e posição neutra. As alterações ultrassonográficas foram avaliadas qualitativa e semi-quantitativamente. A intensidade das lesões foi graduada em escores de 0 a 3 para: espessamento da membrana sinovial, presença de osteófitos periarticulares, irregularidade do osso subcondral, edema periarticular e derrame articular (Gomes, 2019).

Os meniscos foram avaliados e classificados da seguinte forma: (0) íntegro; (1) alteração de ecogenicidade e ecotextura com preservação do formato triangular; (2) lesão com perda de morfologia; (3) presença de fragmentos deslocados para a região intercondilar associados à lesão meniscal em alça de balde.

A avaliação do ligamento cruzado cranial (LCC) da articulação femorotibiopatelar seguiu os critérios: (0) íntegro; (1) presença de derrame apenas na região de inserção, sem ruptura de fibras; (2) ruptura parcial, com visualização de algumas fibras contínuas ao exame dinâmico; (3) ruptura completa, com interrupção total das fibras no exame dinâmico (Gomes, 2019).

Os exames radiográficos foram realizados em equipamento fixo digital AltusDR (Konica Minolta, Marunouchi, Chiyoda-ku, Tóquio, Japão). Foram avaliadas as articulações radiocárpica, escápulo-umeral, coxofemoral, femorotibiopatelar e tibio-társica, em duas projeções ortogonais. As radiografias foram obtidas bilateralmente em posições padronizadas (Silva et al., 2021).

As alterações registradas incluíram esclerose do osso subcondral, reação periosteal, presença de osteófitos e/ou entesófitos, anquilose óssea, lise óssea, padrão trabecular evidente, derrame articular e aumento do volume de tecidos moles periarticulares. A gravidade das lesões foi graduada de 0 a 3.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tabulados em planilhas do Microsoft Excel. Foram realizadas análises descritivas, apresentadas em tabelas, com frequências absolutas e relativas (%) das alterações ortopédicas identificadas ao exame físico, ultrassonografia e radiografia. O teste exato de Fisher foi utilizado para variáveis categóricas, a fim de comparar proporções entre os grupos.

Foram calculadas sensibilidade, especificidade e intervalos de confiança de 95% para os sinais ortopédicos clínicos em comparação aos exames ultrassonográficos e radiográficos. Os testes de Mann-Whitney e/ou Kruskal-Wallis foram aplicados para avaliar diferenças entre sinais clínicos ortopédicos e escore de lesão ultrassonográfica, assim como entre níveis séricos de globulinas, escore de lesão ultrassonográfica e gravidade da CanL. A correlação entre variáveis categóricas foi analisada

pelo teste de Spearman. O nível de significância adotado foi $p<0,05$. As análises foram realizadas no software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, Califórnia, EUA).

O índice Kappa foi utilizado para avaliar a concordância entre os exames de imagem e a presença ou ausência de alterações ortopédicas detectadas no exame físico, sendo interpretado de acordo com Landis e Koch (1977): pobre ($<0,20$), fraca ($0,21-0,40$), moderada ($0,41-0,60$), boa ou substancial ($0,61-0,80$) e quase perfeita ($0,81-1,0$).

6. RESULTADOS

Foram incluídos 43 cães com CanL. A maioria era fêmea (51,2%; 22/43), com idade entre 1 e 7 anos (67,4%; 29/43) e de raça definida (65,1%; 28/43) (Tabela 1).

Tabela 1 - Características gerais dos 43 cães diagnosticados com leishmaniose canina, descritas de acordo com a presença ou ausência de alterações ortopédicas identificadas no exame físico

| Variáveis | Total de cães N=43 | Cães com alterações ortopédicas no exame físico | | Cães sem alterações ortopédicas no exame físico N=14 |
|-------------------------|-----------------------|--|--|--|
| | | Cães com alterações ortopédicas no exame físico N=29 | Cães sem alterações ortopédicas no exame físico N=14 | |
| Sexo | | | | |
| Fêmea | 51,2% (22/43) | 41,4% (12/43) | 71,4% (10/14) | |
| Macho | 48,8% (21/43) | 58,6% (17/43) | 28,6% (4/14) | |
| Raça | | | | |
| Sem raça definida (SRD) | 34,9% (15/43) | 31% (9/29) | 42,8% (6/14) | |
| Raça | 65,1% (28/43) | 69% (20/29) | 57,2% (8/14) | |
| Idade | | | | |
| Jovem (6 – 11 meses) | 7% (3/43) | 6,9% (2/29) | 7,1% (1/14) | |
| Adulto (1 – 7 anos) | 67,4% (29/43) | 62,1% (18/29) | 78,6% (11/14) | |
| Idoso (> 7 anos) | 25,6% (11/43) | 31% (9/29) | 14,3% (2/14) | |

O exame físico ortopédico detectou sinais de alterações articulares em 29 cães (67,4%; 29/43), incluindo dor articular (62%; 18/29), crepitação (20,6%; 6/29), claudicação (31%; 9/29) e aumento de volume de tecidos moles periarticulares (6,8%; 2/29). Dentre esses, 11 cães (37,9%; 11/29) apresentaram alterações clínicas locomotoras em múltiplas articulações, caracterizando poliartropatia, envolvendo tarso, ombro, quadril e/ou joelho.

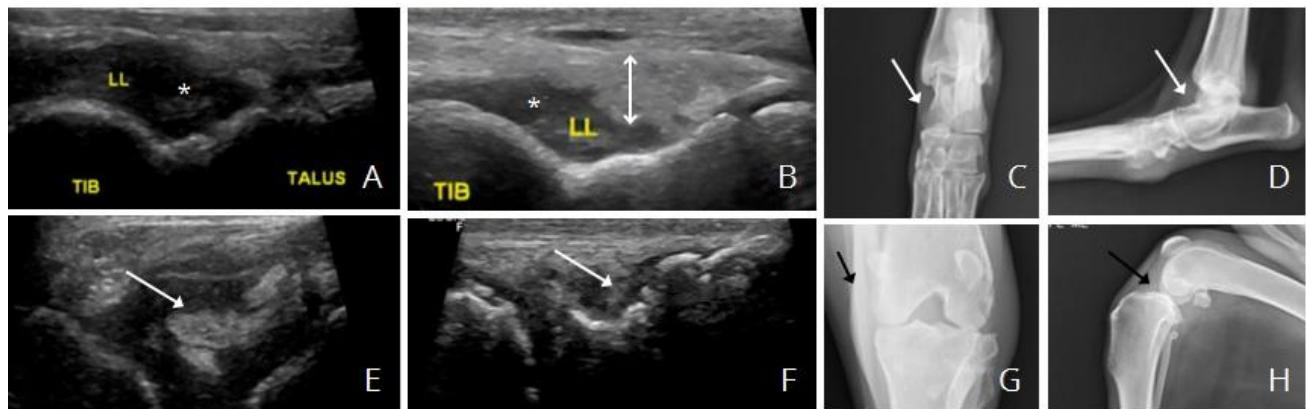
A ultrassonografia identificou lesões articulares em 37 dos 43 cães com CanL (86%; 37/43). Alterações ultrassonográficas foram observadas em tarso, carpo, joelho, ombro e quadril. Todos os 37 cães apresentaram pelo menos um tipo de alteração nas articulações târsicas. Os achados incluíram osteófitos (83,8%; 31/37), irregularidade de contorno ósseo (56,7%; 21/37), derrame articular (64,9%; 24/37), espessamento capsular/sinovial (56,7%; 21/37), edema periarticular (29,7%; 11/37), reação periosteal (21,6%; 8/37) e lise óssea (5,4%; 2/37) (Figura 1; Tabela 2).

Tabela 2 - Frequência e intensidade (escore) ultrassonográficos das lesões nas articulações târsicas nos 37 cães com leishmaniose canina com ou sem alterações ortopédicas no exame físico

| Tipo de lesão | com alterações | com alterações ortopédicas | sem alterações ortopédicas |
|-----------------------------------|-----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| | no USG (n=37) | (n=26) | (n=11) |
| | % | % | % |
| Osteófito | 83,8% (31/37) | 84,6% (22/26) | 81,8% (9/11) |
| Efusão articular | 64,9% (24/37) | 73,1% (19/26) | 45,4% (5/11) |
| Espessamento de cápsula articular | 56,8% (21/37) | 65,4% (17/26) | 36,4% (4/11) |
| Irregularidade de contornos | 56,7% (21/37) | 53,8% (4/26) | 63,6% (7/11) |
| Edema em tecido periarticular | 29,7% (11/37) | 38,5% (10/26) | 9,1% (1/11) |
| Reação periosteal | 21,6% (8/37) | 23,1% (6/26) | 18,2% (2/11) |
| Lise óssea | 5,4% (2/37) | 3,8% (1/26) | 9,1% (1/11) |
| Escore USG | | | |
| total | 5,5(3,7-10)* | | 2 (2-8) |

#mediana (25-75 percentis). *P< 0,05, teste de Mann-Whitney.

Figura 1. Imagens ultrassonográficas e radiográficas de articulações de cães positivos para *Leishmania* sp. (a, b) Ultrassonografia da articulação do tarso evidenciando efusão articular (asterisco) e espessamento da cápsula articular/membrana sinovial (seta dupla). (c, d) Radiografias do tarso nas projeções dorsoplantar e mediolateral demonstrando aumento de volume de tecidos moles periarticulares. (e, f) Ultrassonografia da articulação femorotibiopatelar revelando irregularidades ósseas na superfície articular da tíbia e efusão articular associada (seta branca). (g, h) Radiografias da mesma articulação em projeções craniocaudal e mediolateral evidenciando aumento de volume de tecidos moles.



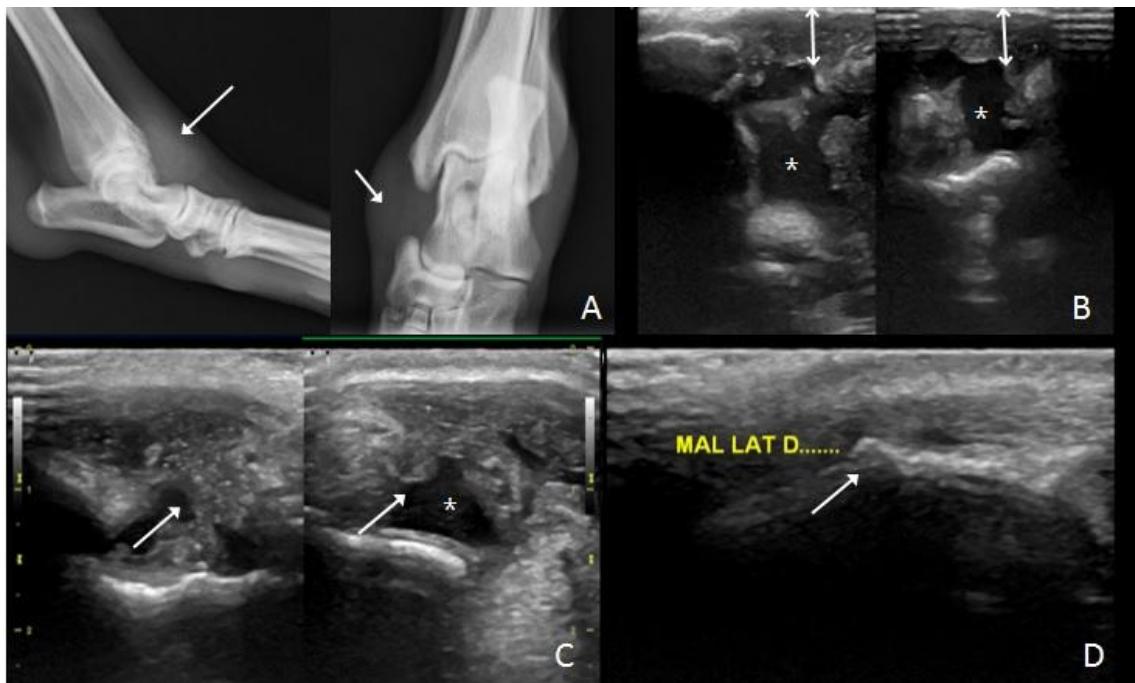
Fonte: ALZ, (2023)

Dos 37 cães com alterações társicas à ultrassonografia, 26 (70,3%) apresentaram também sinais clínicos ortopédicos, enquanto 11 (29,7%) não exibiram alterações clínicas. O escore total de lesão társica foi significativamente maior nos cães com sinais clínicos do que nos assintomáticos ($p=0,0262$). Especificamente, os escores de edema periarticular foram mais elevados nos cães com sinais clínicos em comparação aos sem alterações clínicas ortopédicas ($p=0,0463$).

As alterações detectadas pela ultrassonografia, de acordo com a articulação avaliada, foram descritas da seguinte forma. Na articulação coxofemoral, observaram-se espessamento da cápsula articular (80%; 4/5), edema periarticular (60%; 4/5), irregularidade do contorno da superfície óssea (40%; 2/5), derrame articular (40%; 2/5), osteófitos (40%; 2/5), luxação coxofemoral (20%; 1/5) e reação periosteal (20%; 1/5). Na articulação carpal, verificaram-se irregularidade do contorno da superfície óssea (50%; 1/2), presença de osteófitos (50%; 1/2) e edema periarticular (50%; 1/2). No joelho (articulação femorotibiopatelar), foram observadas irregularidade do contorno da superfície óssea (100%; 4/4), derrame articular (75%; 3/4), osteófitos (100%; 4/4), espessamento da cápsula articular (25%; 1/4), ruptura ligamentar (25%; 1/4) e reação periosteal (25%; 1/4). A avaliação ultrassonográfica da articulação escapuloumeral foi realizada em apenas um cão, no qual foi identificado espessamento da cápsula articular. Foi encontrada correlação significativa entre a

gravidade das lesões nas articulações târsicas e a gravidade das alterações identificadas em outras articulações nos 11 cães avaliados ($r = 0,7746$; $p = 0,0044$) (Figura 2).

Figura 2. Imagens ultrassonográficas e radiográficas da articulação târsica esquerda em um cão positivo para *Leishmania* sp. por PCR (Boiadeiro Bernês, 2 anos). (a) Radiografia em projeção mediolateral evidenciando aumento de volume de tecidos moles (seta branca); (b-d) Imagens ultrassonográficas demonstrando efusão articular (asterisco) e espessamento da cápsula articular/membrana sinovial (seta dupla e seta branca).



Fonte: ALZ, (2023)

As alterações ao USG ao considerar o tipo de articulação e antímero avaliado estão descritas na tabela 3.

Tabela 3 - Quantitativo das alterações articulares por antímero encontradas nos exames ultrassonográficos em 37 cães do estudo

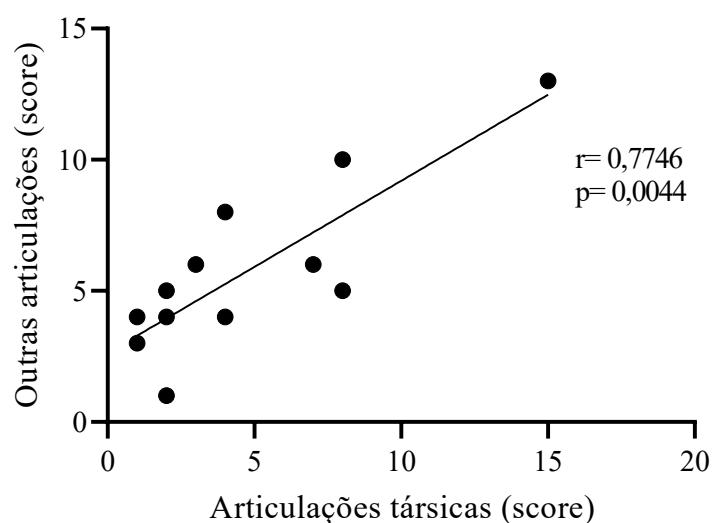
| Articulação/Antímero | IC | EA | OS | LO | RL | RP | ETP | ECA | OA |
|---------------------------|----|----|----|----|----|----|-----|-----|----|
| Coxofemoral | | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | - | 1 | 1 | - | 1 | - | 1 | 2 | 3 |
| Ambos | 2 | 1 | 1 | - | - | 2 | 2 | 2 | - |
| Tarso | | | | | | | | | |
| Direito | 5 | 6 | 5 | - | - | - | 2 | 3 | - |
| Esquerdo | 4 | 5 | 6 | - | - | 1 | 1 | 2 | - |
| Ambos | 12 | 12 | 19 | 2 | - | 5 | 12 | 13 | - |
| Carpo | | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | - | - | - | - | - | - | 1 | - | - |
| Ambos | 1 | 1 | 2 | - | - | - | - | 2 | - |
| Femorotibiopatelar | | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | 1 | - | 3 | - | 1 | - | - | - | - |
| Ambos | 3 | 3 | 1 | - | 1 | 2 | - | 2 | - |
| Escapuloumeral | | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | 1 | - |
| Esquerdo | - | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ambos | - | - | - | - | - | - | - | - | - |

Irregularidade de Contornos (IC), Efusão Articular (EA), Osteófito (os), Lise óssea (LO), Ruptura de Ligamento (RL), Reação Periosteal (RP), Edema em tecido periarticular (ETP), Espessamento de cápsula articular/sinóvia (ECA) e Outros Achados (AO).

Os responsáveis autorizaram a realização de exames radiográficos em apenas 20 dos 43 cães com CanL estudados. As articulações társicas foram radiografadas em todos os 20 cães, independentemente da presença de sinais clínicos ortopédicos. Outras articulações foram radiografadas quando havia alterações clínicas ortopédicas. Quinze dos 20 cães (75%; 15/20) avaliados por radiografia apresentaram sinais clínicos de doença articular ao exame físico, e 11 (55%; 11/20) mostraram alterações radiográficas (Figura 2). Dentre esses 11 cães com achados radiográficos, oito (72,7%; 8/11) apresentaram alterações nas articulações társicas, e três deles (37,5%; 3/8) também exibiram alterações radiográficas em outras articulações, como quadril e/ou joelho, caracterizando poliartrropatia. Os outros três cães com alterações radiográficas (27,3%; 3/11) apresentaram apenas lesões em quadril e/ou joelho. Não foram identificadas alterações radiográficas em quatro cães que apresentavam sinais clínicos ortopédicos (26,7%; 4/15). Os cinco cães sem sinais clínicos ortopédicos (25%; 5/20) também não apresentaram alterações radiográficas.

Alguns cães apresentaram mais de um tipo de lesão na mesma articulação. As alterações radiográficas observadas nas articulações társicas incluíram: presença de osteófitos (75%; 6/8), aumento de volume de tecidos moles periarticulares (62,5%; 5/8), reação periosteal (37,5%; 3/8), aumento da evidência de trabeculação óssea (25%; 2/8), lise óssea (12,5%; 1/8) e anquilose óssea (12,5%; 1/8).

Figura 3. Gráfico de dispersão que demonstra a correlação entre a gravidade das lesões nas articulações társicas e em outras articulações em 11 cães com leishmaniose canina.



Fonte: ALZ, (2023).

Na articulação coxofemoral, três cães apresentaram sinais radiográficos de displasia, e um apresentou luxação articular no membro pélvico esquerdo, com alterações radiográficas incluindo osteófitos (25%; 1/4), reação periosteal (25%; 1/4) e lise óssea (25%; 1/4). A radiografia também evidenciou osteófitos nos joelhos de dois cães (66,7%; 2/3), derrame articular em um cão (33,3%; 1/3) e reação periosteal em outro (33,3%; 1/3).

Figura 4. Imagens radiográficas da articulação do tarso em um cão positivo por método PCR para *Leishmania. sp.* em incidências dorsoplantar e mediolateral do membro pélvico direito e esquerdo: anquilose óssea e reação periosteal (A e B); Aumento de volume de tecidos moles (C); esclerose óssea (D).



Fonte: ALZ, (2023).

Figura 5. Imagens radiográficas da articulação tarsal em cão positivo por método PCR para *Leishmania. sp.* em projeção mediolateral (esquerda) e projeção dorsoplantar evidenciando efusão articular (direita-seta).



Fonte: ALZ, (2023).

As alterações observadas nas articulações társicas por meio do exame radiográfico incluíram os parâmetros observados na tabela 4.

Tabela 4 - Quantitativo das alterações articulares por antímero encontradas nos exames radiográficos em 12 cães do estudo.

| Articulação/Antímero | OS | AO | LO | AVT | RP | ETO | EO | OA |
|-----------------------------|-----------|-----------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|-----------|
| Coxofemoral | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| Esquerdo | 1 | - | - | - | - | - | - | 1 |
| Ambos | - | - | 1 | 1 | 1 | - | - | 3 |
| Tarso | | | | | | | | |
| Direito | - | - | 1 | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | 1 | - | - | - | - | - | - | - |
| Ambos | 3 | 1 | 1 | 10 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| Carpo | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ambos | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Femorotibiopatelar | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | - | - | - | - | - | - | - | 1 |
| Ambos | 2 | - | - | 2 | 1 | - | - | 2 |
| Escapuloumeral | | | | | | | | |
| Direito | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Esquerdo | - | - | - | - | - | - | - | - |
| Ambos | - | - | - | - | - | - | - | - |

Osteófito (OS), Anquilose Óssea (AO), Lise Óssea (LO), Edema de Tecidos Moles (AVT), Reação Periosteal (RP), Evidenciação do Trabeculado Ósseo (ETO), Esclerose Óssea (EO) e Outros Achados (AO).

Na análise comparativa, de 20 cães submetidos a radiografia e ultrassonografia das articulações társicas, 19 (95%) apresentaram alterações detectáveis à ultrassonografia, enquanto apenas 8 (42%)

exibiram alterações radiográficas. O único cão sem alterações ultrassonográficas também não apresentou alterações radiográficas, resultando em taxa de discordância entre os métodos de 55%.

Tabela 5 - Comparação entre os achados de lesões articulares na avaliação ultrassonográfica ou radiográfica do tarso em cães com leishmaniose canina por *Leishmania infantum*, com ou sem alterações ortopédicas clínicas detectadas no exame físico

| | | Achados no exame ortopédico da articulação társica | | |
|---|-------|---|----|-------|
| | | Yes | No | Total |
| Achados ultrassonográficos na avaliação da articulação társica (N=43) | Yes | 26 | 11 | 37 |
| | No | 3 | 3 | 6 |
| Kappa Coefficient = (0.130) | Total | 29 | 14 | 43 |
| | | Achados radiográficos na avaliação da articulação társica (N=20) | | |
| Achados radiográficos na avaliação da articulação társica (N=20) | Yes | 10 | 1 | 11 |
| | No | 5 | 4 | 9 |
| Kappa Coefficient = (0.368) | Total | 15 | 5 | 20 |
| | | Achados ultrassonográficos na avaliação da articulação társica (N=20) | | |
| Achados radiográficos na avaliação da articulação társica (N=20) | Yes | 8 | 0 | 8 |
| | No | 11 | 1 | 12 |
| Kappa Coefficient = (0,068) | Total | 19 | 1 | 20 |

De forma geral, a análise conjunta dos exames clínicos, ultrassonográficos e radiográficos revelou que 88,4% (38/43) dos cães com CanL apresentaram alterações articulares detectáveis por métodos de imagem, sugestivas de processos degenerativos em fase crônica, compatíveis com artrite ou poliartrite de caráter inflamatório.

Atribuindo-se escores de gravidade da CanL aos 43 cães avaliados por ultrassonografia, observou-se que, dentre os 37 com alterações ultrassonográficas, oito (22,2%) tinham doença leve, 23

(62,1%) moderada e seis (16,2%) grave. Não houve diferença significativa entre o escore ultrassonográfico das lesões társicas e a gravidade da CanL, embora tenha sido observada tendência de maiores escores nos casos moderados e graves ($p=0,5952$) (Tabela 6).

Tabela 6 - Comparação entre a frequência e intensidade (escore) das lesões ultrassonográficas (USG) das articulações társicas e a gravidade da leishmaniose canina nos 37 cães com leishmaniose estudados

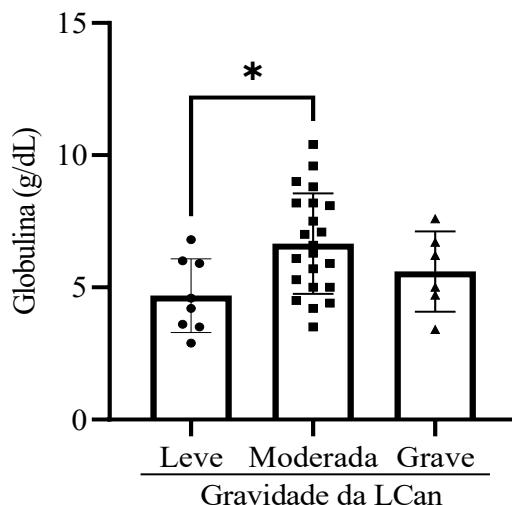
| | | Gravidade da leishmaniose canina | | | Total | p-valor |
|--------------------------------------|-------|----------------------------------|--------------------|----------------|-------|----------------|
| | | Leve (N=8) | Moderada (N=23) | Grave (N=6) | | |
| Alterações ao USG do tarso | Sim | 6 | 20 | 6 | 32 | 0,287 |
| | Não | 2 | 3 | 0 | 5 | |
| | Total | 8 | 23 | 6 | 37 | |
| Escore total (lesões em tarso) | | 1,5 (0,2-8,5) | | 4 (1-8) | | 4 (2-6) 0,5952 |

Foram realizadas análises comparativas entre níveis séricos de globulinas, gravidade da CanL e frequência de alterações ortopédicas. Cães com formas leves apresentaram níveis séricos de globulinas mais baixos que os com formas moderadas ($p<0,05$). Entretanto, não foi identificada associação entre frequência de alterações ortopédicas e hiperglobulinemia (Tabela 7; Figura 6).

Tabela 7 - Comparação entre a frequência das alterações ortopédicas observadas no exame físico, os achados ultrassonográficos das articulações társicas e a presença de hiperglobulinemia nos 43 cães com leishmaniose.

| | | Hiperglobulinemia | | Total | p-valor |
|--|-------|-------------------|-------------|-------|---------|
| | | Sim N=8 | Não N=22 | | |
| Alterações ortopédicas detectadas no exame físico | Sim | 21 | 8 | 29 | 0,231 |
| | Não | 13 | 1 | 14 | |
| | Total | 34 | 9 | 43 | |
| Alterações ultrassonográficas detectadas nas articulações társicas | Sim | 29 | 8 | 37 | 1,000 |
| | Não | 5 | 1 | 6 | |
| | Total | 34 | 9 | 43 | |

Figura 6. Gráfico em barras que indica os níveis de globulina sérica conforme a gravidade da leishmaniose canina em 36 cães que realizaram exames de ultrassonografia articular.



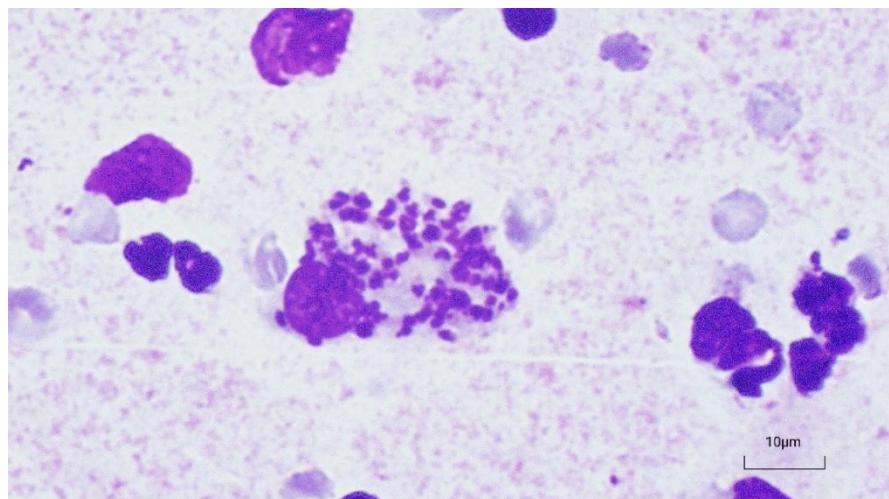
Fonte: ALZ, (2023).

No entanto, não foi identificada associação entre a frequência das alterações ortopédicas detectadas tanto no exame físico quanto por ultrassonografia e a ocorrência de hiperglobulinemia

6.1 DETECÇÃO DE FORMA AMASTIGOTAS DE *LEISHMANIA* EM EXAME CITOLOGICO DE LÍQUIDO SINOVIAL

Entre os dois cães que apresentaram aumento de volume de tecidos moles associado à articulação identificado no exame físico, foi possível realizar a colheita de líquido sinovial por punção. Um terceiro cão veio a óbito, permitindo também a obtenção de amostra do líquido sinovial durante o exame *post-mortem*. Nas amostras desses três cães, foram identificadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. por meio de análise citológica (**Figura 7**).

Figura 7. Fotomicrografia de exame citológico de líquido sinovial de cão positivo para leishmaniose, na qual se identifica macrófago com formas amastigosta de *Leishmania* sp. Objetiva de 100x.



Todos esses três cães apresentavam alterações ortopédicas, detectadas no exame físico, envolvendo as articulações társicas. Em um dos cães, além da articulação társica, também foram observadas alterações na articulação coxofemoral. Os três cães foram avaliados por USG e RX, que revelaram alterações articulares compatíveis com artrite associada a um processo inflamatório crônico. Em relação a gravidade da doença, um cão apresentava LCan em forma leve, enquanto os outros dois exibiam quadro moderado. A tabela 8 descreve as características clínicas desses cães.

Tabela 8 - Perfil clínico, gravidade da LCan e as alterações de imagens (USG e RX) de três cães que apresentaram amastigotas de *Leishmania sp.* no líquido sinovial

| Cão | Características gerais | Alteração no exame clínico; Gravidade de LCan(escore total) | Alterações USG (escore total) | Alterações RX (escore) |
|-----|--|--|--|--|
| 1 | Macho, Bernese, 2 anos, 36,2 kg | Aumento de volume de tecidos moles em região de tarsos; aumento de ureia, aumento de ALT, hiperglobulinemia, discretamente elevado <i>LCan leve (escore total = 14)</i> | Irregularidade de contorno, efusão articular, presença de osteófitos, espessamento moderados, aumento de capsular/sinovial, edema em tecido periartricular (escore total = 14) | Presença de osteófitos moderados, aumento de volume de tecidos moles (escore total = 4) |
| 2 | Fêmea, Pastor Alemão, 6 anos, 29,8 kg | Claudicação, aumento de volume de tecidos moles em regiões de tarsos, crepitação articular, anemia, linfopenia, hipoalbuminemia, hiperglobulinemia, aumento de ALT e FA (3), UPC elevado <i>LCan moderada (escore total = 18)</i> | Irregularidade de contorno, efusão articular, presença de osteófitos, espessamento capsular/sinovial, edema em tecido periartricular, reação periosteal (escore total = 15) | Presença de osteófitos discretos, aumento de volume de tecidos moles, alteração no trabeculado ósseo (escore total = 4) |
| 3 | Macho, Border Collie, 2 anos, 24 kg | Claudicação, dor articular, anemia, leucocitose, aumento de ureia, hiperglobulinemia, aumento de ALT, GGT e FA, UPC elevado <i>LCan moderada (escore total = 24)</i> | Articulação társica: irregularidade de contornos, efusão articular, osteófitos, espessamento capsular/sinovial; Articulação coxofemoral: luxação, efusão moderada, espessamento discreto, edema em tecido periartricular (escore total = 6) | Articulação társica: presença de osteófitos moderados Articulação coxofemoral: luxação, sem alterações degenerativas (escore total = 2) |

7. DISCUSSÃO

A ocorrência de alterações articulares foi demonstrada por meio de exame físico, radiografias e ultrassonografia articular na maioria dos cães portadores de infecção natural por *Leishmania infantum* avaliados no presente estudo. Nossos achados evidenciaram associação entre infecção por *L. infantum* e ocorrência de artrite e poliartrite em cães conforme mencionado em outras publicações (Turrel & Pool, 1982; Buracco et al., 1997; Bevilacqua et al., 2002; Agut et al., 2003; Sbrana et al., 2014; Ribeiro et al., 2021; Drumond et al., 2021; Silva et al., 2021; Silva et al., 2022).

As características observadas no grupo de cães com LCan, selecionados para o presente trabalho, mostraram uma predominância de fêmeas com idade entre 1 a 7 anos. Outros estudos realizados no Brasil encontraram um perfil equivalente de cães domésticos em áreas endêmicas para a LCan por *L. infantum* (Silva et al., 2021; Silva et al., 2022). Observamos ainda que a maioria dos cães com sinais clínicos ortopédicos ou alterações nos exames de imagem tinha raça definida e foi de porte médio. Esse achado diferiu de outro estudo realizado no Brasil, que verificou uma predominância de porte grande em cães com achados de lesões articulares, embora esses autores também tenham encontrado uma maioria de raças definidas (SONODA et al., 2013). Assim, quanto a essas características gerais, podemos considerar que o grupo de cães aqui estudados, embora pequeno, representa as características gerais de cães sob condições semelhantes no país.

A literatura atribui o desenvolvimento das artropatias tanto à resposta inflamatória associada à presença de amastigotas de *L. infantum* na articulação (Buracco et al., 1997; Sbrana et al., 2014; Silva et al., 2021; Silva et al., 2022), quanto a uma reação de hipersensibilidade do tipo III, decorrente da deposição de imunocomplexos na microvasculatura sinovial (Agut et al., 2003; Sbrana et al., 2014; Silva et al., 2022; Oliveira et al., 2024). No presente estudo, alguns cães que apresentavam quadros de dor, claudicação, comprometimento da mobilidade articular e edema na região foram submetidos a punção de líquido sinovial sob sedação, para exame citológico, que comprovou a presença de formas amastigotas compatíveis com *Leishmania*. Nossos achados, então, confirmam achados semelhantes na literatura e as proposições fisiopatológicas de outros estudos quanto à ação patogênica do parasito nas articulações através de técnicas de coleta como artrocentese asséptica e coleta em necropsia pós-eutanásia (Silva et al., 2022; Souza-Filho et al., 2024). Além disso, os exames de imagem aqui aplicados, a radiografia e a USG, demonstraram diversos parâmetros que caracterizaram a inflamação articularem diversos graus de gravidade, culminando em degeneração irreversível dessas estruturas anatômicas. Ainda que não tenhamos feito análises de tecidos articulares para comprovar a presença

de imunocomplexos em articulações lesionadas, nossos achados de inflamação pelos diversos métodos usados podem também ser atribuídos a um componente de hipersensibilidade tipo III, equivalendo às conclusões desses autores.

O presente estudo teve uma abordagem essencialmente clínica, aplicando o exame físico ortopédico para determinar o componente clínico representado pelas artropatias na LCan, seguido por exames radiográficos, o método ainda mais utilizado para confirmar a suspeita clínica de lesão articular na clínica médica de cães (Agut, *et al.*; 2003). Esse padrão diagnóstico clínico ortopédico foi, então, a base para desenvolvemos o estudo sobre a aplicabilidade e a acurácia diagnóstica da USG articular na determinação da ocorrência e intensidade das artropatias na LCan. Nesse contexto, foram examinados não apenas cães que apresentavam algum sinal clínico de alteração ortopédica, mas também todos os cães que, atendidos no ALZ-HOSPMEV-UFBAem um período de 18 meses, apresentaram resultado positivo em exame confirmatório de infecção por *L. infantum*, a PCR. Outros estudos também aplicaram o exame físico ortopédico e os exames de imagem como radiografia e ultrassonografia para evidenciar alterações articulares na LCan, porém com seus próprios critérios (Buracco *et al.*, 1997; Sbrana *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2021, 2022).

O método ultrassonográfico foi capaz de determinar que 86% dos cães portadores de infecção por *L. infantum* examinados apresentaram alterações osteoarticulares, independentemente de apresentarem ou não sinais ortopédicos. Entretanto, comparativamente, a prevalência de lesões articulares detectadas pela radiografia foi de apenas 60%. Altas prevalências de alterações articulares, variando entre 91,3% e 83,1%, em cães acometidos por LCan foram encontradas em estudos prévios descritos no Brasil (Silva *et al.*, 2021; 2022). Entretanto, é importante ressaltar que o nosso achado de prevalência de 86% foi obtido por meio de USG articular exclusivamente, enquanto os achados descritos de 91,3% e 83,1% (SILVA *et al.*, 2021; 2022) foram resultantes de exames necroscópicos associados a métodos mais sofisticados como a tomografia computadorizada. À medida que as pesquisas disponibilizam tecnologias diagnósticas mais precisas e sensíveis, a tendência é que dados de prevalência sejam maiores em relação a estudos com métodos mais antigos, e não necessariamente signifiquem uma modificação na história natural da doença. De fato, trabalhos mais antigos mostram prevalências menores de acometimento articular, da ordem de 30% nos Estados Unidos (Agut *et al.*, 2003) ou 57,7% na Espanha (Turrel; Pool, 1982). Outro aspecto ressaltado por outros autores é que a complementação diagnóstica usando mais de uma técnica tende também a aumentar os números de prevalência (Silva *et al.*, 2021, 2022). Esse aspecto enfatiza ainda mais a excelente aplicabilidade da

USG articular conforme nossos resultados mostram, no diagnóstico precoce de doença articular na LCan e na ausência de sinais clínicos ortopédicos.

Neste estudo, a ultrassonografia identificou maior prevalência de lesões em cães em estágio moderado da doença (61,1%), em comparação aos estágios leve (19%) e grave (19%). Nos casos leves, essa menor frequência pode estar relacionada ao caráter incipiente da infecção; já nos casos graves, possivelmente alguns indivíduos sejam menos suscetíveis ao desenvolvimento de lesões articulares específicas, apesar do comprometimento sistêmico avançado. Observação semelhante foi relatada por outros autores (Solano-Gallego et al., 2011; Tsouloufi et al., 2022). Embora não tenha havido diferença estatisticamente significativa no presente estudo, observou-se tendência de aumento dos escores ultrassonográficos nos estágios moderado e grave, reforçando a importância do diagnóstico precoce pela ultrassonografia. Ressaltamos, no entanto, que o número de cães avaliados foi reduzido, e estudos clínicos futuros com maior casuística poderão confirmar a correlação entre gravidade clínica da CanL e severidade das lesões articulares.

Outro aspecto importante é que cerca de um terço dos cães com lesões articulares ultrassonográficas não apresentava alterações ortopédicas ao exame físico. Além disso, a ultrassonografia identificou diversas lesões não detectadas pela radiografia. Como a radiografia evidencia apenas alterações em fases mais avançadas da doença articular, essas diferenças são esperadas. Esses achados estão em consonância com estudos prévios, que encontraram diferenças importantes entre achados ao exame físico ortopédico e achados na imagem (SILVA et al., 2021, 2022). Isso nos leva a considerar que a USG representa a primeira alternativa de exame de imagem auxiliar a se adotar no diagnóstico de artralgias associadas à LCan. Assim, nosso estudo se soma a diversos outros estudos que vêm demonstrando evidências da aplicabilidade da USG no diagnóstico de doença articular (Abako et al., 2021; Caine et al., 2009; Carrig et al., 2003; Kramer et al., 1999; Naredo et al., 2009; Nosovicki, 2016; Okano et al., 2016). Porém, o presente estudo é o primeiro a comparar e validar a técnica ultrassonográfica em cães com artropatia associada à LCan, em relação à radiográfica que até então é o método convencional e clássico de exame de imagem auxiliar para triagem a partir de uma queixa do responsável e/ou do exame ortopédico de cães.

Esses resultados fazem sentido quando se considera que a radiografia identifica alterações em um estado mais avançado quando se trata de articulações, quando os cães já manifestam alterações detectáveis pelo responsável ou pelo médico veterinário ao exame físico. Um estudo elencou as principais lesões encontradas ao exame radiográfico de cães com LCan em lesões trabeculares, esclerose óssea e osteólise (Silva et al., 2021). Dentre os achados radiográficos que encontramos, a

principal alteração foi a presença de osteófitos (75%), seguida por aumento de volume de tecidos moles (62,5%), reação periosteal (37,5%) e esclerose óssea (25%). De fato, autores de um outro estudo encontraram dentre as principais alterações articulares na LCan a esclerose óssea em suas avaliações radiográficas (Silva *et al.*, 2022). Nossos dados, portanto, além de corroborarem os achados prévios desses autores, confirmam que as lesões articulares tornam-se detectáveis pela radiografia apenas quando já estão em um grau avançado.

Os resultados obtidos neste trabalho revelaram que, uma vez presentes, as alterações ultrassonográficas em mais de uma articulação predominaram em relação a artropatia única, caracterizando a poliartrite, havendo maior incidência de lesões na articulação társica, seguida pela femorotibiopatellar e coxofemoral. Nossos dados confirmam achados predominantes de poliartrite na LCan, descritos por outros autores, que, porém, diferentemente, encontraram também uma alta prevalência de lesões no carpo (Sbrana *et al.*, 2014; Silva *et al.*, 2021). Nosso estudo centrou as avaliações-padrão na articulação do tarso, mesmo quando os cães não apresentavam sinais clínicos ortopédicos, ou quando apresentavam alterações ortopédicas apenas em outras articulações, o que permitiu uma análise comparativa detalhada e consistente. Em conjunto, os achados de predominância de poliartrites, tanto os presentes quanto os da literatura, ressaltam o caráter sistêmico da LCan.

O exame ecográfico articular detectou nos cães com LCan do presente estudo, alterações como presença de osteófitos (83,8%), efusão articular (64,9%), espessamento de cápsula articular (56,7%), irregularidade de contornos (56,7%) e edema em tecido periarticular (29,7%). Esses achados reforçam a aplicabilidade da USG à detecção de lesões articulares precoces, ainda antes de causarem impacto clínico no cão, como dor e claudicação, já que reconhece lesões discretas como fonte de informações relevantes, com alta sensibilidade em comparação ao exame radiográfico. Os osteófitos, relevantes no estabelecimento de diagnóstico dentre os achados na USG articular, são considerados marcadores precoces de doença articular em humanos (Van Der Kraan; Van Den Berg, 2007; Okano *et al.*, 2016). Outros autores também concluíram que o exame ultrassonográfico articular foi superior em identificar alterações precoces em comparação ao exame radiográfico em animais (Gomes *et al.*, 2018).

As evidências encontradas de acessibilidade e aplicabilidade superiores da USG articular em comparação ao exame radiográfico na prática clínica veterinária enfatizam sua utilidade no plano diagnóstico de doenças sistêmicas inflamatórias em cães, como a LCan. Como tratou-se de estudo clínico, em cães domiciliados, e pacientes do Hospital universitário da UFBA, verificamos que foi possível realizar a ultrassonografia em todos os cães incluídos no estudo, durante todo o período de análises. Em contraste, a avaliação radiográfica foi viável em apenas uma parcela menor de 46,5%

(20/43) dos cães, devido ao tempo necessário à realização, além das restrições financeiras dos responsáveis que optavam entre um dos exames de imagem. Quanto ao paciente canino, principalmente aqueles que já apresentavam sinais clínicos de dor articular, claudicação e limitação de movimento articular, houve naturalmente restrição ao estiramento do membro para posicionamento radiográfico em alguns casos. Tal observação é coerente com a preocupação do clínico quanto ao bem-estar do animal que já sofre dor frequentemente intensa nos quadros de poliartrite (Perry, 2015; Jacques, *et al.*; 2002). Esses casos evidenciam a necessidade de sedação, o que aumenta o tempo de diagnóstico na realização do exame radiográfico, além de ser mais um fator de risco iatrogênico, além da radiação. Observou-se ainda que os cães submetidos ao exame radiográfico e que manifestaram dor durante o posicionamento para este procedimento exibiram uma tolerância nitidamente maior ao exame ultrassonográfico articular. Isso se deve ao fato de que na USG existe a possibilidade de ajuste de técnica para realização de movimentos lentos e a adaptação da posição de avaliação (janela de visualização) com o transdutor, evitando manipulações como a extensão completa do membro e, consequentemente, menos dolorosa para os animais.

A ultrassonografia articular destaca-se por sua elevada sensibilidade na detecção de alterações em tecidos moles articulares, como espessamento da cápsula articular, presença de efusão sinovial mesmo em volumes discretos, edema leve em tecidos periarticulares, além de permitir a avaliação detalhada de estruturas como meniscos, tendões e ligamentos. Essa capacidade diagnóstica foi particularmente relevante na LCan, cujas manifestações articulares inflamatórias inicialmente não geram alterações ósseas. Dessa forma, a USG permitiu verificar que a prevalência de artropatias pode ser muito mais alta do que as citadas na literatura validando a aplicabilidade dessa técnica na LCan.

8. CONCLUSÕES

Com base nos achados deste estudo, lesões articulares são comuns em cães com leishmaniose canina. A ultrassonografia articular demonstrou superioridade em relação ao exame físico na detecção de alterações articulares, evidenciando seu valor como ferramenta diagnóstica complementar em cães positivos para *L. infantum*, mesmo quando não há alterações ortopédicas ao exame clínico. Além disso, a leishmaniose deve ser considerada no diagnóstico diferencial de osteoartrite e outras afecções osteoarticulares.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABAKO, J. et al. Usefulness of Imaging Techniques in the Diagnosis of Selected Injuries and Lesions of the Canine Tarsus. A Review. **Animals: an open access journal from MDPI**, v. 11, n. 6, 1 jun. 2021.
- ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A.; PILLAI, S. **Imunologia básica: funções e distúrbios do sistema imunológico**. 5^a edição ed. [s.l.] GEN Guanabara Koogan, 2017.
- ABBIATI, T. C. et al. Leishmaniose visceral canina: Relato de caso. **Pubvet**, v. 13, n. 04, p. 1–8, 23 abr. 2019.
- AGUT, A. et al. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. **The Veterinary record**, v. 153, n. 21, p. 648–652, nov. 2003.
- AKHOUNDI, M. et al. Leishmania infections: Molecular targets and diagnosis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 57, p. 1–29, 1 out. 2017.
- ALONSO, F. H. et al. **Canine leishmaniasis in Northern California-A case report**. **Veterinary clinical pathology** United States, mar. 2021.
- ARAUJO, A. DE C. et al. VISCERAL LEISHMANIASIS IN PETROLINA, STATE OF PERNAMBUCO, BRAZIL, 2007-2013. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 58, 2016.
- ARAÚJO, M. C. R. **Hematologia, bioquímica sérica e urinálise associadas às alterações do líquido sinovial de cães em diferentes estádios da leishmaniose visceral**. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.
- ARNAULT, F. et al. Diagnostic value of ultrasonography to assess stifle lesions in dogs after cranial cruciate ligament rupture: 13 cases. **Veterinary and comparative orthopaedics and traumatology : V.C.O.T**, v. 22, n. 6, p. 479–485, 2009.
- ASHFORD, R. W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in dermatology**, v. 14, n. 5, p. 523–532, 1996.
- BANETH, G.; AROCH, I. Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 175, n. 1, p. 14–15, jan. 2008.
- BARROUIN-MELO, S. M. et al. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 171, n. 2, p. 331–339, mar. 2006.
- BEASLEY, E. A. et al. Epidemiologic, Clinical and Immunological Consequences of Co-Infections during Canine Leishmaniosis. **Animals : an Open Access Journal From MDPI**, v. 11, n. 11, p. 3206–3206, 10 nov. 2021.
- BEVILACQUA, P. D. et al. Envolvimento articular em cães com leishmaniose visceral na região de

Araçatuba – SP. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 69, n. 2, p. 43–47, 2002.

BLAVIER, A. et al. Atypical forms of canine leishmaniosis. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 162, n. 2, p. 108–120, 2001.

BOGDAN, C.; RÖLLINGHOFF, M. The immune response to Leishmania: mechanisms of parasite control and evasion. **International journal for parasitology**, v. 28, n. 1, p. 121–134, jan. 1998.

BOGGIATTO, P. M. et al. Immunologic Indicators of Clinical Progression during Canine Leishmania infantum Infection. **Clinical and Vaccine Immunology : CVI**, v. 17, n. 2, p. 267, 1 fev. 2010.

BRASIL, M. DA S. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. **Secretaria de Vigilância em Saúde**, v. 1^a edição, 2014.

BRASIL, M. DA S. **Morbimortalidade e resposta nacional no contexto dos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável - Doenças Tropicais Negligenciadas no Brasil**. [s.l: s.n.]. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br>>. Acesso em: 9 maio. 2024.

BRITO, A. I. DE S. et al. Leishmaniose visceral em canino: Relato de caso. **Pubvet**, v. 15, n. 12, p. 1–6, 29 nov. 2021.

BURACCO, P. et al. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with Leishmania donovani infection in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, v. 38, n. 1, p. 29–30, 1 jan. 1997.

CACHON, T. et al. Face validity of a proposed tool for staging canine osteoarthritis: Canine OsteoArthritis Staging Tool (COAST). **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 235, p. 1–8, 1 maio 2018.

CAINE, A. et al. Sonography of the soft tissue structures of the canine tarsus. **Veterinary radiology & ultrasound : the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association**, v. 50, n. 3, p. 304–308, 2009.

CARREIRA, L.M., Alves, J., Inacio, F., Pires, G., Azevedo, P., 2024. Sex differences in serum and synovial fluid C-reactive protein concentration in healthy dogs. *Vet. Res. Commun.* 48, 2731–2741. <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10386-0>.

CARRET, C. et al. Babesia canis canis, Babesia canis vogeli, Babesia canis rossi: differentiation of the three subspecies by a restriction fragment length polymorphism analysis on amplified small subunit ribosomal RNA genes. **The Journal of eukaryotic microbiology**, v. 46, n. 3, p. 298–301, 1999.

CARRIG, C. B. et al. Diagnosticimaging of osteoarthritis. **The Veterinary clinics of North America. Small animal practice**, v. 153, n. 1, p. 648–652, nov. 2003.

CARRILLO, E. et al. Immunogenicity of the P-8 amastigote antigen in the experimental model of canine visceral leishmaniasis. **Vaccine**, v. 25, n. 8, p. 1534–1543, 9 fev. 2007.

CARSON, C. et al. Comparison of monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of canine

IgG1 and IgG2, and associations with infection outcome in *Leishmania infantum* naturally infected dogs. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 133, n. 2–4, p. 264–268, 15 fev. 2010.

CARVALHO, Cibele Figueira; VIANNA, Regina Suplicy. *Sistema musculoesquelético*. In: CARVALHO, Cibele. *Ultrassonografia em pequenos animais*. Local de publicação: São Paulo, Rocca, 2020. p. 329–358.

CIPOLLETTA, E., Smerilli, G., Mirza Mashadi, R., Mandl, P., Filippucci, E., 2025. Is thickened hyaline cartilage on ultrasound a sign of osteoarthritis? A within-person, between-joint pilot study. **BMC Rheumatol.** 9. <https://doi.org/10.1186/s41927-025-00473-3>.

CHAMIZO, C.; MORENO, J.; ALVAR, J. Semi-quantitative analysis of cytokine expression in asymptomatic canine leishmaniasis. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 103, n. 1–2, p. 67–75, 10 jan. 2005.

CHUNG, C.S.; TU, Y.J.; LIN, L.S. Comparison of Digital Radiography, Computed Tomography, and Magnetic Resonance Imaging Features in Canine Spontaneous Degenerative Stifle Joint Osteoarthritis. **Animals (Basel)**, v.3, n.5, e:849, 2023.

CIARAMELLA, P. et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **The Veterinary record**, v. 141, n. 21, p. 539–543, 1997.

COOK, J. L.; COOK, C. R. Bilateral shoulder and elbow arthroscopy in dogs with forelimb lameness: diagnostic findings and treatment outcomes. **Veterinary Sugery**, Hoboken, n. 38, p. 224–232, 2009.

CONSTANTINESCU, G. M.; CONSTANTINESCU, I. A. A Clinically Oriented Comprehensive Pictorial Review of Canine Elbow Anatomy. **Veterinary Surgery**, v. 38, n. 2, p. 135–143, 1 fev. 2009.

COSTA, F. A. L. et al. Histopathologic patterns of nephropathy in naturally acquired canine visceral leishmaniasis. **Veterinary pathology**, v. 40, n. 6, p. 677–684, 2003.

COURA-VITAL, W. et al. Humoral and cellular immune responses in dogs with inapparent natural *Leishmania infantum* infection. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 190, n. 2, nov. 2011.

DA COSTA-VAL, A. P. et al. Canine visceral leishmaniasis: relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 174, n. 3, p. 636–643, nov. 2007.

D'AGOSTINO, M.-A., Terslev, L., Aegerter, P., Backhaus, M., Balint, P., Bruyn, G.A., Filippucci, E., Grassi, W., Iagnocco, A., Jousse-Joulin, S., Kane, D., Naredo, E., Schmidt, W., Szkudlarek, M., Conaghan, P.G., Wakefield, R.J., 2017. Scoring ultrasound synovitis in rheumatoid arthritis: a EULAR-OMERACT ultrasound taskforce-Part 1: definition and development of a standardised, consensus-based scoring system. **Rheum. Musculoskelet. Dis. Open** 3, e000428. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2016-000428>.

D'ANJOU, MARC-ANDRÉ; BLOND, LAURENT. Musculoskeletal system and peripheral nerves. In: PENNINCK, Dominique; D'ANJOU, Marc-André (orgs.). *Atlas of Small Animal Ultrasonography*. 3. ed. [S.l.]: Wiley, 2025. p. 611–672.

- DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Rev Inst Med Trop São Paulo**, v. 48, n. 3, p. 151–156, 2006.
- DAVIES, C. R. et al. Leishmaniasis: new approaches to disease control. **BMJ (Clinical research ed.)**, v. 326, n. 7385, p. 377–382, 15 fev. 2003.
- DE SOUSA GONÇALVES, R. et al. Mathematical Modelling Using Predictive Biomarkers for the Outcome of Canine Leishmaniasis upon Chemotherapy. **Microorganisms**, v. 8, n. 5, maio 2020.
- DEBRABANT, A. et al. Role of Calreticulin in Leishmania Parasite Secretory Pathway and Pathogenesis. p. 220–237, 2003.
- DECAMP, C. E. et al. **Brinker, Piermattei and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Repair, Fifth Edition**. [s.l.] Elsevier, 2015.
- DIK, K. J. ULTRASONOGRAPHY OF THE EQUINE TARSUS. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 34, n. 1, p. 36–43, 1 jan. 1993.
- DRUMOND, J. P.; UNO, J. T. D.; XAVIER, V. F. Avaliação radiográfica de osteoartrite erosiva parasitária por Leishmania sp. em Spitz Alemão - relato de caso. **Sinapse Múltipla**, v. 10, n. 1, p. 31–33, 15 jul. 2021.
- ESCH, K. J. et al. Programmed Death 1–Mediated T Cell Exhaustion during Visceral Leishmaniasis Impairs Phagocyte Function. **The Journal of Immunology**, v. 191, n. 11, p. 5542–5550, 1 dez. 2013.
- FEITOSA, M. M. et al. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina: 100 casos. **Veterinária e Zootecnia**, Botucatu, v. 7, n. 2, p. 35–40, 2000.
- FERNÁNDEZ-PÉREZ, F. J. et al. Leishmania-specific lymphoproliferative responses and IgG1/IgG2 immunodetection patterns by Western blot in asymptomatic, symptomatic and treated dogs. **Acta Tropica**, v. 86, n. 1, p. 83–91, 1 abr. 2003.
- GARCÍA-CASTRO, A. et al. Humoral and Cellular Immune Response in Asymptomatic Dogs with Visceral Leishmaniasis: A Review. **Vaccines**, v. 10, n. 6, 1 jun. 2022.
- GENOVESE, R. L. et al. Diagnostic ultrasonography of equine limbs. **The Veterinary clinics of North America. Equine practice**, v. 2, n. 1, p. 145–226, 1986.
- GHARBI, M. et al. Leishmaniosis (Leishmania infantum infection) in dogs. **Revue Scientifique et Technique Office International des Epizooties**, v. 34, n. 2, p. 623–626, 2015.
- GIZZARELLI, M. et al. Assessment of Circulating Immune Complexes During Natural and Experimental Canine Leishmaniasis. **Frontiers in veterinary science**, v. 7, 19 maio 2020.
- GOMES, L.F.F., 2019. *Avaliação ultrassonográfica de cães grandes e pequenos com afecções da articulação femorotibiopatelar*. Tese [Doutorado em Clínica Cirúrgica Veterinária] – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- GOMES, L. F. F.; HAGEN, S. C. F. Diagnóstico ultrassonográfico das afecções articulares em cães:

revisão. **Clínica Veterinária**, v. 24, n. 139, p. 54–65, 2019.

GOMES, Y. M. et al. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. **Veterinary journal (London, England : 1997)**, v. 175, n. 1, p. 45–52, jan. 2008.

GOTO, Y.; MIZOBUCHI, H. Pathological roles of macrophages in Leishmania infections. **Parasitology International**, v. 94, p. 102738, 1 jun. 2023.

GREGORY, D. J.; OLIVER, M.; MASSEY, M.; MATLASHEWSKI, G. Leishmania donovani inhibits host cell apoptosis through the regulation of Bcl-2 family members. **Cellular Microbiology**, Oxford, v. 13, n. 8, p. 1181–1194, 2011.

GRESHAKE, R. J.; ACKERMAN, N. Ultrasound Evaluation Of The Coxofemoral Joints Of The Canine Neonate. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 34, n. 2, p. 99–104, 1 mar. 1993.

GUEDES, D. L. et al. Sexual Transmission of Visceral Leishmaniasis: A Neglected Story. **Trends in parasitology**, v. 36, n. 12, p. 950–952, 1 dez. 2020.

GUPTA, G., OGHUMU, S., SATOSKAR, A. R. Mechanisms of immune evasion in *Leishmaniasis*. **Advances in Applied Microbiology**, 82, 155–184. 2013.

HOSEIN, S. et al. Transcription of Toll-Like Receptors 2, 3, 4 and 9, FoxP3 and Th17 Cytokines in a Susceptible Experimental Model of Canine Leishmania infantum Infection. **PloS one**, v. 10, n. 10, 14 out. 2015.

HOSEIN, S.; BLAKE, D. P.; SOLANO-GALLEGO, L. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. **Parasitology**, v. 144, n. 1, p. 95–115, 1 jan. 2017.

JACQUES, D. et al. Type I immune-mediated polyarthritis in dogs: 39 cases (1997–2002). **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 224, n. 8, p. 1323–1327, 2004.

JACQUES, D., Cauzinille, L., Bouvy, B., Dupre, G., 2002. A retrospective study of 40 dogs with polyarthritis. *Vet. Surg.* 31, 428–434. <https://doi.org/10.1053/jvet.2002.34665>, 2002.

JONES, G. M. C.; PITSELLIDES, A. A.; MEESON, R. L. Moving Beyond the Limits of Detection: The Past, the Present, and the Future of Diagnostic Imaging in Canine Osteoarthritis. **Frontiers in veterinaryscience**, v. 9, 15 mar. 2022.

JUNQUEIRA, A. M. C. **Avaliação ultrassonográfica e radiográfica da profundidade da tróclea femoral em cães**. [s.l: s.n.].

KASZAK, I.; PLANELLAS, M.; DWORECKA-KASZAK, B. Canine leishmaniosis-an emerging disease. 2015.

KARTHIK, P. S.; KANNAN, S. Host–pathogen interactions in visceral leishmaniasis: a review. **Parasite Immunology**, Oxford, v. 45, n. 1, p. e12950, 2023

KEALY, J. K.; MCALLISTER, H.; GRAHAM, J. P. **Radiografia e Ultrassonografia do Cão e do Gato**. 1st. ed. [s.l.] Manole Saúde, 2005.

KIM, B. H.; SHIN, S. J. Phagosome maturation arrest: a crucial strategy for intracellular survival of *Mycobacterium tuberculosis*. **Immune Network**, Seoul, v. 21, n. 1, p. e5, 2021.

- KIRBERG, R. M.; FOURIE, S. L. Elbow dysplasia in the dog: pathophysiology, diagnosis and control. **Journal of the South African Veterinary Association**, Pretoria, v. 69, n. 2, p. 43-54, 1998.
- KOUTINAS, A. F.; KOUTINAS, C. K. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. **Veterinary pathology**, v. 51, n. 2, p. 527-538, mar. 2014.
- KRAMER, M. et al. Sonography of the canine stifle. **Veterinary radiology & ultrasound : the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association**, v. 40, n. 3, p. 282-293, 1999.
- LACHAUD, L. et al. Value of two PCR methods for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis and the detection of asymptomatic carriers. **Parasitology**, v. 125, n. Pt 3, p. 197-207, 2002.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. New world leishmaniasis. In: COX, F. E. G. et al. (Eds.). **Microbiology and Microbial Infections: Parasitology**. [s.l.] Wiley, 2005. p. 313-349.
- LAMB, C. R.; DUVERNOIS, A. Ultrasonographic anatomy of the normal canine calcaneal tendon. **Veterinary radiology & ultrasound : the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association**, v. 46, n. 4, p. 326-330, jul. 2005.
- LAMB, C. R.; WONG, K. Ultrasonographic Anatomy Of The Canine Elbow. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 46, n. 4, p. 319-325, 1 jul. 2005.
- LANDIS, J. R.; KOCH, G. G. The measurement of observer agreement for categorical data. **Biometrics**, v. 33, n. 1, p. 159-175, 1 mar. 1977.
- LAPPALAINEN, A. K.; MOLSA, S.; LIMAN, A.; SNELLMAN, M.; LAITINENVAPAAVUORI, O. Evaluation of accuracy of the Finnish elbow dysplasia screening protocol in Labrador retrievers. **Journal of Small Animal Practice**, v. 54, n. 4, p. 195-200, 2013.
- LIMA DE SOUSA, M.; TEREZA, C.; BORGES, L. A ultrassonografia das mãos no diagnóstico precoce e seguimento clínico de pacientes com Artrite Reumatóide. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 10, n. 3, p. 264-271, 30 jun. 2019.
- LIMA, L. V. D. R. et al. Further evidence associating IgG1, but not IgG2, with susceptibility to canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania (L.) infantum chagasi*-infection. **Parasite (Paris, France)**, v. 24, 2017.
- MCCONKEY, S.E., López, A., Shaw, D., Calder, J., 2002. Leishmanial polyarthritis in a dog. *Can. Vet. J.* 43, 607-609.
- MAEGUCHI, K. et al. How precisely does ultrasonographic evaluation reflect the histological status of the articular cartilage of the knee joint? **Journal of Orthopaedics**, v. 15, n. 2, p. 636, 1 jun. 2018.
- MAGALHÃES-JÚNIOR, J. T.; MOTA, T. F.; PORFIRIO-PASSOS, G.; LARANGEIRA, D. F.; FRANKE, C. R.; BARROUIN-MELO, S. M. Xenodiagnosis on dogs with visceral leishmaniasis: Canine and sand fly aspects related to the parasite transmission. **Veterinary Parasitology**, June 15, 2016, v. 223, p. 120-126.

MAHN, K. et al. Dietary soy isoflavone induced increases in antioxidant and eNOS gene expression lead to improved endothelial function and reduced blood pressure in vivo. **FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology**, v. 19, n. 12, p. 1755–1757, out. 2005.

MAIA, C.; CAMPINO, L. Biomarkers Associated With *Leishmania infantum* Exposure, Infection, and Disease in Dogs. **Frontiers in cellular and infection microbiology**, v. 8, n. SEP, 6 set. 2018.

MANZILLO, V. F. et al. Pathological changes in the bone marrow of dogs with leishmaniosis. **The Veterinary record**, v. 158, n. 20, p. 690–694, 20 maio 2006.

MANZILLO, V. F. et al. Prospective Study on the Incidence and Progression of Clinical Signs in Naïve Dogs Naturally Infected by *Leishmania infantum*. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, v. 7, n. 5, p. 2225, 2013.

MARCELINO SILVA, A. C. et al. Poliartrite em cão por Leishmaniose - tratamento com miltefosina. **Acta sci. vet. (Impr.)**, v. 51, p. Pub. 853-Pub. 853, 2023.

MARCONDES, M.; DAY, M. J. Current status and management of canine leishmaniasis in Latin America. **Veterinary Sciences**, v. 123, p. 261–272, 2019.

MATHIESSEN, A. et al. Ultrasound-detected osteophytes predict the development of radiographic and clinical features of hand osteoarthritis in the same finger joints 5 years later. **RMD open**, v. 3, n. 2, 1 ago. 2017.

MATHIESSEN, A., Haugen, I.K., Slatkowsky-Christensen, B., Bøyesen, P., Kvien, T.K., Hammer, H.B., 2013. Ultrasonographic assessment of osteophytes in 127 patients with hand osteoarthritis: Exploring reliability and associations with MRI, radiographs and clinical joint findings. *Ann. Rheum. Dis.* 72, 51–56. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201195>

MATTERN, K. L. et al. Radiographic And Ultrasonographic Evaluation Of The Patellar Ligament Following Tibial Plateau Leveling Osteotomy. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 47, n. 2, p. 185–191, 1 mar. 2006.

MCCONKEY, S. E. et al. Leishmanial polyarthritis in a dog. **The Canadian Veterinary Journal**, v. 43, n. 8, p. 607, ago. 2002.

MELÉNDEZ-LAZO, A. et al. Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. **Research in veterinary science**, v. 117, p. 18–27, 1 abr. 2018.

MEOMARTINO, L. et al. Imaging techniques in Veterinary Medicine. Part I: Radiography and Ultrasonography. **European journal of radiology open**, v. 8, 1 jan. 2021.

MILES, S. A. et al. A role for IgG immune complexes during infection with the intracellular pathogen *Leishmania*. **The Journal of experimental medicine**, v. 201, n. 5, p. 747–754, 7 mar. 2005.

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

MOLINA, C. C. et al. Clinical findings and prognostic factors for mortality in hospitalized dogs with leishmaniosis: a retrospective study. **Comparative immunology, microbiology and infectious diseases**, v. 101, 1 out. 2023.

MONTSERRAT-SANGRÀ, S. et al. Parasite Specific Antibody Levels, Interferon- γ and TLR2 and TLR4 Transcripts in Blood from Dogs with Different Clinical Stages of Leishmaniosis. **Veterinary sciences**, v. 5, n. 1, 1 mar. 2018.

MORALES-YUSTE, M.; MARTÍN-SÁNCHEZ, J.; CORPAS-LOPEZ, V. Canine Leishmaniasis: Update on Epidemiology, Diagnosis, Treatment, and Prevention. **Veterinary Sciences**, v. 9, n. 8, 1 ago. 2022.

MURAMOTO, C.; STERMAN, F. DE A.; PINTO, A. C. B. DE C. F. Estabelecimento de valores de densidade mineral óssea (DMO) das regiões metafisária e diafisária do rádio em cães da raça Poodle por meio da Densitometria Óptica Radiográfica. **Braz. j. vet. res. anim. sci**, p. 89–89, 2005.

MURPHY, G. L. et al. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. **Veterinary parasitology**, v. 79, n. 4, p. 325–339, 27 nov. 1998.

NAREDO, E. et al. Ultrasound validity in the measurement of knee cartilage thickness. **Annals of the rheumatic diseases**, v. 68, n. 8, p. 1322–1327, ago. 2009.

NASCIMENTO, L. F. J. et al. Epidemiological and diagnostic aspects of feline leishmaniasis with emphasis on Brazil: a narrative review. **Parasitology research**, v. 121, n. 1, p. 21–34, 1 jan. 2022.

NIETO, C. G. et al. Analysis of the humoral immune response against total and recombinant antigens of *Leishmania infantum*: correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 67, n. 2, p. 117–130, 1 fev. 1999.

NOSOVICKI, A. Y. G. S. **A ultrassonografia como ferramenta diagnóstica para as disfunções temporomandibulares**. [s.l.] Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2016.

NUNES, C. M. et al. Avaliação da reação em cadeia pela polimerase para diagnóstico da leishmaniose visceral em sangue de cães. **Web of Science**, 1 jan. 2007.

OKANO, T. et al. Ultrasonographic evaluation of joint damage in knee osteoarthritis: feature-specific comparisons with conventional radiography. **Rheumatology (Oxford, England)**, v. 55, n. 11, p. 2040–2049, 1 nov. 2016.

ORYAN, A.; AKBARI, M. Worldwide risk factors in leishmaniasis. **Asian Pacific journal of tropical medicine**, v. 9, n. 10, p. 925–932, 1 out. 2016.

OWENS, J. M. et al. Veterinary radiology-History, purpose, current status and future expectations. **Veterinary radiology & ultrasound : the official journal of the American College of Veterinary Radiology and the International Veterinary Radiology Association**, v. 60, n. 3, p. 358–362, 1 maio 2019.

PARODY, N. et al. Circulating immune complexes levels correlate with the progression of canine leishmaniosis in naturally infected dogs. **Veterinary parasitology**, v. 274, 1 out. 2019.

PAZ, L. N. et al. Unusual case of polyarthritis and hepatorenal syndrome associated with *Leptospira interrogans* infection in a dog: A case report. **Research in veterinary science**, v. 134, p. 186–190, 1 jan. 2021.

PENNINCK, D.; D'ANJOU, M.-A. **Atlas of small animal ultrasonography**. 2nd. ed. [s.l.] Wiley-Blackwell, 2015.

PERRY, K. Immune-mediated polyarthritis: pathophysiology and classification. **Veterinary Times**, 28 set. 2015.

PINELLI, E. et al. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infection and immunity**, v. 62, n. 1, p. 229–235, 1994.

QUARESMA, P. F. **Diagnóstico Molecular da Leishmaniose Visceral Canina e Quantificação da Carga Parasitária Através da Reação em Cadeia da Polimerase**. [s.l: s.n.].

QUINNELL, R. J. et al. IgG subclass responses in a longitudinal study of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 91, n. 3–4, p. 161–168, 10 fev. 2003.

RAMÍREZ-FLORES, G.I., Del Angel-Caraza, J., Quijano-Hernández, I.A., Hulse, D.A., Beale, B.S., Victoria-Mora, J.M., 2017. Correlation between osteoarthritic changes in the stifle joint in dogs and the results of orthopedic, radiographic, ultrasonographic and arthroscopic examinations. **Vet. Res. Commun.** 41, 129–137. <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9680-2>

REED, A. L.; PAYNE, J. T.; CONSTANTINESCU, G. M. Ultrasonographic Anatomy of the Normal Canine Stifle. **Veterinary Radiology & Ultrasound**, v. 36, n. 4, p. 315–321, 1 jul. 1995.

REICHLE, J. K.; PARK, R. D., BAHR, A. M. Computed tomographic findings of dogs with cubital joint lameness. **Veterinary Radiology and Ultrasound**, v. 41, n. 2, p. 125-130, 2000.

RETTIGER, C.; MAJUMDER, N.; STAGER, S. Immunopathogenesis of *Leishmania*: Modulation of Host Cell Signaling Pathways and Future Therapeutic Strategies. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, Lausanne, v. 12, p. 872, 2022

RIBEIRO, F. C. et al. Use of ELISA employing homologous and heterologous antigens for the detection of IgG and subclasses (IgG1 and IgG2) in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 53, n. 5, p. 283–289, set. 2011.

RIBEIRO, R. R. et al. Canine Leishmaniasis: An Overview of the Current Status and Strategies for Control. **BioMed Research International**, v. 2018, 2018.

RIBEIRO, T. M. et al. ISOLAMENTO DE *Leishmania* (*Leishmania*) infantum chagasi Em Cão Com Poliartrite No Município De Araguaína, Tocantins: Relato De Caso. **Encyclopedia Biosfera**, v. 18, n. 37, 29 set. 2021.

RIBEIRO-GOMES, F. L., & SACKS, D. The influence of early neutrophil–parasite interactions on the host immune response to *Leishmania*. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, 2, 59. 2012.

ROCHA, M. A. N. et al. Epidemiological aspects of human and canine visceral leishmaniasis in State of Alagoas, Northeast, Brazil. **Brazilian Journal of Biology**, v. 78, n. 4, p. 609–614, 5 fev. 2018.

- RODRÍGUEZ-CORTÉS, A. et al. A long term experimental study of canine visceral leishmaniasis. **International Journal for Parasitology**, v. 37, n. 6, p. 683–693, 14 dez. 2006.
- SAKELLARIOU, G. et al. EULAR recommendations for the use of imaging in the clinical management of peripheral joint osteoarthritis. **Annals of the Rheumatic Diseases**, v. 76, n. 9, p. 1484–1494, 1 set. 2017.
- SAMPAIO, J. R. et al. Leishmania infantum-Derived Glycoinositolphospholipids in the Immunodiagnosis of Subclinically Infected Dogs. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, 12 mar. 2021.
- SANTOS, M. et al. Polyarthritis associated with visceral leishmaniasis in a juvenile dog. **Veterinary parasitology**, v. 141, n. 3–4, p. 340–344, 5 nov. 2006.
- SBRANA, S. et al. Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to Leishmania infection. **The Journal of small animal practice**, v. 55, n. 6, p. 309–313, 2014.
- SCANZELLO, C.R., Goldring, S.R., 2012. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. **Bone** 51, 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.02.012>
- SELLAM, J., Berenbaum, F., 2010. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. **Nat. Rev. Rheumatol.** 6, 625–635. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.159>
- SEGARRA, S. Nutritional Modulation of the Immune Response Mediated by Nucleotides in Canine Leishmaniosis. **Microorganisms**, v. 9, n. 12, 1 dez. 2021.
- SILVA, A. R. S. et al. Joint involvement in canine visceral leishmaniasis: Orthopedic physical examination, radiographic and computed tomographic findings. **Veterinary parasitology**, v. 299, 1 nov. 2021.
- SILVA, A. R. S. et al. Synovial fluid and radiographic evaluation of joints from dogs with visceral leishmaniasis. **Parasites & vectors**, v. 15, n. 1, 1 dez. 2022.
- SILVA, K. R. D.; MENDONÇA, V. R. R. D.; SILVA, K. M.; NASCIMENTO, L. F. M. D.; MENDES-SOUZA, A. F.; PINHO, F. A. D.; CRUZ, M. D. S. P. E. Scoring clinical signs can help diagnose canine visceral leishmaniasis in a highly endemic area in Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 112, p. 53–63, 2017.
- SLAPPENDEL, R. J.; SLAPPENDEL2, R. J. Prize-winning paper Jubilee Competition: Canine leishmaniasis. **Veterinary Quarterly**, v. 10, n. 1, p. 1–16, 1988.
- SLATTER, D. H. **Textbook of small animal surgery**. Philadelphia: Elsevier Health Sciences, 2003. 1285 p. v. 1.
- SOLANO-GALLEGOS, L. et al. The Ibizian hound presents a predominantly cellular immune response against natural Leishmania infection. **Veterinary parasitology**, v. 90, n. 1–2, p. 37–45, 10 jun. 2000.
- SOLANO-GALLEGOS, L. et al. Leishmania infantum-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas: Evolution in the course of infection and after treatment. **Veterinary Parasitology**, v. 96, n. 4, p. 265–276, 19 abr. 2001.

- SOLANO-GALLEG, L. et al. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. **Veterinary parasitology**, v. 165, n. 1-2, p. 1-18, 28 out. 2009.
- SOLANO-GALLEG, L. et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. **Parasites and Vectors**, v. 4, n. 1, p. 1-16, 20 maio 2011.
- SOLANO-GALLEG, L. et al. Leishmania infantum-specific production of IFN- γ and IL-10 in stimulated blood from dogs with clinical leishmaniosis. **Parasites & vectors**, v. 9, n. 1, 3 jun. 2016.
- SONODA, M. C. et al. Estudo retrospectivo de casos caninos de leishmaniose atendidos na cidade de São Paulo, Brasil (1997-2007). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 34, n. 2, p. 741-758, 14 maio 2013.
- SOUSA, M. L.; BORGES, C. T. L. A ultrassonografia das mãos no diagnóstico precoce e seguimento clínico de pacientes com Artrite Reumatóide. **Revista de Investigação Biomédica**, v. 10, n. 3, p. 264-271, 30 jun. 2019.
- SPRENG, D. Leishmanial polyarthritis in two dogs. **Journal of Small Animal Practice**, v. 34, n. 11, p. 559-563, 1 nov. 1993.
- TABAR, M. D. et al. Detection of vector-borne pathogens in owned dogs with cranial cruciate ligament rupture living in the Mediterranean area. **Parasites and Vectors**, v. 15, n. 1, p. 1-6, 1 dez. 2022.
- TEIXEIRA, C. et al. Role of Sand Fly Saliva in Experimental and Human Leishmaniasis. **Gazeta médica da Bahia**, v. 75, n. 1, p. 18-23, 2005.
- THRALL, D. E.; WIDMER, W. R. **Textbook of veterinary diagnostic radiology**. 7th. ed. [s.l.] Saunders, 2018.
- TOBOLSKA, A.; ADAMIAK, Z.; GŁODEK, J. Clinical Applications of Imaging Modalities of the Carpal Joint in Dogs with Particular Reference to the Carpal Canal. **Journal of veterinary research**, v. 64, n. 1, p. 169-174, 1 mar. 2020.
- TOEPP, A. J. et al. Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. **Parasites and Vectors**, v. 12, n. 1, p. 1-12, 23 jan. 2019.
- TOEPP, A. J.; PETERSEN, C. A. The Balancing Act: Immunology of Leishmaniosis. **Research in veterinary science**, v. 130, p. 19, 1 jun. 2020.
- TOIJALA, T. M.; CANAPP, D. A.; CANAPP, S. O. Ultrasonography Findings in the Proximal Sciatic Nerve and Deep Gluteal Muscles in 29 Dogs With Suspected Sciatic Neuritis. **Frontiers in veterinary science**, v. 8, 27 ago. 2021.
- TRAVI, B. L. et al. Clinical, parasitologic, and immunologic evolution in dogs experimentally infected with sand fly-derived Leishmania chagasi promastigotes. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 81, n. 6, p. 994-1003, dez. 2009.
- TRAVI, B. L.; CORDEIRO-DA-SILVA, A.; DANTAS-TORRES, F.; MIRÓ, G. Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us. **PLOS Neglected Tropical Diseases**, January 11, 2018, v. 12, n. 1, e0006082.

TSOULOUFI, T. K. et al. Prevalence of antinuclear antibodies and rheumatoid factor titers in dogs with arthritis secondary to leishmaniosis (*Leishmania infantum*). **Journal of veterinary diagnostic investigation: official publication of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, Inc**, v. 34, n. 4, p. 699–702, 1 jul. 2022.

TURREL, J. M.; POOL, R. R. Bone Lesions In Four Dogs With Visceral Leishmaniasis. **Veterinary Radiology**, v. 23, n. 6, p. 243–249, 1 nov. 1982.

VAN DER KRAAN, P. M.; VAN DEN BERG, W. B. Osteophytes: relevance and biology. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 15, n. 3, p. 237–244, 1 mar. 2007.

VAN DER VEKENS, E. et al. High-frequency ultrasound, computed tomography and computed tomography arthrography of the cranial cruciate ligament, menisci and cranial meniscotibial ligaments in 10 radiographically normal canine cadaver stifles. **BMC veterinary research**, v. 15, n. 1, 14 maio 2019.

VILLAMONTE-CHEVALIER, A. A. et al. Ultrasonographic and anatomic study of the canine elbow joint. **Veterinary surgery : VS**, v. 44, n. 4, p. 485–493, 1 maio 2015.

WISNER, E.; ZWINGENBERGER, A. **Atlas of small animal CT and MRI**. New Jersey: Wiley-Blackwell, 2015. 704 p.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmaniasis**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>>. Acesso em: 27 abr. 2024.

ZWINGENBERGER, A. A.; BENIGNI, L.; LAMB, C. R. Musculoskeletal system. In: MATTOON, J. S.; NYLAND, T. G. (ed.). **Small animal diagnostic ultrasound**. 3. ed. St. Louis: Elsevier Saunders, 2015. p. 517–540.

APÊNDICE

A. Quadro com diferentes estadiamentos clínicos da LCan de acordo com anticorpos, sinais clínicos, achados de patologia clínica, tratamento e prognóstico.

| Estadiamento clínico | Sorologia (presença de anticorpos) | Sinais clínicos | Achados de patologia clínica | Tratamento* | Prognóstico |
|------------------------------------|---|---|---|--|--------------------------|
| Estadio I (doença discreta) | - Negativo ou níveis discretos de anticorpos - Infecção confirmada por imunohistoquímica | Discretos: linfadenopatia discreta ou dermatite papular | Perfil renal normal: - Creatinina <1,4mg/dL - UPC <0,5 | Acompanhamento ou alopurinol isolado ou associado a meglumina ou miltefosina | Bom |
| Estadio II (doença moderada) | - Níveis discretos a elevados - Ponto de corte: 1/80 | Sinais do estadio I e dermatite esfoliativa difusa, onicogriose, ulcerações, anorexia, perda de peso e epistaxe | - Anemia não regenerativa - hipergamaglobulinemia - Creatinina <1,4mg/dL - UPC 0,5-1,0 | Alopurinol associado a meglumina ou miltefosina | Bom a reservado |
| Estadio III (doença grave) | - Níveis elevados - Ponto de corte: 1/80 | Sinais do estadio II e lesões associadas a deposição de imunocomplexos como vasculites, artrites, uveíte e glomerulonefrite | - Alterações do estadio II - Doença renal crônica (IRIS I) - Creatinina 1,4-2mg/dL - UPC >1,0 ou IRIS II | Alopurinol associado a meglumina ou miltefosina Protocolo IRIS para DRC | Reservado a desfavorável |
| Estadio IV (doença muito grave) | - Níveis muito elevados - Ponto de corte: 1/80 | Sinais dos estadios anteriores e tromboembolismo pulmonar, síndrome nefrótica e DRC em estádio final | - Alterações do estadio III - IRIS III (creatimina 2-5 mg/dL) - IRIS IV (creatimina >5mg/dL - Síndrome nefrótica com proteinúria - UPC >5,0 | Alopurinol e seguir protocolo IRIS para DRC | Desfavorável |

Traduzido e adaptado (SOLANO-GALLEGO et al., 2011); *Nem todos os tratamentos listados nesse quadro são liberados para uso em cães no Brasil.

DRC= doença renal crônica; IRIS=estadio da doença renal crônica.

APENDICE

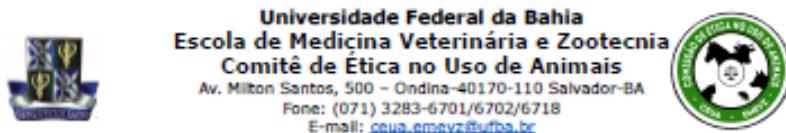
B. Quadro com Parâmetros para estadiamento clínico da LCan de acordo com escore clínico

Figure 1 - Scores assigned to clinical and laboratory parameters for assessing the severity of canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* in dogs admitted to the Outpatient Clinic of Zoonotic Leishmaniasis at the Teaching Hospital of Veterinary Medicine, Federal University of Bahia, Salvador, Brazil.

| PARAMETERS | | SCORE BASED ON INTENSITY |
|------------------------|--------------------------------------|--|
| SKIN ALTERATIONS | Alopecia | Focal (1) Disseminated (2) |
| | Desquamation | Focal (1) Disseminated (2) |
| | Hyperkeratosis | Focal (1) Disseminated (2) |
| | Nodules | Focal (1) Multiples (2) Disseminated (3) |
| | Ulcers | Focal (1) Multiples (2) Disseminated (3) |
| | Cutaneous vasculitis | Focal (2) Multiples (3) |
| | Onychogryphosis | Presence (2) |
| | Pruritus | Discrete (1) Intense (2) |
| SYSTEMICAL ALTERATIONS | Attitude | Lethargy (1) Apathy (2) Prostration (3) |
| | Weight loss | Discrete (1) Moderate (2) Cachexia (3) |
| | Pain with vocalization | Presence (3) |
| | Mucous membranes | Pale (2) Icteric (3) |
| | Limphonodomegaly | One (1) Two or more (2) |
| | Epistaxis | Presence (2) |
| | Enlarged spleen | Increased (2) |
| | Gastrointestinal disorders | Inappetence (1) Diarrhea / Vomiting (2) Blood in feces (3) |
| | Ophthalmic alterations | Blepharitis (1) Conjunctivitis (2) Uveitis (3) |
| | Orthopedic alterations | Claudication (2) Polyarthropathy (3) |
| LABORATORY ALTERATIONS | Anemia | Discrete or moderate (2) Intense (3) |
| | Thrombocytopenia | Discrete (2) Moderate to Intense (3) |
| | Leukocytes | Leukocytosis (1) Leukopenia (2) Lymphopenia (3) |
| | Elevated liver enzymes ALT, ALP, GGT | Discrete (2) Moderate to Intense (3) |
| | Hyperglobulinemia | Discrete (1) Moderate (2) Intense (3) |
| | Hypoalbuminemia | Discrete (2) Intense (3) |
| | Increased serum creatinine levels | Discrete (2) Moderate to Intense (3) |
| | Increased serum urea levels | Discrete (1) Moderate (2) Intense (3) |
| | Urinalysis | Proteinuria / Uroliths (2) Elevated UPC (3) |

ANEXOS

Anexo 1. Protocolo da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA)



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Análise radiográfica e ultrassonográfica das articulações na leishmaniose canina naturalmente adquirida", registrada com o nº 109/2023, sob a responsabilidade do(a) Pesquisador(a)/Professor(a) Stella Maria Barrozin Melo, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia, em reunião de 25/03/2024.

| | |
|-------------------------|--|
| Finalidade | (<input checked="" type="checkbox"/>) Ensino (<input type="checkbox"/>) Pesquisa (<input type="checkbox"/>) Extensão |
| Vigência da autorização | 25/03/2024 à 05/12/2025 |
| Espécie/linhagem/raça | Canina |
| Nº de animais | 30 |
| Pesolidade | Variável |
| Sexo | Variável |
| Origem | Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas - HOSPMEV - UFBA, Av. Milton Santos, 500 - Ondina - CEP 40170-110 |

ATENÇÃO: Prazos definidos no Regimento Interno da CEUA/EMEVZ

Relatório final

Art. 29 – Finalizado o projeto de ensino, pesquisa e/ou extensão, o coordenador deverá enviar em até 90 (noventa) dias após o término da vigência do projeto que consta no certificado emitido pela CEUA/EMEVZ, ou no caso dos planos de ensino regulares a cada 4 (quatro) anos, o Anexo II – Relatório de projeto certificado pela CEUA/EMEVZ preenchido (disponível na página oficial da CEUA/EMEVZ) ao e-mail oficial da CEUA/EMEVZ.

Renovação do projeto

Art. 30 – Para solicitação de renovação de protocolo de ensino, pesquisa e/ou extensão, o coordenador deverá encaminhar o Anexo III - Formulário de solicitação de renovação de protocolo CEUA/EMEVZ preenchido (disponível na página oficial da CEUA/EMEVZ) ao e-mail oficial da CEUA/EMEVZ, no mínimo 60 (sessenta) dias antes a data de término prevista no certificado emitido pela CEUA/EMEVZ.

Salvador, 25/03/2024



LÚCIO LEOPOLDO ARAGÃO DA SILVA
Coordenador CEUA/EMEVZ

Anexo 2. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA
ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA E ZOOTECNIA
HOSPITAL-ESCOLA DE MEDICINA VETERINÁRIA
 Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas (ALZ),
 Av. Milton Santos, 500 - Ondina - Salvador Bahia CEP: 40170-110

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente termo tem o objetivo de informar ao (a) guardião (á) do animal (cão ou gato) quanto aos principais aspectos relacionados ao atendimento clínico no Ambulatório de Leishmanioses Zoonóticas (ALZ), sob cujas regras o paciente será avaliado e tratado, complementando as informações prestadas pelo (a) seu (sua) médico (a) veterinário (a) da equipe de pesquisadores e médicos veterinários pertencentes ao ALZ, no Hospital-Escola de Medicina Veterinária da UFBA. Eu, _____, nascido em ____/____/____, portador do CPF _____, declaro que fui devidamente informado (a) sobre o protocolo aplicado pela **Equipe ALZ - HOSPMEV - UFBA**, sendo o meu animal da espécie: _____ de nome _____, sexo _____, raça _____, idade _____, RG _____, submetido a triagem a partir da avaliação por meio de coleta de amostras de sangue, urina, aspirado esplênico, medula óssea e linfonodos, além de demais amostras recomendadas em consulta pela equipe consideradas importantes para o diagnóstico. Além de exames de imagens que serão realizados em consulta ou que possam ser solicitados pela (o) veterinária (o) responsável. Parte das coletas dessas amostras serão mediante sedação, com o objetivo de tranquilizar o animal para a execução dos procedimentos.

Declaro estar ciente de que tanto os procedimentos de tratamentos medicamentosos, quanto à colheita de amostras podem implicar riscos à saúde do meu animal, sob a forma de reações adversas ou reações idiossincrásicas (reações adversas ainda não descritas) aos fármacos utilizados em qualquer etapa do diagnóstico ou tratamento, ou ainda de possibilidades de acidentes devido ao uso de instrumentos perfurantes, associados ou não ao próprio estado de saúde do paciente. Estou ciente de que embora todos os riscos sejam possíveis, os métodos previstos no protocolo são de extrema importância para o tratamento adequado do animal. Todos os procedimentos serão realizados por médicos veterinários treinados, o que minimiza a possibilidade de ocorrências adversas.

Pára participação deste paciente no estudo, **estou ciente** de que é necessário seguir todas as prescrições realizadas pelos médicos veterinários e comunicar qualquer alteração manifestada pelo animal durante todo o período de tratamento. Caso na triagem seja confirmada a positividade de leishmaniose, o primeiro retorno será marcado em um período de 7 a 15 dias, no qual será iniciada a terapêutica anti-*Leishmania* para os animais com leishmaniose. Depois do início do tratamento, o animal retornará em 20 dias, 50 dias e 80 dias, no mínimo e também sempre que for solicitado pela equipe demais revisões. Esse cronograma de retornos deve ser respeitado.

Declaro estar ciente que nos retornos serão realizados provavelmente novos exames de rotina clínico-laboratorial, pois o objetivo é acompanhar a eficiência do tratamento. A não continuidade correta das revisões solicitadas implicará desde a impossibilidade de exames específicos que poderiam ser gratuitos e/ou com valores reduzidos, até o desligamento do paciente ao acompanhamento com o ALZ. Este Ambulatório também não se responsabilizará por tratamentos de doenças em paralelo, mas as recomendações e encaminhamentos serão fornecidos.

Confirme que recebi explicações, li, comprehendo e concordo com tudo que me foi esclarecido e que me foi concedida a oportunidade de anular, questionar, alterar qualquer espaço, parágrafo ou palavras com as quais não concordasse. Tive a oportunidade de fazer perguntas que me foram respondidas satisfatoriamente. Assim, tendo conhecimento, autorizo a realização do procedimento proposto em meu animal.

Salvador, _____ de _____ de _____
Assinatura:

Anexo 3 - Artigo**Ultrasonographic detection of joint lesions in canine leishmaniasis caused by *Leishmania infantum***Priscila Vasconcelos Oliveira¹; Caterina Muramoto³; *et. al*; Stella Maria Barrouin-Melo^{1,2*}**ABSTRACT**

Canine leishmaniasis (CanL) caused by *Leishmania infantum* is a multisystemic disease that can present with joint manifestations related to inflammatory processes. This study evaluated the effectiveness of ultrasonography for detecting joint abnormalities in dogs with LCan. Forty-three *L. infantum* PCR-positive dogs underwent orthopedic physical examination and ultrasonography, and 20 of them were also evaluated by radiography. Tarsal joints were systematically examined by imaging methods, while other joints had imaging diagnosis when there were orthopedic clinical changes. Arthropathy lesions were detected on joint ultrasonography in 86% (37/43) of the studied dogs, with osteophytes (83.8%), joint effusion (64.9%), and capsular thickening (56.7%) being the most frequent. Among dogs with joint lesions detected by ultrasonography, 29.7% (11/37) did not have clinical orthopedic alterations. Radiography detected tarsal joint lesions in 40% (8/20) of the evaluated dogs. Considering the physical examination as a reference, ultrasonography had a sensitivity of 89.7% in identifying joint changes, while radiography's sensitivity was 66.7%. Overall, 88.4% (38/43) of the dogs with CanL had joint alterations detectable by image methods, consistent with degenerative processes, even those without clinical locomotor signs. We conclude that ultrasonography was superior to radiography in detecting joint alterations in dogs with CanL, including those with subclinical arthropathy. This would support recommending joint ultrasonography as a first-line tool in the early diagnosis of osteoarticular lesions associated with *L. infantum* infection.

Keywords: Arthritis, Arthrodynia, Diagnostic, Pain, Polyarthritis, Radiographic, Ultrasound.

1 Introduction

Advances in knowledge about leishmaniasis in dogs and the development of diagnostic technologies have highlighted the high prevalence of this parasitic zoonosis and its wide variety of pathological alterations in the canine host (Baneth et al., 2008; Solano-Gallego et al., 2009; Silva et al., 2022; WHO, 2024). Clinical presentation of canine leishmaniasis (CanL) caused by *Leishmania infantum* can range from subclinical infection to severe and terminal systemic disease (Barrouin-Melo et al., 2006; Gomes et al., 2008; Solano-Gallego et al., 2011; Koutinas & Koutinas, 2014; Meléndez-Lazo et al., 2018). Occurrence and intensity of clinical manifestations are determined by the balance between humoral and cellular responses of the dog to the parasite (Pinelli et al., 1994; Esch et al., 2013; Hosein et al., 2017; Toepp et al., 2019; 2020). Protective immunity, mediated by helper T lymphocytes via cytokines such as IFN- γ , IL-2, and TNF α , induces anti-*Leishmania* activity within macrophages (Koutinas & Koutinas, 2014; Tsouloufi et al., 2022). Susceptibility to infection and disease progression results from a predominant non-protective humoral immune response associated with inhibition of cell-mediated immunity, in a mixed Th1 and Th2 cytokine response (Pinelli et al., 1994; Esch et al., 2013; Hosein et al., 2017; Toepp et al., 2019; Toepp et al., 2020). Susceptible dogs develop CanL, which affects multiple systems, producing clinical manifestations on skin, eyes, or demeanor, compromising the renal, digestive, nervous, respiratory, musculoskeletal, and/or hemolymphatic systems' integrity and function, resulting in organic failure and death (Solano-Gallego et al., 2011; Sonoda et al., 2013; Koutinas & Koutinas, 2014; Tsouloufi et al., 2022; Silva et al., 2021).

Polyarthritis has been the most commonly described musculoskeletal alteration in CanL (Spreng, 1993; Agut et al., 2003; Silva et al., 2022; Sbrana et al., 2014). Previously reported joint pathological features include the involvement of multiple joints, synovitis, osteoarthritis,

osteophyte formation and periosteal reaction, and bone ankylosis (Agut et al., 2003; Souza-Filho et al., 2024). Orthopedic manifestations of these lesions include lameness, pain, enlargement of the joint area with edema, joint effusion, decreased mobility, and prostration (Buracco et al., 1997; Agut et al., 2003; Silva et al., 2022). However, arthritis may be the only clinical manifestation of CanL. Studies have proposed two possible pathophysiological pathways for arthropathy development in CanL; a type III hypersensitivity-linked inflammatory reaction resulting from the deposition of immune complexes in the joints' vascular structures and a granulomatous inflammatory reaction to the actual presence of *L. infantum* amastigotes in the joint (Spreng, 1993; Agut et al., 2003; Koutinas & Koutinas, 2014; Sbrana et al., 2014).

Image characterization of joint lesions in CanL in the literature is mainly based on simple radiographs, which show subchondral bone sclerosis, periarticular bone proliferations, osteophytes and enthesophytes, increased intra-articular radiopacity, decreased joint space, mineralization of adjacent soft tissues, formation of subchondral bone cysts, and decreased subchondral bone radiopacity (Agut et al., 2003; Silva et al., 2021). Comparative studies have demonstrated joint alterations on radiographic examination in around 67% of *L. infantum*-infected dogs (Silva et al., 2021; 2022), while computed tomography examination detected arthropathy in more than 90% of those dogs (Silva et al., 2022).

Joint ultrasonography, a low-cost, easily accessible, and quick-to-perform method, evaluates bone surface in multiple planes, allowing identification of joint conditions that are not detectable through radiographs (Gomes, 2019). Ultrasonography is validated and reliable for evaluating synovial changes in humans (Sellam & Berenbaum, 2010; D'Agostino et al., 2017) and dogs (Ramírez-Flores et al., 2017; Carreira et al., 2024). Synovitis causes most arthritis symptoms and plays a role in the progression of bone and cartilage changes (Sellam & Berenbaum, 2010; Scanzello & Goldring, 2012). In addition to being sensitive for detecting synovitis, ultrasonography can evaluate articular cartilage in humans (Cipolletta et al., 2025;

Okano et al., 2016) and dogs (Ramírez-Flores et al., 2017), which is not possible with radiography. Moreover, ultrasonography has greater sensitivity than radiography in identifying small osteophytes in humans (Mathiessen et al., 2013; 2017; Okano et al., 2016) and dogs (Gomes, 2019).

This work aimed to evaluate the effectiveness of joint assessment by ultrasound examination of dogs with CanL. Parameters obtained on radiographic and orthopedic examination and clinical staging scores were analyzed to appreciate the power of earlier and precise detection of locomotor alterations in the clinical disease caused by *L. infantum* in dogs.

2 Materials and methods

2.1 Animals and ethical aspects

This was a prospective cohort study and used non-probabilistic convenience samples. Dogs admitted to the Zoonotic Leishmaniasis Outpatient Clinic of the Teaching Hospital of Veterinary Medicine of the Federal University of Bahia were prospectively enrolled from February 2023 to January 2025. All dog owners received previous information on the study procedures and should formally consent to their dogs' enrolment by signing the Informed Consent Form.

The inclusion criteria determined that dogs should have naturally acquired infection by *L. infantum*, confirmed by direct parasitological examination of bone marrow smears on slides, and/or by detection of parasite DNA in splenic and/or bone marrow aspirates using the Polymerase Chain Reaction (PCR) method; and authorization from the owner for the collection of biological samples. Dogs with body weight less than 5 kg, pregnant, less than six months old, aggressive behavior that compromised safe handling, or tested positive for the hemoparasites *Ehrlichia canis* and/or *Babesia* sp., or whose owner did not sign the consent form on enrolment, were excluded from the study.

The study was conducted following the Ethical Principles of Animal Experimentation, as established by the National Council for the Control of Animal Experimentation, and approved by the Ethics Committee on the Use of Animals (CEUA) of the School of Veterinary Medicine and Animal Science of the Federal University of Bahia, under protocol no. 109/2023-CEUA.

2.2 Clinical examination and scoring of canine leishmaniasis severity

All dogs underwent clinical examination, which included medical history, general physical examination, and clinical pathology tests. Subsequently, a specific physical examination of the locomotor system assessed pain, joint crepitus, increased volume in soft tissues around the joint, and gait disturbances such as lameness. In addition, the drawer test, Ortolani maneuver, and tibial compression test were performed. Clinical pathology laboratory tests comprised a complete blood count and serum biochemistry to measure liver enzymes, creatinine, urea, total protein, albumin, globulins, urinalysis, and urine protein/creatinine ratio.

Synovial fluid aspiration, using a 25 x 0.70 mm hypodermic needle attached to a 10 mL syringe, was performed on dogs that had soft tissue swelling around joints and on those that eventually died. The collected material was smeared onto slides for microscopy. The slides were stained with the Rapid Panoptic kit (Renylab, Barbacena, Brazil). Areas with high cellularity were examined under a 100x objective to identify possible amastigote forms of *Leishmania* sp. Images of the slides were captured using an image capture system attached to the microscope (PrimeCam HD12pro, Prime Lifescience Corp., Boca Raton, USA).

A scoring system attributed points for clinical signs to determine the severity of CanL. The total of sum of points for each dogs characterized score as mild (score <16), moderate (score 16-30), and severe (>30) disease, as adapted from the literature (Ribeiro et al., 2021). **(Supplementary Table).**

2.3 Imaging studies

Ultrasound examinations included analysis of the tarsal joints of all dogs, regardless of clinical signs of orthopedic alterations. If a dog had signs of injury in other joints during the orthopedic physical examination, the altered joint or joints were also evaluated by ultrasonography. The same examiner (P.V.O.) performed the examinations using Logiq F6 or Logiq V2 equipment (GE Healthcare, Brazil), using an L6-12 linear transducer of up to 12 MHz over the shaved area and applying acoustic gel.

Ultrasound joint images were obtained in the transverse and sagittal planes, with the limb semiflexed and in a neutral position. Ultrasound alterations were assessed qualitatively and semi-quantitatively. The intensity of the lesions was graded in scores from 0 to 3 for the following alterations: synovial membrane thickening, presence of periarticular osteophytes, subchondral bone irregularity, edema in periarticular tissue, and joint effusion (Gomes, 2019). The menisci were evaluated and scored according to the following characteristics: (0) intact; (1) altered echogenicity and echotexture with preserved triangular shape; (2) actual lesion with morphology loss; (3) presence of fragments displaced to the intercondylar region associated with meniscus bucket-handle tears. Evaluation of the femorotibiopatellar (stifle) joint's cranial cruciate ligament (CCL) followed the scoring criteria: (0) intact; (1) presence of effusion only in the ligament insertion area, without fiber disruption; (2) partial rupture, with visualization of some continuous fibers during the dynamic examination; and (3) complete rupture, with total interruption of the fibers observed in the dynamic examination (Gomes, 2019).

Radiographic examinations were performed using a Konica Minolta, AltusDR fixed digital radiography equipment (Konica Minolta, Marunouchi, Chiyoda-ku, Tokyo, Japan). The radio-carpal (carpal), scapulohumeral, coxofemoral, stifle, and/or tibio-tarsal (tarsal) joints were evaluated in two orthogonal views. Radiographies were performed on the joints bilaterally in standardized positions (Silva et al., 2021). Any changes identified, including subchondral

bone sclerosis, periosteal reaction, presence of osteophytes and/or enthesophytes, bone ankylosis, bone lysis, evident trabecular pattern, joint effusion, increased soft tissue volume, and other findings, were recorded. A scoring system ranging from 0 to 3 was used to categorize the severity of the radiographic alterations in the joints and periarticular lesions.

2.4 Statistical analysis

Data were tabulated in Microsoft Excel spreadsheets. Descriptive analyses were performed, demonstrated by tables calculating absolute and relative frequencies (%) of orthopedic alterations observed on physical examination, ultrasound, and radiographic findings. Fisher's exact test was used for categorical variables to compare proportions between groups. Sensitivity, specificity, and 95% confidence intervals were calculated for clinical orthopedic signs compared to ultrasound or X-ray examinations. Furthermore, the Mann-Whitney and/or Kruskal-Wallis tests were applied to the presence or absence of clinical orthopedic signs versus ultrasound lesion score, and serum globulin levels, ultrasound lesion score, and CanL severity to assess group differences. Correlation between categorical variables was analyzed using Spearman's test. The significance level was $p<0.05$, with a 95% confidence interval. The statistical software GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, California, USA) was used for these analyses. The agreement between the imaging exams and the presence or absence of orthopedic alterations in the physical examination was determined by the Kappa index and interpreted according to that proposed by Landis and Koch (1977), which considers agreement as poor (<0.20), weak (0.21-0.40), moderate (0.41-0.60), good or substantial (0.61-0.80) and almost perfect (0.81-1.0).

3. Results

Forty-three dogs with CanL were included in the study. Most dogs were female (51.2%; 22/43), 1 to 7 years of age (67.4%; 29/43), and of a defined breed (65.1%; 28/43) (**Table 1**).

The orthopedic physical examination detected signs of joint alterations in 29 dogs (67.4%; 28/43), including joint pain (62%; 18/29), joint crepitus (20.6%; 6/29), lameness (31%; 9/29), and increased soft tissue volume around joints (6.8%; 2/29). Eleven dogs out of these 29 (37.9%; 11/29) had clinical locomotor changes in multiple joints, characterizing polyarthropathy, involving the tarsus, shoulder, hip, and/or the stifle.

Ultrasound examination detected joint lesions in 37 of the 43 studied dogs with CanL (86%; 37/43). There were ultrasonographic alterations in the tarsus, carpus, stifle, shoulder, and/or hip joints evaluated. All 37 dogs exhibited at least one type of alteration in the tarsal joints. The ultrasonographic alterations included the presence of osteophytes (83.8%; 31/37), contour irregularity (56.7%; 21/37), joint effusion (64.9%; 24/37), thickening of the joint capsule/synovium (56.7%; 21/37), edema in periarticular tissue (29.7%; 11/37), periosteal reaction (21.6%; 8/37) and bone lysis (5.4%; 2/37) (**Figure 1; Table 1**).

Among the 37 dogs with tarsal joint alterations diagnosed by ultrasonography, 26 (70.27%; 26/37) had also clinical signs of joint disease on physical examination, while 11 (29.73%; 11/37) had no orthopedic clinical alterations. The total tarsal lesion ultrasonographic score was significantly higher in dogs with clinical signs than those without orthopedic manifestations ($p = 0.0262$). Specifically, periarticular edema ultrasonographic scores were significantly higher in dogs with clinical signs when compared to dogs without orthopedic clinical signs ($p = 0.0463$). (**Table 2**)

The alterations detected by ultrasonography according to the assessed joint are described as follows. In the hip joint, there was joint capsule thickening (80%; 4/5), periarticular edema (60%; 4/5), irregular contour of the bone surface (40%; 2/5), joint effusion (40%; 2/5), osteophytes (40%; 2/5), coxofemoral dislocation (20%; 1/5) and periosteal reaction (20%; 1/5). In the carpal joint, there was an irregular contour of the bone surface (50%; 1/2), osteophytes (50%; 1/2), and periarticular edema (50%; 1/2). In the stifle, there was an irregular contour of

the bone surface (100%; 4/4); joint effusion (75%; 3/4); osteophytes (100%; 4/4); joint capsule thickening (25%; 1/4); ligament rupture (25%; 1/4) and periosteal reaction (25%; 1/4). Ultrasound evaluation of the shoulder joint was performed in only one dog, in which thickening of the joint capsule was identified. A significant correlation was found between the severity of lesions in the tarsal joints and the severity of changes identified in other joints in the 11 dogs evaluated ($r = 0.7746$; $p = 0.0044$) (**Figure 2**).

The dogs' owners authorized radiography for only 20 of the 43 studied CanL cases. The tarsal joints were radiographed in all 20 dogs, regardless of whether or not there were orthopedic clinical changes in this joint. Other joints were also radiographed if there were clinical orthopedic signs. Fifteen out of the 20 dogs (75%; 15/20) evaluated by radiography had clinical signs of joint disease in the physical examination, and 11 (55%; 11/20) presented radiographic alterations (**Figure 2**). Among these 11 dogs with radiographic findings, eight (72.7%; 8/11) had such findings in the tarsal joints, and three of them (37.5%; 3/8) had radiographic alterations also in other joints, such as the hip and/or stifle, characterizing polyarthropathy. The other three dogs with radiographic findings (27.3%; 3/11) only had hip and/or stifle alterations. No radiographic alterations were found in the remaining four dogs with clinical orthopedic signs (26.7%; 4/15). The five dogs without clinical orthopedic signs (25%; 5/20) also had no radiographic alteration.

Some dogs had more than one lesion type in the same joint, so the radiographic changes observed in the tarsal joints included: presence of osteophytes (75%; 6/8), increased periarticular soft tissue volume (62.5%; 5/8), periosteal reaction (37.5%; 3/8), increased evidence of bone trabeculae (25%; 2/8), bone lysis (12.5%; 1/8), and bone ankylosis (12.5%; 1/8).

In the hip joint, three dogs showed imaging of dysplasia, and one had joint dislocation in the left hind limb, with radiographic alterations including osteophytes (25%; 1/4), periosteal

reaction (25%; 1/4), and bone lysis (25%; 1/4). The radiography disclosed osteophytes in the stifles of two dogs (66.7%; 2/3), joint effusion in one (33.3%; 1/3), and periosteal reaction in another dog (33.3%; 1/3).

Of the 20 dogs evaluated by radiographic and ultrasound examinations of the tarsus, 19 (95%; 19/20) had some joint alteration visualized on ultrasound, while radiographic alterations were identified in only eight (42%, 8/19). The only animal in which the ultrasound did not identify any alteration also did not present radiographic alteration. Therefore, the discordance rate between the radiographic and ultrasound examinations was 55%.

Overall, the combined analysis of physical, ultrasound, and radiographic examinations revealed that 88.4% (38/43) of dogs diagnosed with CanL had joint-related alterations detectable by imaging methods. The findings indicated lesions of degenerative joint processes, suggestive of disease in the chronic phase, consistent with arthritis or polyarthritis with inflammatory characteristics.

Based on the clinical examination, a CanL severity score was assigned to the 43 dogs evaluated by ultrasonography. Among the 37 dogs with ultrasonographic alterations, eight (22.2%; 8/37) had mild CanL, 23 (62.1%; 23/37) moderate, and six (16.2%; 6/37) had severe disease. Among the six dogs without ultrasonographic alterations.

There was no significant difference between tarsal joint injury scores assessed by ultrasound and CanL severity in the present study. However, statistical analysis showed a trend toward higher ultrasonographic scores in moderate and severe forms of CanL ($p = 0.5952$). (**Table 3**).

Comparative analyses were performed between serum globulin levels and the severity of CanL and between the frequency of orthopedic changes observed on physical examination, ultrasound findings of the tarsal joints, and hyperglobulinemia. Dogs with mild forms of the disease had lower serum globulin levels than those with moderate CanL ($P < 0.05$). However,

no association was identified between the frequency of orthopedic clinical changes detected on physical examination or ultrasound and the occurrence of hyperglobulinemia (**Table 2**)

Synovial fluid was collected by puncture in two dogs that had increased soft tissue volume around the joint on physical examination. A third dog had terminal CanL and died during the study time, and a synovial fluid sample was obtained during the postmortem examination. In samples from these three dogs, amastigote forms of *Leishmania* sp. were identified on cytological analysis (**Fig. 3**).

Orthopedic physical examination had detected alterations involving the tarsal joints of all three dogs. One of these dogs had hip clinical alterations in addition to the tarsal alteration. All three dogs had joint lesions detected by ultrasound and radiographs, revealing imaging evidence of arthritis associated with a chronic inflammatory process.

4. Discussion

This study demonstrated joint changes in the vast majority – 88.4% – of the studied pet dogs with natural *L. infantum* infection attended at our teaching veterinary hospital, and examined by orthopedic physical examination, radiography, and/or joint ultrasound. As described in other publications, our findings confirm that CanL affects joints, causing arthritis and polyarthritis in dogs (Turrel & Pool, 1982; Buracco et al., 1997; Bevilacqua et al., 2002; Agut et al., 2003; Sbrana et al., 2014; Ribeiro et al., 2021; Drumond et al., 2021; Silva et al., 2021; Silva et al., 2022).

The group of dogs with CanL selected for the study showed a predominance of ages from one to 7 years and of females. Domestic dogs from endemic areas for CanL by *L. infantum* described in other studies conducted in Brazil had a similar profile (Silva et al., 2021; Silva et al., 2022). We also observed that most dogs with orthopedic clinical signs or abnormalities on imaging tests had a defined breed and medium size. This partially differs from the findings of another study in a similar endemic area, which reported a predominance of larger dogs among

those with joint lesions; however, most of them were of defined breeds (Sbrana et al., 2014). Therefore, regarding these demographics, the group of dogs studied here represented the general characteristics of pet dogs under similar conditions in the studied area.

In the present study, cytological examination of synovial fluid collected from some dogs with severe joint pain, lameness, impaired mobility, and enlargement evidenced *Leishmania* amastigote forms. This agrees with other studies that have also described the parasites' visualization in synovial fluid from arthrocentesis and post-euthanasia necropsy of dogs with CanL (Silva et al., 2022; Souza-Filho et al., 2024). Authors have attributed the development of arthropathies to the inflammatory response associated with the presence of *L. infantum* amastigotes within the joint (Buracco et al., 1997; Sbrana et al., 2014; Silva et al., 2021; Silva et al., 2022), or resulting from a type III hypersensitivity reaction associated with the deposition of immune complexes in the synovial microvasculature (Agut et al., 2003; Sbrana et al., 2014; Silva et al., 2022; Oliveira et al., 2024). We agree with these authors' pathophysiological propositions to explain the development of such severe arthropathies in CanL. Moreover, we hypothesize that inflammation resulting from the deposition of immune complexes may contribute to the attraction of macrophages carrying *Leishmania* to the articular site by chemotaxis due to chemokines. In this sense, a type III hypersensitivity reaction would precede the stage when the synovial fluid turn having *Leishmania* parasites within, meaning a more advanced stage of joint disease.

Indeed, the imaging tests used here, radiography and ultrasound, demonstrated several parameters that characterized joint inflammation of varying degrees of severity, culminating in irreversible degeneration of these anatomical structures. These findings, combined with the clinical orthopedic alterations exhibited by the studied dogs, illustrate the intense and progressive joint inflammation that developed in the CanL cases. Studies previously demonstrated diverse inflammatory parameters such intense inflammatory cell infiltrates and

synovial membrane thickening using histopathological methods to characterize joint disease in CanL (Buraco et al., 1997; Souza-Filho et al., 2024). Furthermore, other studies report the involvement of an inflammatory reaction to immune complex deposition in CanL-associated joint disease, disclosed by immunohistochemical methods (Parody et al., 2019; Tsouloufi et al., 2022; Oliveira et al., 2024).

The present study adopted a clinical approach, where the orthopedic physical examination determines the clinical presentation of arthropathies in CanL, followed by radiographic examinations. Radiography is still the most commonly used technique to confirm a clinical suspicion of joint injury in the veterinary clinical practice, as stated before (Turrel & Pool, 1982; Agut et al., 2003; Sbrana et al., 2014; Drumond et al., 2021). This clinical orthopedic diagnostic standard was compared using another tool, the joint ultrasound, to determine the occurrence and severity of arthropathies in CanL. In this context, we examined not only dogs that presented any clinical sign of orthopedic alterations, but also all dogs positive for *L. infantum* that attended within 18 months of the study. Other studies also applied the orthopedic physical examination and imaging tests to demonstrate joint changes in CanL (Silva et al., 2021, 2022), and found similar results.

We emphasize that our finding of an 86% joint disease prevalence was obtained using only joint ultrasonography. Previous studies described comparable prevalences of 91.3% and 83.1%, using other methods such as postmortem examinations and the more sophisticated computed tomography (Silva et al., 2021; Silva et al., 2022). In these contexts, the more accurate and sensitive diagnostic technologies currently available allowed obtaining higher prevalence data than those from older studies, which naturally used less precise diagnostic tools, and this does not necessarily mean a change in the natural history of the disease. Indeed, older studies on CanL reported lower prevalences of joint involvement, such as 57.7% in Spain (Turrel & Pool, 1982) or 30% in the United States (Agut et al., 2003). Nevertheless,

complementary diagnosis using multiple techniques also tends to increase prevalence rates (Silva et al., 2021, 2022). Taken together, such data further emphasize the applicability of joint ultrasonography, as our results show, in the early diagnosis of joint disease in CanL and even in the absence of orthopedic clinical signs.

The results of this study also showed that ultrasonography detected a higher prevalence (61.1%) of joint lesions in moderate stages of the disease, compared to that in mild (19%) and severe (19%) stages. In dogs with mild CanL, we attribute the lower prevalence findings to the still incipient or already controlled clinical condition. Concerning the severe or terminal cases, some individuals might be less susceptible to specifically developing joint disease, even if other systems are severely compromised, only one dog classified as severe was not identified by ultrasonography. Likewise, our findings of joint disease prevalence according to CanL stage are similar to those reported elsewhere (Solano-Gallego et al., 2011; Tsouloufi et al., 2022). Moreover, the trend we observed toward higher tarsal joint ultrasound lesion scores found in moderate to severe CanL demonstrates the importance of early diagnosis enabled by joint ultrasound. However, our number of studied dogs was small. Further clinical studies applying joint ultrasonography on higher numbers of CanL cases, will possibly verify that the severity of joint lesions might statistically correspond to the disease's severity. We also emphasize that joint ultrasound is an easily accessible, non-invasive technique that poses no radiation risks to the operator, the animal, or its owner (Gomes & Hagen, 2019). It also does not require sedation and is not routinely polluting the environment.

Ultrasonography allowed the finding of joint lesions even in dogs with subclinical infection or having other signs of CanL but without orthopedic alterations on clinical examination. Around one-third of the dogs with joint lesions on ultrasound showed no clinical orthopedic alterations. Moreover, ultrasonography detected joint lesions in many dogs that did not have joint lesions detected on radiography. Since radiography identifies changes in more

advanced joint disease, when dogs already exhibit changes detectable by the owner or the veterinarian during physical examination, such observations make sense. Among the radiographic findings, the main alterations were more severe, such as osteophytes, periosteal reaction, and bone sclerosis. Likewise, other studies listed the central lesions found on radiographic examination of dogs with CanL as trabecular lesions, bone sclerosis, and osteolysis (Silva et al., 2021; 2022). Therefore, our data corroborates these authors' previous findings and confirms that joint lesions become detectable on radiography only when advanced.

Joint ultrasound identified alterations such as more discrete osteophytes, joint effusion, joint capsule thickening, contour irregularity, and periarticular tissue edema. Osteophytes, relevant in establishing a diagnosis among the findings on joint USG, are considered early markers of joint disease in humans (Van Der Kraan; Van Den Berg, 2007; Okano et al., 2016). This reinforce the applicability of ultrasonography in detecting early joint lesions, even before they cause clinical impact in the dog, such as pain and lameness, as it recognizes discrete lesions as a source of relevant information. Other authors also concluded that joint ultrasound examination was superior in identifying early changes compared to radiographic examination in animals with other conditions (Gomes & Hagen, 2019).

Ultrasound diagnostic revealed that, once present, alterations in more than one joint predominated over single-joint arthropathy, characterizing polyarthritis in the studied dogs. Moreover, there was a higher incidence of ultrasonographic lesions in the tarsal joint, followed by the **stifles** and the hips. Polyarthritis have been previously described in other studies on CanL caused by *L. infantum*, although they report a predominance of lesions in the carpal joint (Sbrana et al., 2014; Silva et al., 2021). Taken together, either the present or the literature's findings of polyarthritis' high prevalence characterize the systemic nature of CanL.

As this was a clinical study involving canine patients at a teaching veterinary hospital, we found it relevant that ultrasound could be performed on all dogs included in the study throughout the analysis period. In contrast, radiographic evaluation was feasible in only a smaller proportion of 46.5% (20/43) of the dogs, due to the time required to perform and consequently schedule the radiographic examinations, in addition to the financial constraints of the owners. Regarding the dogs already presenting clinical signs of joint pain, lameness, and limited joint movement, there was naturally a restriction on limb extension for radiographic positioning in some cases. This observation is consistent with clinicians' concerns regarding the well-being of animals that often experience intense pain in cases of polyarthritis (Turrel & Pool, 1982; Agut et al., 2003). These cases exemplify the need for sedation, which increases diagnostic time during radiographic examination and can be another iatrogenic risk factor, in addition to radiation. Furthermore, dogs that had expressed pain during positioning for radiography showed a greater tolerance to joint ultrasound examination. Indeed, ultrasonography allows technique adjustments by performing slow movements and adapting the transducer's position (viewing window), thus avoiding forced positioning, which makes the evaluation less painful or uncomfortable for the animal patients.

This is the first study to compare the ultrasonographic technique in dogs with arthropathy associated with CanL, with radiography, the conventional and classic method of auxiliary imaging examination for screening based on a complaint from the guardian and/or the orthopedic examination of dogs. Our study adds to several other studies that have demonstrated evidence of the applicability of ultrasonography in the diagnosis of joint disease, not only due to CanL (Abako et al., 2021; CAINE et al., 2009; Kramer et al., 1999; Naredo et al., 2009; Okano et al., 2016; Tobolska et al., 2020; Toijala et al., 2021). A weakness of this study is the small number of examined dogs. However, it was possible to verify that joint ultrasound was highly sensitive in detecting discrete changes in joint soft tissues. It also allowed for a detailed

evaluation of less dense structures such as menisci, tendons, and ligaments. Such diagnostic capability showed to be particularly relevant in CanL, whose inflammatory joint manifestations do not initially generate bone changes. Thus, ultrasonography helped to propose that the prevalence of arthropathies may be much higher than that reported in the literature, validating its applicability for CanL diagnosis.

5. Conclusion

Based on the findings of this study, articular lesions appear to be common in CanL. Joint ultrasonography proved superior to physical examination for detecting articular alterations. It underscores its value as a complementary diagnostic tool in dogs positive for *L. infantum*, even when orthopedic physical examination findings are unremarkable. Furthermore, leishmaniasis should be considered in the differential diagnosis of osteoarthritis and other osteoarticular disorders.

Referências Bibliográficas

- Agut, A., Martínez, M.L., Sánchez, J., Soler, M., Lucas, X., 2003. Clinical and radiographic study of bone and joint lesions in 26 dogs with leishmaniasis. *Vet. Rec.* 153, 648–652.
- Abako, J., Sorensen, T., Flaherty, H., Gutierrez-Quintana, R., 2021. Usefulness of imaging techniques in the diagnosis of selected injuries and lesions of the canine tarsus: A review. *Animals* 11, 1592. <https://doi.org/10.3390/ani11061592>
- Abbiati, T.C., Pereira, L.P., Domingues, M.C., Peron, D.A., 2019. Leishmaniose visceral canina: relato de caso. *Pubvet* 13, 1–8. <https://doi.org/10.31533/pubvet.v13n04a325.1-8>
- Arnault, F., Viateau, V., Grimard, G., Thibaud, J.-L., Goin, J., Gauthier, O., 2009. Diagnostic value of ultrasonography to assess stifle lesions in dogs after cranial cruciate ligament rupture: 13 cases. *Vet. Comp. Orthop. Traumatol.* 22, 479–485.
- 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.
- Barrouin-Melo, S.M., Larangeira, D.F., Tresoldi, A.T., Souza, T.M., Pontes-de-Carvalho, L.C., dos-Santos, W.L.C., 2006. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis? *Vet. J.* 171, 331–339.
- Bevilacqua, P.D., Oliveira, R.M., Pereira, E.F., 2002. Envolvimento articular em cães com leishmaniose visceral na região de Araçatuba – SP. *Arg. Inst. Biol.* 69, 43–47.
- Brasil, Ministério da Saúde, 2014. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília.
- Buracco, P., Martano, M., Morello, E., Ratto, A., 1997. Osteomyelitis and arthrosynovitis associated with Leishmania donovani infection in a dog. *J. Small Anim. Pract.* 38, 169–172.
- Caine, A.R., Schwarz, P.D., Smeak, D.D., 2009. Sonography of the soft tissue structures of the canine tarsus. *Vet. Radiol. Ultrasound* 50, 304–308.
- Carreira, L.M., Alves, J., Inacio, F., Pires, G., Azevedo, P., 2024. Sex differences in serum and synovial fluid C-reactive protein concentration in healthy dogs. *Vet. Res. Commun.* 48, 2731–2741. <https://doi.org/10.1007/s11259-024-10386-0>.
- Carrig, C.B., Morgan, J.P., 2003. Diagnostic imaging of osteoarthritis. *Vet. Clin. North Am. Small Anim. Pract.* 33, 167–180.
- Cipolletta, E., Smerilli, G., Mirza Mashadi, R., Mandl, P., Filippucci, E., 2025. Is thickened hyaline cartilage on ultrasound a sign of osteoarthritis? A within-person, between-joint pilot study. *BMC Rheumatol.* 9. <https://doi.org/10.1186/s41927-025-00473-3>.

- D'Agostino, M.-A., Terslev, L., Aegerter, P., Backhaus, M., Balint, P., Bruyn, G.A., Filippucci, E., Grassi, W., Iagnocco, A., Jousse-Joulin, S., Kane, D., Naredo, E., Schmidt, W., Szkudlarek, M., Conaghan, P.G., Wakefield, R.J., 2017. Scoring ultrasound synovitis in rheumatoid arthritis: a EULAR-OMERACT ultrasound taskforce-Part 1: definition and development of a standardised, consensus-based scoring system. *Rheum. Musculoskelet. Dis. Open* 3, e000428. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2016-000428>.
- Drumond, J.P., Uno, J.T.D., Xavier, V.F., 2021. Avaliação radiográfica de osteoartrite erosiva parasitária por *Leishmania* sp. em Spitz Alemão – relato de caso. *Sinapse Múltipla* 10, 31–33.
- Esch, K.J., Juelsgaard, R., Martinez, P.A., Jones, D.E., Petersen, C.A., 2013. Programmed death 1-mediated T cell exhaustion during visceral leishmaniasis. *J. Immunol.* 191, 5542–5550.
- Feitosa, M.M., Ikeda, F.A., Luvizotto, M.C.R., Perri, S.H.V., 2000. Aspectos clínicos da leishmaniose visceral canina: 100 casos. *Vet. Zootec.* 7, 35–40.
- Gomes, L.F.F., 2019. *Avaliação ultrassonográfica de cães grandes e pequenos com afecções da articulação femorotibiopatelar*. Tese [Doutorado em Clínica Cirúrgica Veterinária] – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Gomes, Y.M., Paiva-Cavalcanti, M., Lessa, M.M., Pereira, V.R.A., 2008. Diagnosis of canine visceral leishmaniasis: biotechnological advances. *Vet. J.* 175, 45–52.
- Gomes, L.F.F., Hagen, S.C.F., 2019. Diagnóstico ultrassonográfico das afecções articulares em cães: revisão. *Clin. Vet.* 24, 54–65.
- Hosein, S., Blake, D.P., Solano-Gallego, L., 2017. Insights on adaptive and innate immunity in canine leishmaniosis. *Parasitology* 144, 95–115.
- Jacques, D., Cauzinille, L., Bouvy, B., Dupre, G., 2002. A retrospective study of 40 dogs with polyarthritis. *Vet. Surg.* 31, 428–434. <https://doi.org/10.1053/jvet.2002.34665>
- Koutinas, A.F., Koutinas, C.K., 2014. Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Vet. Pathol.* 51, 527–538.
- Kramer, M., Gerwing, M., Schimke, E., Sheppard, C., 1999. Sonography of the canine stifle. *Vet. Radiol. Ultrasound* 40, 282–293.
- Landis, J.R., Koch, G.G., 1977. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* 33(1), 159–174.
- McConkey, S.E., López, A., Shaw, D., Calder, J., 2002. Leishmanial polyarthritis in a dog. *Can. Vet. J.* 43, 607–609.
- Mathiessen, A., Haugen, I.K., Slatkowsky-Christensen, B., Bøyesen, P., Kvien, T.K., Hammer, H.B., 2013. Ultrasonographic assessment of osteophytes in 127 patients with hand osteoarthritis: Exploring reliability and associations with MRI, radiographs and clinical

joint findings. *Ann. Rheum. Dis.* 72, 51–56. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-201195>

Mathiessen, A., Conaghan, P.G., D'Agostino, M.A., Boesen, M., Huetting, L.K., Ejbjerg, B.J., et al., 2017. Ultrasound-detected osteophytes predict the development of radiographic and clinical features of hand osteoarthritis in the same finger joints 5 years later. *RMD Open* 3, e000394. <https://doi.org/10.1136/rmdopen-2016-000394>

Meléndez-Lazo, A., Ordeix, L., Planas, M., Pastor, J., Solano-Gallego, L., 2018. Clinicopathological findings in sick dogs naturally infected with *Leishmania infantum*: Comparison of five different clinical classification systems. *Res. Vet. Sci.* 117, 18–27.

Morales-Yuste, M., Martín-Sánchez, J., Corpas-López, V., 2022. Canine leishmaniasis: Update on epidemiology, diagnosis, treatment, and prevention. *Vet. Sci.* 9, 404. <https://doi.org/10.3390/vetsci9080404>

Naredo, E., Möller, I., Moragues, C., de Agustín, J.J., Scheel, A.K., Grassi, W., et al., 2009. Ultrasound validity in the measurement of knee cartilage thickness. *Ann. Rheum. Dis.* 68, 1322–1327.

Okano, T., Murakami, M., Okabe, Y., et al., 2016. Ultrasonographic evaluation of joint damage in knee osteoarthritis: feature-specific comparisons with conventional radiography. *Rheumatology (Oxford)* 55, 2040–2049.

Parody, N., Millán, J., Galvez, R., et al., 2019. Circulating immune complexes levels correlate with the progression of canine leishmaniosis in naturally infected dogs. *Vet. Parasitol.* 274, 109004.

Pinelli, E., Killick-Kendrick, R., Wagenaar, J., et al., 1994. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect. Immun.* 62, 229–235.

Ramírez-Flores, G.I., Del Angel-Caraza, J., Quijano-Hernández, I.A., Hulse, D.A., Beale, B.S., Victoria-Mora, J.M., 2017. Correlation between osteoarthritic changes in the stifle joint in dogs and the results of orthopedic, radiographic, ultrasonographic and arthroscopic examinations. *Vet. Res. Commun.* 41, 129–137. <https://doi.org/10.1007/s11259-017-9680-2>

Reed, A.L., Payne, J.T., Constantinescu, G.M., 1995. Ultrasonographic anatomy of the normal canine stifle. *Vet. Radiol. Ultrasound* 36, 315–321.

Ribeiro, T.M., Silva, D.F., Teixeira, A.C., et al., 2021. Isolamento de *Leishmania* (*Leishmania*) infantum chagasi em cão com poliartrite. *Enciclop. Biosfera* 18(37). https://doi.org/10.18677/EnciBio_2021A56

Sbrana, S., Marchetti, V., Guglielmini, C., et al., 2014. Retrospective study of 14 cases of canine arthritis secondary to *Leishmania* infection. *J. Small Anim. Pract.* 55, 309–313.

- Scanzello, C.R., Goldring, S.R., 2012. The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone* 51, 249–257. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2012.02.012>
- Sellam, J., Berenbaum, F., 2010. The role of synovitis in pathophysiology and clinical symptoms of osteoarthritis. *Nat. Rev. Rheumatol.* 6, 625–635. <https://doi.org/10.1038/nrrheum.2010.159>
- Silva, A.R.S., Bicalho, K.A., Castro, J.B., et al., 2021. Joint involvement in canine visceral leishmaniasis: Orthopedic physical examination, radiographic and computed tomographic findings. *Vet. Parasitol.* 299, 109563.
- Silva, A.R.S., Castro, J.B., Ribeiro, V.M., et al., 2022. Synovial fluid and radiographic evaluation of joints from dogs with visceral leishmaniasis. *Parasites Vectors* 15, 460.
- Silva, M.N.G. da, Pereira, D.T.P., Mistieri, M.L. de A., Lubeck, I., 2014. Parasitological analysis of synovial fluid from dogs naturally infected with *Leishmania* sp. *Ciência Rural* 44, 1236–1239. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20130965>.
- Solano-Gallego, L., Koutinas, A., Miró, G., et al., 2009. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Vet. Parasitol.* 165, 1–18.
- Solano-Gallego, L., Miró, G., Koutinas, A., et al., 2011. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasites Vectors* 4, 86.
- Souza-Filho, F.C., Martins, C.S., Ferreira, T.C., Carvalho-Sombra, T.C.F., Lopes-Neto, B.E., Ferreira, T.M.V., Girão, V.C.C., Nunes-Pinheiro, D.C.S., 2024. Expression of TLR2, FOXP3, and COX2 in the synovial membrane of dogs with canine leishmaniasis-induced arthritis. *Pesquisa Veterinária Brasileira* 44, e07412. <https://doi.org/10.1590/1678-5150-PVB-7412>.
- Spreng, D., 1993. Leishmania polyarthritis in two dogs. *J. Small Anim. Pract.* 34, 559–563.
- Tobolska, A., Adamiak, Z., Głodek, J., 2020. Clinical applications of imaging modalities of the carpal joint in dogs. *J. Vet. Res.* 64, 169–174.
- Toepp, A.J., Newkirk, M.E., Lappin, M.R., et al., 2019. Comorbid infections induce progression of visceral leishmaniasis. *Parasites Vectors* 12, 123.
- Toepp, A.J., Petersen, C.A., 2020. The balancing act: Immunology of leishmaniosis. *Res. Vet. Sci.* 130, 19–25.
- Toijala, T.M., Canapp, D.A., Canapp, S.O., 2021. Ultrasonography findings in the proximal sciatic nerve. *Front. Vet. Sci.* 8, 699097.
- Tsouloufi, T.K., Pscharis, M.I., Kritsepi-Konstantinou, M., et al., 2022. Prevalence of antinuclear antibodies and rheumatoid factor titers in dogs. *J. Vet. Diagn. Invest.* 34, 699–702.

- Turrel, J.M., Pool, R.R., 1982. Bone lesions in four dogs with visceral leishmaniasis. *Vet. Radiol.* 23, 243–249.
- van der Kraan, P.M., van den Berg, W.B., 2007. Osteophytes: relevance and biology. *Osteoarthr. Cartil.* 15, 237–244.
- van der Vekens, E., Gielen, I., Van Ryssen, B., et al., 2019. High-frequency ultrasound as a reliable tool for the evaluation of canine biceps tendon injury: a preliminary study. *BMC Vet. Res.* 15, 167.
- World Health Organization (WHO), 2024. Leishmaniasis. Available at: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis> [Accessed 27 Apr. 2024].

Table 1. Ultrasonographic frequency and scoring of tarsal joint lesions in 37 dogs with canine leishmaniasis, with or without orthopedic abnormalities on physical examination

| Lesion type | with US | with orthopedic | without orthopedic |
|---------------------------------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|
| | abnormalities (n=37) | abnormalities (n=26) % | abnormalities (n=11) % |
| | % % | | |
| Osteophyte | 83,8% (31/37) | 84,6% (22/26) | 81,8% (9/11) |
| Joint effusion | 64,9% (24/37) | 73,1% (19/26) | 45,4% (5/11) |
| Joint capsule thickening | 56,8% (21/37) | 65,4% (17/26) | 36,4% (4/11) |
| Irregular bone surface contour | 56,7% (21/37) | 53,8% (4/26) | 63,6% (7/11) |
| Periarticular soft tissue edema | 29,7% (11/37) | 38,5% (10/26) | 9,1% (1/11) |
| Periosteal reaction | 21,6% (8/37) | 23,1% (6/26) | 18,2% (2/11) |
| Bone lysis | 5,4% (2/37) | 3,8% (1/26) | 9,1% (1/11) |
| Score US | | | |
| total | | 5,5(3,7-10)* | 2 (2-8) |

Table 2. General characteristics of the 43 dogs diagnosed with canine leishmaniasis, described according to the presence or absence of orthopedic, ultrasonographic, and polyarthropathy findings

| Variables | Total number of dogs | Dogs with orthopedic abnormalities on physical examination | Dogs without orthopedic findings on physical examination | With ultrasonographic abnormalities | Without ultrasonographic abnormalities | Ultrasonographic arthropathy | Single Polyarthropathies N= 34 |
|---------------------|----------------------|--|--|-------------------------------------|--|------------------------------|--------------------------------------|
| | | N=43 | N=29 | N= 14 | N = 37 | N = 6 | |
| Sex | | | | | | | |
| Female | 51,2% (22/43) | 41,4% (12/43) | 71,4% (10/14) | 48,64% (18/37) | 66% (4/6) | 66% (2/3) | 52% (18/34) |
| Male | 48,8% (21/43) | 58,6% (17/43) | 28,6% (4/14) | 51,3% (19/37) | 33% (2/6) | 33% (1/3) | 55,8% (19/34) |
| Breed | | | | | | | |
| Mixed breed | | | | | | | |
| (MB) | 34,9% (15/43) | 31% (9/29) | 42,8% (6/14) | 32,4 % (12/37) | 50% (3/6) | 33% (1/3) | 35% (12/34) |
| Age | 65,1% (28/43) | 69% (20/29) | 57,2% (8/14) | 67,5 % (25/37) | 50% (3/6) | 66% (2/3) | 64,7 % (22/34) |
| Age | | | | | | | |
| Young (6–11 months) | 7% (3/43) | 6,9% (2/29) | 7,1% (1/14) | 5,4% (2/37) | 16% (1/6) | 100% (3/3) | 2,94% (1/34) |
| Adult (1–7 years) | 67,4% (29/43) | 62,1% (18/29) | 78,6% (11/14) | 75,6% (28/37) | 50% (3/6) | 0 | 76,4% (26/34) |
| Senior (>7 years) | 25,6% (11/43) | 31% (9/29) | 14,3% (2/14) | 24,3% (9/37) | 33% (2/6) | 0 | 29,4% (10/34) |
| RX + | 55% (11/20) | 34,4% (10/29) | 7,1% (1/14) | 21,6% (8/37) | 0 | 0 | 47,3% (9/19) |

| | | | | | | | |
|-------------------|---------------|---------------|---------------|----------------|-------------|-----------|----------------|
| RX - | 45% 9/20 | 27,5% (8/29) | 28,5% (4/14) | 29,7% (11/37) | 16% (1/6) | 100% 1/1 | 52,6 % (10/19) |
| LCan score | | | | | | | |
| Mild | 21,7% (10/43) | 31% (9/29) | 7,1% (1/14) | 75% (6/8) | 33% (2/6) | 66% (2/3) | 20,5% (7/34) |
| Moderate | 62,7% (27/43) | 55% (16/29) | 78,5% (11/14) | 86,9% (20/23) | 50% (3/6) | 0 | 64,7% (22/34) |
| Severe | 13,95% (6/43) | 13,7% (4/29) | 14,28% (2/14) | 100% (6/6) | 16,6% (1/6) | 33% (1/3) | 14,7% (5/34) |
| Hyperglobuli | | | | | | | |
| nemia | 79% (34/43) | 72,4% (21/29) | 92,8% (13/14) | 78,37% (29/37) | 83% (5/6) | 33% (1/3) | 82,35% (28/34) |

*median (25–75 percentiles). $P < 0.05$, Mann–Whitney test.

* orthopedic findings : Sex ($p = 0.0647$); Breed ($p = 0.4459$); Age ($p = 0.4923$); Radiography ($p = 0.1591$); LCan score ($p = 0.2078$); Hyperglobulinemia ($p = 0.1226$).

* ultrasonographic abnormalities: Sex ($p = 0.4128$); Breed ($p = 0.4023$); Age ($p = 0.4447$); Radiography ($p = 0.4022$); LCan score ($p = 0.7215$); Hyperglobulinemia ($p = 0.7820$).

*Single or Polyarthropathies : Sex ($p = 0.5483$); Breed ($p = 0.9456$); Age ($p < 0.001$); Radiography ($p = 0.3534$); LCan score ($p = 0.0847$); Hyperglobulinemia ($p = 0.0480$).

Table 3. Comparison between findings of joint lesions in ultrasonographic or radiographic imaging of the tarsus in dogs with canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum* with or without clinical orthopedic changes detected on physical examination

| | | Findings in the orthopedic examination of the tarsal joint | | |
|---|-------|--|----|-------|
| | | Yes | No | Total |
| Sonographic findings in tarsal joint assessment (N=43) | Yes | 26 | 11 | 37 |
| Kappa Coefficient = (0.130) | Total | 29 | 14 | 43 |
| Radiographic findings in tarsal joint assessment (N=20) | Yes | 10 | 1 | 11 |
| Kappa Coefficient = (0.368) | Total | 15 | 5 | 20 |
| Sonographic findings in tarsal joint assessment (N=20) | | | | |
| | | Yes | No | Total |
| Radiographic findings in tarsal joint assessment (N=20) | Yes | 8 | 0 | 8 |
| Kappa Coefficient = (0,068) | Total | 19 | 1 | 20 |

Supplementary Table

| | Parameters | Scores |
|--------------------------------|--|--|
| Clinical examination findings | Alopecia | (focal 1/ disseminated 2) |
| | Flaking | (focal 1, disseminated 2) |
| | Hyperkeratosis | (focal 1/ disseminated 2) |
| | Nodules | (focal 1/ Multiple 2/ disseminated 3) |
| | Ulcer | (focal 1/ Multiple 2/ disseminated 3) |
| | Cutaneous vasculitis | (focal 2/ Multiple 3) |
| | Onychogryphosis | present 2 |
| | Pruritus | (Mild 1/ severe 2) |
| | Attitude | (lethargic 1 / apathetic 2 / prostrate 3) |
| | Weight loss | (Mild 1/ moderate 2 / cachexia 3) |
| | Pain with vocalization | (present 3) |
| | Mucous membranes | (pale 2 / icteric 3) |
| | Lymphadenomegaly | (one lymph node: 1 / two or more: 2) |
| | Epistaxis | present 2 |
| | Splenomegaly | present 2 |
| | Gastrointestinal alterations | (inappetence 1 / diarrhea or vomiting 2) blood in the stool 3) |
| | Ocular and periocular signs | (blepharitis 1 / conjunctivitis 2 / uveitis) 3) |
| | Orthopedic signs | (lameness 2 / polyarthropathy 3) |
| Clinical pathology alterations | Anemia | (Mild to moderate 2/ severe 3) |
| | Thrombocytopenia | (Mild 2/ moderate to severe 3) |
| | Leukocytes | ((leukocytosis 1 / leukopenia 2 / lymphopenia 3) |
| | Elevated liver enzymes – ALT, ALP, GGT | (Mild 2/ moderate to severe 3) |
| | Hyperglobulinemia | (Mild 1/ moderate 2/ severe 3) |
| | Hypoalbuminemia | (Mild 2/ severe 3) |
| | Increased creatinine | (Mild 2/ moderate to severe 3) |
| | Increased urea | (Mild 1/ moderate 2/a severe 3) |
| | Urinalysis | Uroliths (2) / increased UPC 3) |

Figure

Figure 1. Ultrasonographic and radiographic images of joints in dogs positive for *Leishmania* sp. (a, b) Ultrasonography of the tarsal joint showing joint effusion (asterisk) and thickening of the joint capsule/synovial membrane (double arrow). (c, d) Radiographs of the tarsus in dorsoplantar and mediolateral views demonstrating increased periarticular soft tissue volume. (e, f) Ultrasonography of the femorotibiopatellar joint revealing bone surface irregularities on the tibial articular surface and associated joint effusion (white arrow). (g, h) Radiographs of the same joint in craniocaudal and mediolateral views showing increased soft tissue volume.

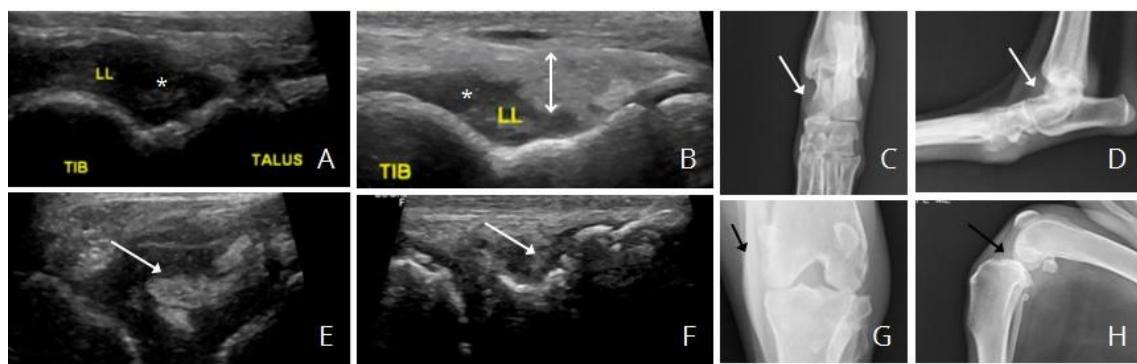


Figure 2. Ultrasonographic and radiographic images of the left tarsal joint in a dog positive for *Leishmania* sp. by PCR (Bernese Mountain Dog, 2 years old). (a) Mediolateral radiographic view showing increased soft tissue volume (white arrow); (b-d) Ultrasonographic images demonstrating joint effusion (asterisk) and thickening of the joint capsule/synovial membrane (double arrow and White arrow).

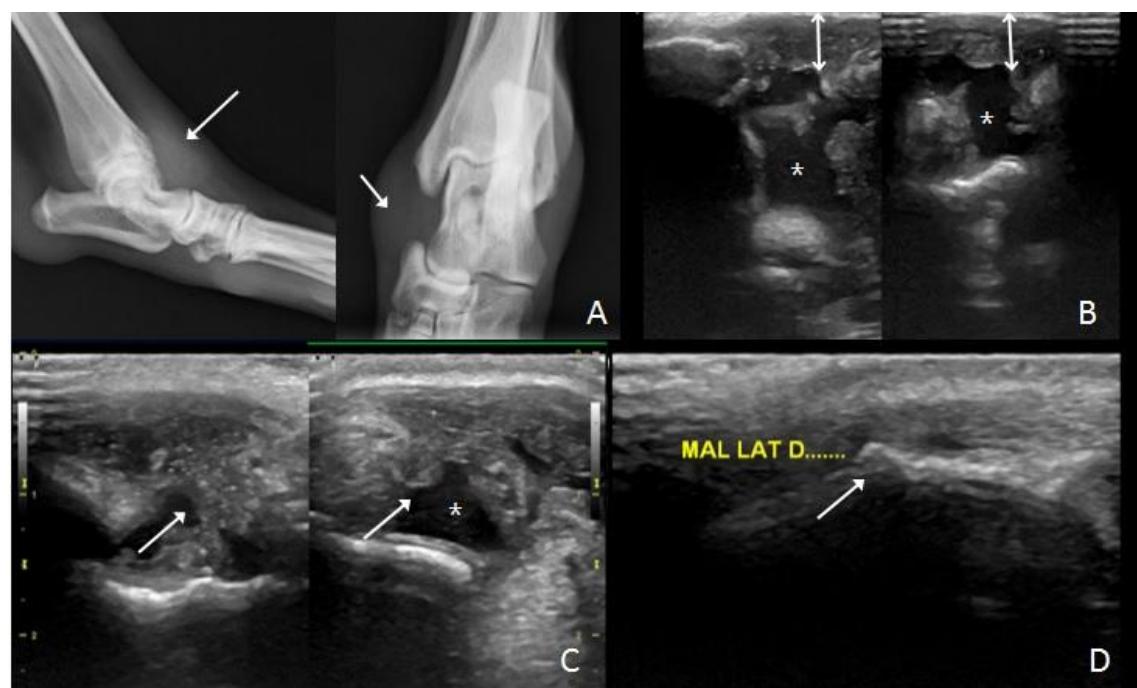


Figure 3 Visualization of a macrophage with amastigote forms of *Leishmania* sp. in cytological preparations of synovial fluid. Objective 100×.

