

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**REPERCUSSÕES OCULARES E PERIOCULARES DA LEISHMANIOSE  
VISCERAL EM CÃES**

Elaborado por: Marcelle Bettio

**Porto Alegre**

**2017**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE VETERINÁRIA**

**REPERCUSSÕES OCULARES E PERIOCULARES DA LEISHMANIOSE  
VISCERAL EM CÃES**

**Autor: Marcelle Bettio**

**Trabalho apresentado à Faculdade de  
Veterinária como requisito parcial  
para a obtenção da graduação em  
Medicina Veterinária**

**Orientador: João Antonio Tadeu  
Pigatto**

**Porto Alegre  
2017**

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço especialmente a minha mãe, Neida Bettio, pelo apoio incondicional em todos os momentos da minha vida. Nunca me deixou desistir e sempre acreditou que eu era capaz, até quando nem eu mesma acreditava. Que cumpriu seu papel de mãe e pai plenamente, sendo um exemplo de mulher batalhadora para mim.

À minha irmã, Francielle, por sempre torcer pelas minhas conquistas, pela paciência e por entender a minha ausência de irmã devido a toda correria do cotidiano.

Ao meu namorado, por acreditar em mim, pelos conselhos e por todos os finais de semana que ficou ao meu lado para que pudesse me dedicar aos estudos.

Agradeço aos meus colegas, Laís, João e Luciana, que estiveram comigo desde o início e foram fundamentais nessa conquista.

Ao meu orientador, João Antonio Tadeu Pigatto, que me possibilitou e incentivou a “quebrar a casca do ovo” e enxergar muito além do que eu via, pelo bom-humor e por acreditar no meu potencial.

## RESUMO

A leishmaniose visceral canina é considerada um problema de saúde pública por ser uma zoonose, e potencialmente fatal se não tratada. É causada pelo protozoário intracelular do gênero *Leishmania*, e os principais reservatórios são os cães domésticos. A transmissão da doença ocorre pela inoculação do agente no hospedeiro através do inseto hematófago. As manifestações clínicas são variadas, e as repercussões oculares são frequentes em cães infectados, podendo cursar, em alguns casos, de modo isolado ou associado a outras alterações sistêmicas. Blefarite, uveíte anterior e conjuntivite são os sinais oculares comumente relatados; porém, alterações menos frequentes como coriorretinite, descolamento de retina, celulite orbitária, glaucoma e catarata também podem ocorrer. O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral canina é difícil devido à diversidade de sinais. Com isso, sorologia, exames parasitológicos e moleculares são necessários para confirmação diagnóstica. Objetivava-se realizar uma revisão bibliográfica sobre a leishmaniose visceral em cães e abordar os principais aspectos relacionados às repercussões oculares e perioculares ocasionadas por essa afecção. Com base no que foi pesquisado, é possível concluir que esta doença apresenta lesões oculares importantes em animais infectados. Por esse motivo, principalmente em áreas endêmicas, cães com manifestações oculares e perioculares características do segmento anterior do globo ocular e de lesões nos anexos oculares devem ser submetidos à exame oftálmico completo para diagnóstico diferencial de leishmaniose visceral canina.

**Palavras-chave:** cães, leishmaniose visceral canina, uveíte, conjuntivite, blefarite

## ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis is considered a public health problem since it is a zoonosis, and potentially deadly if left untreated. It is caused by the intracellular protozoan of the genus *Leishmania*, and domestic dogs are its main reservoir. Transmission occurs by inoculation of the agent into the host through hematophagous insect vectors. Clinical manifestations are varied, and ocular repercussions are frequent in infected dogs, whether isolated or accompanying systemic diseases in some cases. Although the most commonly reported signs are blepharitis, anterior uveitis and conjunctivitis, other and less frequent alterations such as chorioretinitis, retinal detachment, orbital cellulitis, glaucoma and cataract may also occur. Clinical diagnosis of canine visceral leishmaniasis is difficult due to the varied presentations. Therefore, serology, parasitological and molecular exams are necessary for confirmation. This study aims to do a literature review on visceral leishmaniasis in dogs and the main aspects related to ocular and periocular repercussions caused by this disease. Based on the researched material, it is possible to conclude that this disease presents important ocular lesions in affected animals. For this reason, especially in endemic areas, dogs with characteristic ocular and periocular manifestations of the anterior segment of the eye globe and lesions of the ocular annexes must undergo complete ophthalmologic evaluation for differential diagnosis of canine visceral leishmaniasis.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

**Figura 1** - Nódulos cutâneos multifocais na região do canto medial do olho em um cão com leishmaniose. Esses nódulos são propostos para representar o local original da transmissão vetorial da *Leishmania infantum*. Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 2** - Imagem de olho direito de um cão com *Leishmania chagasi*. Nota-se blefarite difusa intensa com envolvimento das glândulas de Meibômio. Fonte: Fulgêncio, 2006.

**Figura 3** - Conjuntivite em um cão com leishmaniose. Observa-se o espessamento proeminente da conjuntiva bulbar ventral. A avaliação citológica da conjuntiva revela células inflamatórias mononucleares e numerosas formas amastigotas de *Leishmania infantum*. Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 4** - Ceratoconjuntivite com formação de nódulo focal, aumentado, rosa na lateral do limbo em um cão com leishmaniose. Observa-se a aparência similar à episcleroceratite granulomatosa nodular. A avaliação citológica dos raspados do nódulo revela numerosos organismos. Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 5** - Ceratoconjuntivite seca em um cão com leishmaniose visceral. Nota-se exsudato mucopurulento, edema corneal difuso, neovascularização e pigmentação da córnea, Pernambuco State, Brazil, 2004. Fonte: Brito *et al.*, 2006.

**Figura 6** - Blefaroedema difuso com alopecia periocular, exsudato seco seborreico e pálpebras com espessamento fibrótico, ceratite com edema de córnea, pigmentação e neovascularização em cão com leishmaniose visceral, Estado Pernambuco, Brasil, 2004. Fonte Brito *et al.*, 2006.

**Figura 7** - Lesão granulomatosa no limbo de um cão devido a *Leishmania* spp. Fonte: Pietro *et al.*, 2016.

**Figura 8** - Imagem do olho direito de um cão com *Leishmania chagasi*. Observam-se uveíte anterior, injeção ciliar, edema de córnea e íris, hifema e miose. Fonte: Fulgêncio, 2006.

**Figura 9** - Uveíte anterior caracterizada pela formação de nódulos multifocais e cinzentos no estroma da íris. A uveíte desenvolveu-se após o início da terapia com antiprotozoário sistêmico. Observa-se também blefarite com meibomite. Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 10** - Imagem do olho direito de um cão com *Leishmania chagasi*. Observam-se descolamento de retina e hemorragia retiniana. Fonte: Fulgêncio, 2006.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

%	Por cento
<i>Apud</i>	Citado por, em
CCS	Ceratoconjuntivite seca
CD4+	Grupamento de diferenciação 4
CR 1	Receptor do complemento 1
CR 2	Receptor do complemento 2
DAT	Teste da aglutinação direta
ELISA	Ensaio imunoenzimático
H	Horas
HIV	Vírus da imunodeficiência humana
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IgG	Imunoglobulina G
IL	Interleucina
<i>in vivo</i>	Dentro do organismo vivo
LPG	Lipofosfoglicano
LT	Leishmaniose tegumentar
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
mmHg	Milímetros de mercúrio
PCR	Reação em cadeia da polimerase
RIFI	Imunofluorescência indireta
<i>sp.</i>	Espécie
Th1	Linfócitos T helper tipo 1
Th2	Linfócitos T helper tipo 2
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral alfa

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>9</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>11</b>
<b>2.1 Histórico .....</b>	<b>11</b>
<b>2.2 Distribuição Geográfica .....</b>	<b>11</b>
<b>2.3 Aspectos Epidemiológicos .....</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Imunologia.....</b>	<b>15</b>
<b>2.5 Manifestações Clínicas .....</b>	<b>16</b>
<b>2.6 Diagnóstico .....</b>	<b>19</b>
2.6.1 Métodos parasitológicos.....	19
2.6.2 Métodos sorológicos.....	20
2.6.3 Métodos moleculares.....	21
<b>3 REPERCUSSÕES OCULARES E PERIOCULARES.....</b>	<b>21</b>
<b>3.2 Periocular .....</b>	<b>22</b>
<b>3.1 Ocular .....</b>	<b>29</b>
<b>4 DISCUSSÃO .....</b>	<b>35</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>42</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>43</b>

## 1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma doença infecciosa, e de acordo com o ciclo de transmissão, zoonótico ou antroponótico, apresenta diferentes manifestações clínicas (DESJEUX, 2004). Esta é causada por protozoários intracelulares pertencentes à ordem Kinetoplastina, à família Trypanosomatidae, do gênero *Leishmania* (RIOUX *et al.*, 1990; NOGUEIRA, 2007). Entre os principais tipos de apresentações encontram-se a leishmaniose tegumentar e a leishmaniose visceral, que são dependentes da espécie de *Leishmania* e do tipo de resposta imunológica desenvolvida pelo hospedeiro (WHO, 2007; DESJEUX, 2004).

A leishmaniose visceral zoonótica tem como reservatório principal o cão doméstico (DESJEUX, 2001; COURTENAY *et al.*; 2002; MELO, 2004), e o agente etiológico, nas Américas, é o protozoário da espécie *Leishmania chagasi*. A transmissão para o hospedeiro ocorre através da picada do vetor infectado (SILVA, 2007), este pertencente à espécie *Lutzomyia longipalpis* (DANTAS-TORRES, 2006).

Entre o amplo espectro de manifestações clínicas encontradas em cães infectados observam-se, por exemplo, anemia, anorexia, febre irregular de longa duração, perda de peso progressiva, linfadenomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia, onicogribose, lesões cutâneas e oculares (MARZOCHI *et al.*, 1985; CIARAMELLA *et al.*, 1997). As repercussões oculares e perioculares aparecerem frequentemente de maneira simultânea com outros sinais sistêmicos, ou podem ocorrer, de modo mais raro, como primeira ou única alteração da doença (PENÑA *et al.*, 2000). Entre os sinais clínicos mais frequentes encontram-se a uveíte anterior (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016), a blefarite e a conjuntivite (PEÑA *et al.*, 2000; KOUTINAS *et al.*, 1999; FULGÊNCIO, 2006; SLAPPENDEL, 1988; PIETRO *et al.*, 2016). Já entre os sinais menos frequentes estão coriorretinite, descolamento de retina, celulite orbitária, glaucoma e catarata (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006). As lesões oftálmicas estão relacionadas com a presença do parasita nas diferentes estruturas oculares, que geram reações granulomatosas, e com a deposição de imunocomplexos que ocasionam vasculites e trombozes (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996).

A doença também é conhecida como calazar (Kala-zar), febre dum-dum, febre de Assam, leishmaniose visceral americana (nas Américas), esplenomegalia tropical e doença negra (NOGUEIRA, 2007). As leishmanioses são abordadas, pelo Programa Especial para Pesquisa e Treinamento em Doenças Tropicais, como doenças endêmicas prioritárias (WHO, 1990; GONTIJO, 2004).

Acredita-se que os dados epidemiológicos da leishmaniose visceral não são reais. Há uma divergência entre o número de casos que ocorrem e os que são relatados. Essa subestimação é atribuída a falhas de diagnósticos, a casos não relatados, a presença de indivíduos assintomáticos, além de não ser de notificação obrigatória em todos os países que são endêmicos à doença (DESJEUX, 2004). Porém, apesar desta subestimação, é possível verificar uma expansão geográfica da doença e um número crescente de casos, o que acaba por constituir um sério problema de saúde pública (DANTAS-TORRES, 2006; COURTENAY *et al.*, 2002; MELO, 2004).

Com este estudo, objetiva-se realizar uma revisão bibliográfica sobre a leishmaniose visceral em cães, dando uma maior ênfase para as repercussões oculares e perioculares dessa doença, com o intuito de disponibilizar um material para consulta para todos os profissionais da área da saúde que buscam informações sobre o tema.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Histórico

No ano de 1901, Willian Boog Leishman e Charles Donovan observaram e descreveram separadamente, mas concomitantemente o agente causador da leishmaniose. No entanto, acreditavam ser a forma involutiva de *Trypanosoma*. Ronald Ross, em 1903, criou o gênero *Leishmania*, e batizou o agente de *Leishmania donovani*, em homenagem aos descobridores, descrevendo-o de modo mais aprofundado (REY, 2001; NOGUEIRA, 2007; ALVES, 2006).

O parasito foi detectado em cães, na Tunísia em 1908, por Nicole e Comte, que insinuaram a possível participação desses animais no ciclo epidemiológico do agente como reservatórios (ALVES, 2006; SILVA, 2007 *apud* NICOLLE & COMTE, 1908).

Em 1913, no Paraguai, Migone observou corpúsculos de *Leishmania* na necropsia de um paciente que havia trabalhado na construção da estrada de ferro São Paulo-Corumbá, no Brasil, registrando o primeiro caso nas Américas (ALVES, 2006; SILVA, 2007, NOGUEIRA, 2007 *apud* MIGONE, 1913).

Já no Brasil, em 1911, Carlos Chagas suspeitou da doença. Em 1934, Penna, enquanto pesquisava a febre amarela, demonstrou a existência de parasitas semelhantes à *Leishmania donovani* em preparos histológicos de fígado. Através das características morfológicas do parasito e de estudos da etiopatogênica, foi denominada de *Leishmania chagasi*, em homenagem a Carlos Chagas (NOGUEIRA, 2007 *apud* PENNA, 1934).

### 2.2 Distribuição Geográfica

A doença está distribuída por quase todos continentes, exceto Oceania e Antártida (WHO, 1990). Nas Américas é encontrada na Argentina, Paraguai, Bolívia, Colômbia, Costa Rica, Honduras, Venezuela, Guatemala, Martinica, Guadalupe, México, El Salvador e Brasil (MELO, 2004).

No Brasil, a leishmaniose também é conhecida como Calazar ou barriga d'água. Esta doença teve, inicialmente, um caráter rural no país e com maior incidência na região Nordeste. Regiões como Sudeste, Norte e Centro-oeste também apresentavam casos notificados, porém, em menor porcentagem. Com o passar do tempo, a doença se expandiu

para áreas mais urbanizadas o que modificou essa distribuição. Observou-se uma redução de relatos no Nordeste e um aumento em outras regiões (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

Cerca de 90% dos casos humanos, de leishmaniose visceral, ocorrem em áreas com condições de vida precárias como, por exemplo, zonas rurais e suburbanas de países como Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão (DESJEUX, 1996; MELO, 2004; DANTAS-TORRES, 2006). O aumento da incidência e da taxa de letalidade anual em pessoas reside no desenfreado processo de urbanização, que ocasiona aumento da transmissão, por elevar a densidade vetorial, má condições sanitárias, desnutrição, coinfeções de indivíduos com doenças imunossupressoras, como HIV, e exposição maior da população não imunizada (DESJEUX, 2001; WHO, 2007; QUEIROZ *et al.*, 2004). Tem sido descritos um aumento nos números de casos de infecção *Leishmania*/HIV devido ao compartilhamento de agulhas contaminadas (MELO, 2004).

### 2.3 Aspectos Epidemiológicos

O espectro de manifestações clínicas das leishmanioses é composto por: leishmaniose tegumentar (LT) e leishmaniose visceral (LV). Essas são dependentes da espécie de *Leishmania* e do tipo de resposta imunológica que o hospedeiro irá desenvolver. A LT pode evoluir para mucocutânea, cutânea difusa e cutânea, sendo essa última autolimitante. Já a LV é a de maior gravidade por, geralmente, ser fatal se não tratada, e poder progredir para quadros crônicos de leishmaniose dérmica pós-calazar (WHO, 2007; DESJEUX, 2004).

O parasito associado a LV é classificado dentro do complexo *Leishmania donovani* e, é representado pelas espécies: *Leishmania (Leishmania) donovani*, *Leishmania (Leishmania) infantum*, *Leishmania (Leishmania) chagasi*. (MAURICIO *et al.*, 2001; RIOUX *et al.*, 1990; MELO, 2004). A *L. donovani* e a *L. infantum* são os agentes responsáveis pela forma visceral na África, Europa e Ásia, já a *L. chagasi* é a encontrada nas Américas. A *L. donovani* tem caráter antroponótico, enquanto a *L. infantum* e a *L. chagasi* são responsáveis pela infecção em humanos e cães (SILVA, 2007; LAINSON & RANGEL, 2005). No entanto, por diferentes autores, através de estudos bioquímicos e moleculares, foram demonstrados diferenças mínimas entre a *L. infantum* e a *L. chagasi*, considerando-as como sinónimas (DANTAS-TORRE, 2006; MAURICIO *et al.*, 2001; RIOUX *et al.*, 1990).

O ciclo biológico do protozoário é heteroxênico. Logo, são necessários hospedeiros vertebrados e invertebrados para ocorrer o ciclo completo do parasito. Entre os vertebrados estão canídeos silvestres e domésticos, roedores e humanos, que irão conter a forma

intracelular obrigatória. Já os hospedeiros invertebrados são responsáveis pela transmissão do parasito para os vertebrados (SILVA, 2007; SACKS & KAMHAWI, 2001).

Os protozoários são transmitidos aos hospedeiros vertebrados por picadas de fêmeas de insetos infectados, dípteros, pertencentes à família Psychodidae, e subfamília Phlebotominae, dos gêneros *Phlebotomus* (no Velho Mundo) e *Lutzomyia* (no Novo Mundo), mais conhecidos como flebotomíneos (SILVA, 2007). A espécie *Lutzomyia longipalpis* é o principal vetor responsável pela transmissão da doença no Brasil (DANTAS-TORRES, 2006). São insetos popularmente conhecidos como mosquito-palha, tatuquiras, birigui, e somente as fêmeas, com hábitos crepusculares, se alimentam de sangue para realizar a maturação dos ovos. A *Lutzomyia sp.* possui característica de se desenvolver em áreas úmidas, com alta concentração de matéria orgânica e pouca luminosidade (NOGUEIRA, 2007). Com isso, épocas quentes e com maior umidade relativa do ar são os períodos em que há um aumento populacional de vetores e, assim, uma maior transmissão da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

As *Leishmanias* possuem duas apresentações morfológicas principais: a promastigota (flagelada e extracelular) e a amastigota (aflagelada e intracelular obrigatória). A forma amastigota está presente nos tecidos dos hospedeiros vertebrados, e é observada dentro das células do sistema fagocitário mononuclear. Já a promastigota, também chamada de nectomonas, está presente no trato digestivo das fêmeas invertebradas (SILVA, 2007).

O cão doméstico é apontado como o reservatório no ciclo de transmissão da leishmaniose visceral zoonótica (DESJEUX, 2001; COURTENAY *et al.*; 2002; MELO, 2004) e a principal fonte de infecção para os flebotomíneos (NOGUEIRA, 2007; ALVAR *et al.*, 2004). O fato dos canídeos possuírem alto parasitismo cutâneo, ser uma espécie com elevada prevalência da doença e ter estreita relação com o homem, fazem com que os mesmos sejam os responsáveis pela permanência do parasito em focos endêmicos e o alvo de maior destaque para o controle da doença (ASHFORD, 1996; ALVES, 2006; DANTAS-TORRES, 2006).

Estudos demonstraram que a enzootia canina precede a ocorrência de casos humanos, e a prevalência e distribuição canina são mais amplas que em indivíduos. A maioria dos cães domésticos que tem sorologia reagente não apresentam manifestações clínicas aparentes, atuando como reservatórios (MELO, 2004; ALVES, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Em gatos domésticos (*Felis catus*) já foram relatados casos esporádicos de infecção em diversos países, inclusive no Brasil (SAVANI *et al.*, 2004). A ocorrência da leishmaniose em felinos é rara. Sugere-se que essa baixa prevalência em gatos de áreas endêmicas seja

causada pela resistência natural à infecção dessa espécie, ou pela subnotificação de casos, já que desde 1911 apenas 50 casos foram relatados (LEIVA *et al.*, 2005). Há estudos que associam leishmaniose felina à imunodeficiência natural adquirida, embora não existam comprovações (LEIVA *et al.*, 2005; HERVÁS *et al.*, 2001). As manifestações oculares em felinos infectados por *Leishmania* são incomuns, existindo apenas três casos publicados sobre esse tema na espécie. Entre os sinais relatados estão a uveíte anterior, panuveíte e úlcera de córnea. Em uma das publicações houve associação da panuveíte com úlcera em *melting*, e os autores suspeitaram que as formas amastigotas pudessem produzir as collagenases, no entanto, não se teve confirmação (LEIVA *et al.*, 2005). Na histopatologia, pode-se evidenciar uma intensa reação inflamatória granulomatosa na íris, processo ciliar, coróide e córnea composta, predominantemente, por macrófagos que contêm protozoários no citoplasma (HERVÁS *et al.*, 2001). Além de presenciar grandes quantidades de amastigotas intracelulares no trato uveal e córnea, pode-se encontrar também na esclera e retina (LEIVA *et al.*, 2005). Esse infiltrado inflamatório é apontado como consequência da resposta direta à presença do parasita, assim como ocorre nos cães (HERVÁS *et al.*, 2001). Em áreas endêmicas, deve-se incluir a leishmaniose como diagnóstico diferencial de felinos com uveítes ou com úlceras corneanas em *melting* (LEIVA *et al.*, 2005). Em animais sinantrópicos como, por exemplo, marsupiais (*Didelphis albiventris*) e roedores (*Rattus rattus*) estudos epidemiológicos também demonstraram a presença do agente (SHERLOCK *et al.*, 1988; MELO, 2004). Entretanto, o papel destes animais como reservatórios ainda são desconhecidos e carece de estudos, a fim de determinar a relevância para transmissão ao humano (SAVAVI *et al.*, 2004; SHERLOCK *et al.*, 1988).

A contaminação dos hospedeiros invertebrados ocorre através do repasto sanguíneo de mamíferos parasitados. Ao ingerir o sangue infectado, amastigotas que estão na circulação sanguínea e dentro dos macrófagos são ingeridos concomitantes. No flebótomo, a forma amastigota sofre sucessivas divisões e, após 12h a 18h, torna-se promastigotas procíclicas. Esses se transformam em nectomonas após um período de 30h a 60h. Nas microvilosidades das células epiteliais do intestino médio, as nectomonas se aderem através do flagelo, e após sete dias migram para região torácica do intestino médio e se transformam em haptomonas. Estas sofrerão nova divisão, no esôfago e faringe, e irão dar origem as formas promastigotas metacíclicas infectantes (BATES, 1994; SACKS & KAMHAWI, 2001; KILLICK-KENDRICK, 2002). O parasito na forma infectante, expressa estratégias de escape em sua superfície, tanto para o processo de digestão por enzimas líticas do inseto, quando da ação das células de defesa do hospedeiro vertebrado. Esses mecanismos de proteção são

lipofosfoglicanos (LPG) e a glicoproteína gp63, protease zinco dependente, que previnem a ação do complemento (OLIVER *et al.*, 2005; SACKS & KAMHAWI, 2001).

Substâncias presentes na saliva dos flebotomíneos são essenciais para estabelecer a infecção dos promastigotas metacíclicos. Essas substâncias aumentam a fagocitose do parasito pelos macrófagos e inibem estas células de matarem as formas intracelulares, por alterar a resposta imune do hospedeiro. Estudos demonstraram que entre esses componentes estão: a ação anticoagulante e o vasodilatador - peptídeo maxadilán (SOARES, 1998; SACKS & KAMHAWI, 2001; KILLCK-KENDRICK, 2002).

As formas promastigotas metacíclicas, ao serem inoculadas no organismo do hospedeiro vertebrado, escapam da lise induzida pelo sistema complemento e são aderidas e recrutadas pelos macrófagos. Para que haja aderência entre macrófago e parasita, é necessária que ocorra interação entre a membrana celular parasitária com os componentes da superfície do macrófago, os quais são: protease gp63, LPG, receptores de superfície do macrófago CR1 e CR3, receptor de fucose-manose e receptor para fragmentos cristalinos de imunoglobulinas. Com a interação é desencadeada uma série de eventos, como: ligação do parasito com o macrófago, internalização, endocitose com formação de fagolisossomos, sobrevivência intracelular, diferenciação em amastigotas e multiplicações (FERRER, 2002; OLIVER *et al.*, 2005). A divisão binária do parasito ocorre até que o macrófago seja rompido, com consequente liberação de amastigotas e infecção de outras células do sistema mononuclear fagocitário. Com o objetivo de sobreviver no interior do macrófago, prevenir a ativação de uma resposta imune efetiva e a atividade antimicrobiana da célula hospedeira, as formas amastigotas desenvolvem mecanismos para manipular atividades através da inibição da síntese de metabólitos oxidativos tóxicos, modulando a produção de citocinas e a apoptose de macrófagos, além de estimular a produção de células T (OLIVER *et al.*, 2005).

## **2.4 Imunologia**

As alterações anatomopatológicas estão associadas ao tipo de resposta imunológica que o hospedeiro irá desenvolver (LUVIZOTTO, 2006). Para estabelecer uma resposta imune é necessária que se tenha antígenos apropriados, indução e multiplicação de células T, além da ativação dos macrófagos. As células T são as que proporcionam imunidade específica a LV. Essas células expressam as moléculas CD4<sup>+</sup> que se subdividem em linhagens Th1 e Th2, e são antagonistas quanto à produção de citocinas e efeitos imunológicos (FERRER, 2002).

Animais resistentes desenvolvem manifestações clínicas discretas, ou até mesmo inaparentes. Essa resistência está associada à ativação da resposta Th1, que é responsável pela imunidade celular e pela citotoxicidade. Essa linhagem secreta interleucinas 2 e 12 (IL-2 e IL-12), fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) e interferon gama (IFN- $\gamma$ ) (LUVIZOTTO, 2006; FERRER, 2002; CIAMARELLA *et al.*, 1997). As células *natural killers*, apresentadoras de antígenos, são as responsáveis pela resistência a infecção, pois ainda na pele, produzem IFN- $\gamma$  e IL-12, que induzem a síntese de óxido nítrico pelos macrófagos. O óxido nítrico e superóxidos são mecanismos eficazes na destruição parasitária (LUVIZOTTO, 2006; FERRER, 2002; NOGUEIRA, 2007). Já os animais com infecção sintomática, têm ativação da linhagem Th2 e apresentam uma resposta predominantemente humoral. Essa linhagem produz interleucinas do tipo 4, 6 e 10 (IL-4, IL-6 e IL-10) (LUVIZOTTO, 2006; BARBIÉRI, 2006; CIAMARELLA *et al.*, 1997). Estudos demonstraram que o sinergismo entre IL-10 e a IL-4 é um potente mecanismo na persistência e progressão da doença. Essas interleucinas, além de inibirem a ativação de macrófagos, desativam citocinas que agem na proteção do hospedeiro como INF- $\gamma$ , IL-12 e TNF- $\alpha$ . A imunidade humoral é caracterizada pelo aumento dos níveis séricos de imunoglobulinas que contribuem para formação de imunocomplexos (LUVIZOTTO, 2006; BARBIÉRI, 2006).

Ao detectar a infecção por *L. infantum*, os anticorpos montam uma resposta contra o protozoário e imunoglobulinas IgG1 e IgG2 aparecem como indicadores, existindo uma associação entre os níveis de imunoglobulinas, o avanço da doença e a resistência ao animal (BARBIÉRI, 2006).

## 2.5 Manifestações Clínicas

Em áreas endêmicas, as manifestações clínicas não estão presentes em todos os cães infectados. Nessas regiões foram relatados casos em que os cães apresentavam títulos de anticorpos específicos, ou que havia uma resposta imunológica mediada por células, porém, o animal não exibia sinais clínicos (BERRAHAL *et al.*, 1996).

Diversos fatores, além do tipo de resposta imunológica desenvolvida após contaminação, contribuem para uma maior suscetibilidade ou resistência à doença, assim como o grau de intensidade das manifestações clínicas. Raça, idade, genética, sexo, nutrição, coinfeções, virulência do protozoário e imunossupressão são alguns exemplos. Cães das raças Pastor-alemão, Dobermann, Boxer e Cocker Spaniel são mais predispostos (SIDERIS *et al.*, 1999; FRANCA-SILVA *et al.*, 2003), enquanto, a raça Ibizan Hound, apresenta maior

resistência genética, por possuir a resposta imune do tipo celular como predominante (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2009). Animais de até três anos e cães idosos, são apontados como mais suscetíveis à infecção (CARDOSO *et al.*, 2004). Quanto ao sexo, autores relataram que machos são acometidos com maior frequência (ZAFFARONI *et al.*, 1999).

Os mosquitos têm predileção pelo nariz ou pela margem interna da pina, na qual, inicia-se uma resposta inflamatória local. Na região da picada são encontrados neutrófilos, linfócitos, macrófagos e as formas parasitárias e, logo após, desenvolve-se uma lesão nodular chamada de leishmanioma ou “cancro de inoculação”. Essas lesões possuem diferentes apresentações clínicas, os diâmetros podem ter de um a três centímetros, e a região pode se apresentar de forma ulcerada, alopecica, não pruriginosa, pouco dolorida, podendo ou não conter crostas, e dependendo do tipo de resposta imunológica desenvolvida, ser autolimitante ou produzirem enfermidade visceral (NOGUEIRA, 2007; CIAMARELLA *et al.*, 1997; KOUTINAS *et al.*, 1999).

Após a inoculação do parasito na pele do cão suscetível ocorre à disseminação do agente a outros órgãos via sistema hemolinfático (LUVIZOTTO, 2006). O parasitismo tem início na pele, linfonodos, baço e medula óssea, seguindo para o fígado e rins e, depois para os órgãos reprodutivos. Com a evolução da doença, os parasitos acometem a bexiga, sistema respiratório e digestivo e novamente a pele (ALVAR, 2004). Nos órgãos acometidos observam-se uma reação inflamatória granulomatosa, estimulação policlonal e formação de imunocomplexos circulantes que irão de depositar nas paredes dos vasos (BARBIÉRI, 2006; PUMAROLA *et al.*, 1991).

As apresentações clínicas são divididas em aguda, subaguda, crônica e regressiva, e variam de acordo com o período de incubação. Este período é de difícil determinação, e pode variar de três meses a alguns anos (MARZOCHI *et al.*, 1985; AMUSATEGUI *et al.*, 2003). As alterações patológicas e os sinais clínicos se dão de acordo com o órgão que o parasito se prolifera, podendo ser órgãos linfóides e não linfóides. Além disso, essa multiplicação induz reações granulomatosas que irão conter no seu interior as formas amastigotas (FERRER, 2002).

Na leishmaniose canina, o comprometimento hepático é incomum (CIAMARELLA *et al.*, 1997). A proliferação do parasita nas células de Kupffer ocasiona hepatomegalia e hepatite crônica difusa. Com isso, sintomas de vômito, anorexia, perda de peso e icterícia são observados (NOGUEIRA, 2007). Já no baço acontece uma esplenomegalia ocasionada pela hiperplasia da polpa branca e vermelha. Devido ao envolvimento do sistema hemolinfático, mais de 90% dos casos, apresentam linfadenomegalia como consequência da produção

acentuada de linfócitos B, macrófagos íntegros e degenerados, plasmócitos e histiócitos, que elevam a celularidade nos esfregaços (FERRER, 2002). Além da linfadenomegalia, é comum encontrar plasmócitos contendo imunoglobulinas no interior. Estes são causados pelo estímulo antigênico prolongado e são chamados de corpúsculo de Russell ou células Mott. (LUVIZOTTO, 2006).

A patogenia mais agravante da doença ocorre devido à deposição de imunocomplexos na parede dos vasos, que irão acarretar em um processo inflamatório degenerativo e necrótico em diferentes tecidos. As lesões ocorrem em locais que possuem vascularização especializada como processos ciliares, glomérulos renais, plexo coroide, coriocapilar e pele (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996). Essa deposição de imunocomplexos ocasiona vasculites, uveítes, artrites, dermatites e, especialmente a glomerulonefrite e insuficiência renal (FERRER, 2002; LOPEZ *et al.*, 1996; PUMAROLA *et al.*, 1991; GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996).

O envolvimento renal na leishmaniose visceral canina é frequente, e as alterações encontradas são semelhantes às observadas nos humanos (COSTA *et al.*, 2003). As lesões renais estão associadas à deposição de imunocomplexos na membrana basal glomerular, que somado com a ativação do complemento geram comprometimento da função do órgão, levando a falência renal (PLEVRAKI *et al.*, 2006; ALVAR *et al.*, 2002; CIAMARELLA *et al.*, 1997). Tem sido relatado que os achados patológicos mais comuns são a glomerulonefrite imunocomplexa e a nefrite intersticial, além de acusar essas alterações com as principais causas de proteinúrias, podendo progredir para uma síndrome nefrótica ou insuficiência renal crônica. O diagnóstico precoce da doença renal é fundamental para prolongar a vida do animal, já que a principal causa de óbito nos cães é devido à insuficiência renal crônica (COSTA *et al.*, 2003; PLEVRAKI *et al.*, 2006). Os sinais de lesões renais aparecem através de uremia crônica e ulcerações na cavidade oral que, conseqüentemente, acabam por diminuir o apetite dos cães. A anorexia, associada à proteinúria e ao déficit de nutrientes essenciais, como o triptofano, causam quadros de perda de peso e caquexia em, pelo menos, um quarto dos casos (NOGUEIRA, 2007; FERRER, 2002).

As alterações cutâneas são as lesões de maior prevalência observadas nos cães infectados, apresentando grande variabilidade quanto à caracterização e extensão (FERRER *et al.*, 1998; KOUTINAS *et al.*, 1992; CIAMARELLA *et al.*, 1997, SLAPPENDEL, 1988). Entre as alterações dermatológicas mais comuns estão dermatite esfoliativa, ulcerativa, nodular, pustular e seborréica; pústulas; hiperqueratose nasal e digital; despigmentação nasal; opacidade dos pelos; alopecia em diferentes localizações e graus e descamação da pele (AMUSATEGUI *et al.*, 2003; FERRER *et al.*, 1998; KOUTINAS *et al.*, 1992).

Entre as alterações de maior destaque dos anexos cutâneos estão o crescimento exagerado das unhas, conhecido como onicogribose (KOUTINAS *et al.*, 1992) e, é considerado sinal patognomônico da leishmaniose. Tem como causas a estimulação da matriz ungueal e a redução dos movimentos devido à apatia que impede o desgaste natural das unhas (MARZOCHI *et al.*; 1985).

## 2.6 Diagnóstico

A diversidade de sinais clínicos da leishmaniose visceral canina tende a torna os diagnósticos clínicos inconclusivos, o que pode facilmente confundir esta doença com outras alterações (CUPOLILLO, 2006; GONTIJO, 2004; KOUTINAS *et al.*, 1999). Com o objetivo de fornecer diagnósticos mais precisos, abordagens parasitológicas, imunológicas e moleculares foram desenvolvidas (GOMES *et al.*, 2008) e são de grande importância para o diagnóstico definitivo e diferencial da doença, principalmente, em áreas endêmicas (CUPOLILLO, 2006; GONTIJO, 2004; KOUTINAS *et al.*, 1999). Entre os diagnósticos diferenciais são incluídos neoplasias, demodicidose, escabiose, dermatites alérgicas, dermatites imunomediadas ou infecciosas, erliquiose e babesiose (GOMES *et al.*, 2008).

### 2.6.1 Métodos parasitológicos

O diagnóstico parasitológico tem o objetivo de identificar formas amastigotas de *Leishmania sp.* em diferentes amostras (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). Esse método é baseado nos aspirados esplênicos, linfonodos, hepáticos, de medula óssea, além da biópsia ou raspados de pele (KOUTINAS *et al.*, 1999; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; GOMES *et al.*, 2008), sendo o aspirado de baço considerado “padrão ouro” devido a maior sensibilidade em comparação com os outros tecidos biológicos (KOUTINAS *et al.*, 1999).

As provas parasitológicas são de elevada especificidade (KOUTINAS *et al.*, 1999). No entanto, esses métodos são invasivos, apresentam riscos ao paciente e a sensibilidade depende do grau de parasitismo, do tipo de amostra coletada e do tempo de leitura da lâmina (DESJEUX, 2004; CUPOLILLO, 2006; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006).

A citologia é um método que apresenta aproximadamente 100% de especificidade na observação dos amastigotas (GOMES *et al.*, 2008). Porém, a sensibilidade é baixa e pode gerar resultados inconclusivos, principalmente na análise de amostras de animais com poucas manifestações clínicas (GRADONI, 2002). A fim de obter maior confiabilidade neste método,

as coletas de amostras devem ser realizadas em diferentes tecidos e analisadas por um profissional de laboratório qualificado (GRADONI, 2002; GOMES *et al.*, 2008).

### 2.6.2 Métodos sorológicos

As técnicas sorológicas tem o objetivo de detectar anticorpos específicos anti-*Leishmania* (GRANODI, 2002). Esses métodos são baseados no teste ensaio imunoenzimático (ELISA), imunofluorescência indireta (RIFI), teste da aglutinação direta (DAT) e o Western Blot (DESJEUX, 2004; GOMES *et al.*, 2008), e representam a principal metodologia em campanhas de inquérito epidemiológico (COSTA *et al.*, 1991). Na rotina clínica, as provas citadas como mais utilizadas são ELISA e RIFI (MIRÓ *et al.*, 2008).

O RIFI é considerado “padrão ouro” entre as diferentes técnicas sorológicas, além de ser o método de eleição na Europa (GRADONI, 2002). É um teste utilizado para diagnósticos de diversas doenças parasitárias, pois possui alta sensibilidade e especificidade (COSTA *et al.*, 1991). No entanto, a especificidade pode ser comprometida pela ocorrência de reações cruzadas com doenças como leishmaniose tegumentar, doenças de Chagas, erliquiose e toxoplasmose, e assim, originar falso-positivo (COSTA *et al.*, 1991; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006; GOMES *et al.*, 2008). Já resultados falso-negativos podem acontecer em cães com a infecção já estabelecida a alguns meses que apresentem baixos níveis detectáveis de anticorpos circulantes no sangue (GRADONI, 2002).

O teste de Elisa baseia-se na reação de fixação de anticorpos específicos presentes nos soros com antígenos solúveis e purificados de *Leishmania* obtidos a partir de cultura *in vivo* (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2006). É apontado como a segunda técnica mais utilizada pelos pesquisadores europeus, e também é utilizada para confirmar reações imunológicas que tenham sido consideradas fracamente positivas através do RIFI (GRADONI, 2002). Num estudo realizado através do método de ELISA com peptídeo recombinante S7, foi observado altas titulações de IgG-*Leishmania* no humor aquoso de cães infectados que apresentavam sinal de uveíte, independente da presença destes anticorpos no plasma. Essa publicação sugeriu que esse tipo de teste pode ser usado de modo eficiente no diagnóstico da leishmaniose visceral canina (BRITO *et al.*, 2006).

### 2.6.3 Métodos moleculares

A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR) é baseada na detecção de ácidos nucleicos. Esse método molecular apresenta vantagens como alta sensibilidade e especificidade, pode ser aplicado a amostras de diversos tecidos e são rápidos quando comparados com outras provas. Estudos demonstraram que através dessa técnica é possível detectar parasitas semanas antes do aparecimento dos sinais, e até mesmo em indivíduos assintomáticos. Para análise de PCR, as amostras podem ser extraídas do sangue, dos aspirados de linfonodos, do baço, da medula óssea e do fígado, além de fragmentos de pele. Através do desenvolvimento desse método indireto, é possível identificar e monitorar a transmissão das doenças em cães assintomáticos, auxiliando também nos estudos epidemiológicos (BERRAHAL *et al.*, 1996; CUPOLILLO, 2006).

## 3 REPERCUSSÕES OCULARES E PERIOCULARES

As primeiras manifestações oftalmológicas associadas à LVC, encontradas na literatura, iniciaram em 1913 com Laveran, que descreveu a ocorrência de dois casos de ceratite em cães infectados experimentalmente com *Leishmania sp.* Após estudos histológicos, essa alteração foi caracterizada como uma ceratite intersticial associada às formas amastigotas intracitoplasmáticas no estroma. A partir de então, diversos relatos foram publicados descrevendo outros sinais oculares ocasionados pela doença (FULGÊNCIO, 2006).

As repercussões oftálmicas em cães com leishmaniose visceral canina são frequentemente descritas. Essas alterações aparecerem comumente de maneira simultânea com sinais sistêmicos, mas podem ocorrer de modo mais raro, como primeira ou única manifestação da doença (SLAPPENDEL, 1988; CIAMARELLA *et al.*, 1997; PEÑÁ *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Cerca de 15% dos cães infectados desenvolvem apenas sinais oculares sem envolvimento sistêmico (PEÑÁ *et al.*, 2000). Entre as oftalmopatias mais observadas estão uveíte anterior (PEÑÁ *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016), blefarite e conjuntivite (KOUTINAS *et al.*, 1999; FULGÊNCIO, 2006; SLAPPENDEL, 1988; PIETRO *et al.*, 2016). Já entre os sinais menos comuns encontram-se coriorretinite, descolamento de retina, celulite orbitária, glaucoma e catarata (PEÑÁ *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; FULGÊNCIO, 2006). Essas alterações oftálmicas ocorrem com maior frequência de maneira bilateral, no segmento anterior do bulbo ocular e, geralmente, há

mais de um sinal clínico associado. Embora, deva-se ressaltar que o acometimento bilateral está relacionado com a forma crônica da doença, pois inicialmente se observa apenas lesões unilaterais (KOUTINAS *et al.*, 1999; PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; FULGÊNCIO, 2006; PIETRO *et al.*, 2016). As lesões oftálmicas estão relacionadas com a presença do parasita nas diferentes estruturas oculares e com a formação e deposição de imunocomplexos nas paredes dos vasos. Por conta disso, no exame histopatológico são encontradas reações inflamatórias granulomatosas que podem acometer conjuntiva, limbo, corpo ciliar, córnea, esclera, ângulo de drenagem iridocorneal, íris, coróide e nervo óptico como consequência da presença do parasita, enquanto a deposição de imunocomplexos ocasiona vasculite e trombose (PUMAROLA *et al.*, 1991; GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996).

A prevalência das alterações oftalmológicas quando associadas à leishmaniose visceral canina tem variações nos estudos entre 16% a 80,5% (PENÃ *et al.*, 2000; SLAPPENDEL, 1988; CIAMARELLA *et al.*, 1997; KOUTINAS *et al.*, 1999; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016). A diferença entre os resultados está relacionada com a patogenicidade da espécie de *Leishmania* envolvida, ou a duração e tipo da resposta imunológica desenvolvida pelo animal infectado (BRITO *et al.*, 2006). Ciamarella *et al.* (1997) relataram prevalência de 16%, a mais baixa entre as observadas, de alterações oftalmológicas em cães diagnosticados com LV em seu estudo. Entretanto, Peña e colaboradores (2000) observaram uma prevalência de 24,4%. A divergência entre os relatos é atribuída à diferença de classificação das lesões, uma vez que, Ciamarella e colaboradores consideraram a alopecia periocular como uma alteração dermatológica e não oftálmica como os demais autores. Apesar da porcentagem superior em relação as publicações anteriores, Peña *et al.* (2000) acreditam que seus dados estejam subestimados, já que o exame oftálmico detalhado não foi realizado em todos os cães infectados, e sim, apenas nos animais que demonstravam manifestações aparentes. Com isso, lesões intraoculares subclínicas como, corioretinite multifocal, não são detectadas.

Em áreas endêmicas, cães com manifestações oculares e perioculares características de inflamações do segmento anterior do bulbo ocular e de lesões dos anexos oculares devem realizar diagnóstico diferencial para LVC (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006).

### **3.2 Periocular**

As alterações palpebrais são consequências da ação direta do parasita associado à vasculite necrosante, que forma na pele desde pequenos nódulos até ulcerações graves (PUMAROLA *et al.*, 1991). Nos relatos são descritas lesões variadas como dermatite seca

com alopecia, blefaroedema difuso, ulcerações cutâneas e formação de nódulos cutâneos discretos de granulomas (Figura 1) (PEÑA *et al.*, 2000). As lesões palpebrais podem ter imagens clínicas semelhantes àquelas encontradas em outras doenças como, por exemplo, a sarna sarcóptica e demodécica. Por este motivo, o diagnóstico diferencial deve ser realizado através de raspagens de pele e culturas bacterianas, por citologia da medula óssea ou por biopsia (FERRER *et al.*, 1998).

Entre as inflamações palpebrais observam-se blefarite difusa, blefarite nodular e blefarite granulomatosa. A blefarite difusa é a alteração palpebral mais frequente entre os estudos (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). São caracterizadas pelo espessamento difuso das pálpebras, com aspecto fibroso e edematoso, hiperemia, exsudato seborreico, crostas e alopecia periocular e pode cursar com a inflamação das glândulas de Meibômio em alguns casos (Figura 2) (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; BRITO *et al.*, 2006). Já a forma nodular e a granulomatosa são menos comuns. Estudos citam que cães da raça Boxer apresentam maior predisposição (FERRER *et al.*, 1998; FULGÊNCIO, 2006). No entanto, não há um número considerável de casos para realizar análises estatísticas que confirmem essa hipótese. Enquanto isso é factível que cães dessa raça tenham uma resposta imunológica ineficaz, e desenvolvam formações granulomatosas com mais frequência (FERRER *et al.*, 1998). Na dermatite nodular é encontrado um grande número de macrófagos e amastigotas na pele, ao contrário da dermatite alopécica em que se observam poucos parasitos. Já a lesão ulcerativa, na histologia, é uma forma intermediária entre nodular e alopécica. Por este motivo, é necessário que o diagnóstico citológico dos parasitos nas lesões palpebrais seja realizado para as blefarites não alopécicas (PEÑA *et al.*, 2000).

A alopecia periocular é observada em diferentes estudos, e apresenta porcentagens variáveis (CIAMARELLA *et al.*, 1997; FERRER *et al.*, 1998; PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Essa alteração ocorre mais de modo bilateral e assimétrico, além de cursar com seborréia. Pode envolver todas as bordas palpebrais, assemelhando-se ao formato de óculos (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Esse tipo de afecção, muitas vezes, não é encaminhado a oftalmologistas, pois são considerados sinais dermatológicos (CIAMARELLA *et al.*, 1997; PIETRO *et al.*, 2016).

**Figura 1** - Nódulos cutâneos multifocais na região do canto medial do olho em um cão com leishmaniose. Esses nódulos são propostos para representar o local original da transmissão vetorial da *Leishmania infantum*.



Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 2** – Imagem do olho direito de um cão com *Leishmania chagasi*. Nota-se blefarite difusa intensa com envolvimento das glândulas de Meibômio.



Fonte: Fulgêncio, 2006.

A inflamação da mucosa conjuntival é um sinal frequente na oftalmologia veterinária, sendo, na maioria dos casos, bilateral quando a etiologia é sistêmica (WOUK *et al.*, 2007). A conjuntivite pode ocorrer de forma isolada, porém, é observada mais comumente associada a outros sinais como a ceratite (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Essa manifestação é relatada, em alguns estudos, como a repercussão ocular de maior prevalência (SLAPPENDEL, 1988; KOUTINAS *et al.*, 1999; PEÑA *et al.*, 2008), e pode chegar a abranger até 100% dos cães soropositivos diagnosticados com alterações oculares (KOUTINAS *et al.*, 1999). Suponha-se que a elevada frequência esteja relacionada com o fato de a conjuntiva possuir papel imunológico essencial para defesa da superfície ocular, já que é constituída por tecido linfóide (FULGÊNCIO, 2006). A ceratoconjuntivite, associação entre inflamação da mucosa conjuntival e da córnea, pode cursar com outras alterações como ceratoconjuntivite seca (CCS) e alterações nodulares na junção corneoescleral. A celulite orbitária bilateral também pode ser encontrada, embora esteja entre as afecções menos comuns, e caracteriza-se por quemose, inchaço periorbital e exoftalmia (PEÑA *et al.*, 2000).

A conjuntivite em cães, geralmente, é uma afecção secundária a outras causas. Porém, alguns autores relataram que a leishmaniose é uma das poucas doenças em que a inflamação da conjuntiva pode se apresentar de forma primária (PEÑA *et al.*, 2008). Contudo, conjuntivites secundárias podem ser desencadeadas por processos que afetem as pálpebras e o aparelho lacrimal (NARANJO *et al.*, 2005).

As manifestações clínicas observadas são quemose difusa, enrijecimento da conjuntiva, hiperemia e exsudato purulento (Figura 3). Nódulos discretos multifocais de coloração esbranquiçada são ocasionalmente observados na conjuntiva (Figura 4) (PEÑA *et al.*, 2000). Raspados conjuntivais desses nódulos são eficazes para demonstrar altas quantidades de amastigotas em seu interior. É considerado um método pouco invasivo e auxiliar para diagnóstico da leishmaniose visceral canina (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006).

**Figura 3** - Conjuntivite em um cão com leishmaniose. Observa-se o espessamento proeminente da conjuntiva bulbar ventral. A avaliação citológica da conjuntiva revela células inflamatórias mononucleares e numerosas formas amastigotas de *Leishmania infantum*.



Fonte: Peña *et al.*, 2000.

**Figura 4** - Ceratoconjuntivite com formação de um nódulo focal, aumentado, rosa na lateral do limbo em um cão com leishmaniose. Observa-se a aparência similar à episcleroceratite granulomatosa nodular. A avaliação citológica dos raspados do nódulo revela numerosos organismos.



PEÑA *et al.*, 2000

A ceratoconjuntivite seca apresenta diferentes etiologias, e entre estas estão incluídas as doenças sistêmicas. Caracteriza-se pela deficiência parcial ou total da porção aquosa do filme lacrimal (FULGÊNCIO *et al.*, 2005). A prevalência dessa afecção é bastante variada e oscila entre 2,8% a 26,8% (PEÑA *et al.*, 2000; CIAMARELLA *et al.*, 1997; KOUTINAS *et al.*, 1999; FULGÊNCIO, 2006).

Entre os sinais clínicos incluem-se secreção mucosa, hiperemia conjuntival difusa, perda do brilho da superfície da córnea, diferentes graus de edema, neovascularização e pigmentação da córnea que, em alguns casos, pode levar a cegueira (Figura 5) (PEÑA *et al.*, 2000). A principal manifestação abordada é a secreção mucopurulenta, que ocorre devido ao acúmulo do lipídeo e muco, já que a porção aquosa da lágrima é reduzida. (FULGÊNCIO *et al.*, 2005).

Três possíveis hipóteses sobre a patogenia da ceratoconjuntivite seca foram descritas. A primeira teoria está relacionada com a destruição direta das glândulas lacrimais pela ação do parasita e da inflamação intensa, a segunda refere-se à obstrução dos ductos das glândulas adjacentes pelo processo inflamatório, e a última está associada com a redução dos reflexos secretórios lacrimais após hipoestesia da córnea (CIAMARELLA *et al.*, 1997 *apud* ROZE, 1986). Essas teorias estão de acordo com os achados histopatológicos que tiveram o objetivo de caracterizar as lesões presentes nas glândulas e ductos lacrimais, e determinar a presença de parasita através da imunohistoquímica em cães soropositivos. Foi observada a existência de infiltrado inflamatório mononuclear e de formas parasitárias ao redor dos ductos e glândulas lacrimais, sendo as glândulas de Meibômio as mais afetadas, o que provocou a dilatação e o acúmulo de secreção nestas estruturas (NARANJO *et al.*, 2005).

**Figura 5** – Ceratoconjuntivite seca em cão com leishmaniose visceral. Nota-se exsudato mucopurulento, edema corneal difuso, neovascularização e pigmentação da córnea, Pernambuco State, Brazil, 2004.



BRITO *et al.*, 2006

Naranjo *et al.*(2010) relataram a primeira descrição de formas amastigotas de *Leishmania sp.* e inflamação granulomatosa associada a músculos lisos e estriados intra-oculares, extra-oculares e perioculares. Os autores analisaram amostras de 77 cães diagnosticados com leishmaniose. A musculatura lisa coletada foi o músculo dilatador da íris, o músculo esfíncter da íris, o músculo do corpo ciliar e músculo de Muller, a musculatura lisa periorbital e da membrana nictante. Já entre os músculos estriados estavam o músculo oblíquo dorsal, reto dorsal e orbito ocular. A detecção do parasita nos tecidos foi realizada através da coloração de hematoxilina-eosina e de testes imunohistoquímicos. O infiltrado granulomatoso observado no endomísio das fibras musculares era composto predominantemente por macrófagos e quantidades dispersas de linfócitos, neutrófilos e células plasmáticas. A inflamação foi mais frequente nos músculos estriados 25,35% do que no liso 10,99%, e a observação dos parasitos também prevaleceu na musculatura estriada 19,71% em comparação a 9,09% na lisa. A porcentagem se refere ao número total de amostras analisadas de cada músculo, já que nem todas as estruturas foram coletadas de todos os cães.

A inflamação granulomatosa ocasiona alteração da arquitetura muscular, o que gera a hipótese de que as ações mecânicas e inflamatórias estão relacionadas na patologia muscular e contribuem para sintomatologia clínica como blefarite, uveíte anterior e celulite orbitária,

embora, a inflamação de estruturas adjacentes também contribui para os sinais oculares (NARANJO *et al.*, 2010).

### 3.1 Ocular

O comprometimento da córnea de modo isolado é raro (PEÑA *et al.*, 2000; NARANJO *et al.*, 2005; BRITO *et al.*, 2006; FULGÊNCIO, 2006). A inflamação da córnea em cães infectados por *Leishmania*, normalmente, está associado à conjuntivite ou à uveíte (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006). Sugere-se que a ceratite ocorra, mais comumente, secundária ao acometimento das pálpebras e da secreção lacrimal do que da ação direta do parasito (NARANJO *et al.*, 2005). Entre os achados principais da ceratite incluem-se neovascularização, pigmentação e edema difuso da córnea (Figura 6) (PEÑA *et al.*, 2000), sendo este último caracterizado pela separação das fibras colágenas (BRITO *et al.*, 2004).

A ceratite pode ser superficial, intersticial ou profunda, sendo a superficial a mais observada na LVC. A intersticial é evidenciada pela opacidade focal, ocasionada pela infiltração celular e pelo edema estromal. Já a ceratite profunda é secundária a uveíte, e tem como característica vasos finos, curtos e profundos que se estendem por toda a córnea de maneira circular (PEÑA *et al.*, 2000). As ceratites ulcerativas ocorrem, normalmente, secundárias à ceratoconjuntivite seca, porém, são incomuns (FULGÊNCIO, 2006). Esta lesão é atribuída a ação direta das formas amastigotas presentes na lesão ulcerada e na resposta imune local (BRITO *et al.*, 2007).

Há relatos da ocorrência de granulomas repletos de formas amastigotas oriundo do limbo e da conjuntiva que se estendem até a córnea (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Na histopatologia das inflamações corneanas são observados infiltrados inflamatórios e parasitas no tecido que provém do envolvimento da conjuntiva e do limbo (PEÑA *et al.*, 2008). Fulgêncio (2006) relatou a ocorrência de degeneração corneal em dois cães infectados, e sugeriu que estas alterações podem estar relacionadas com uremia, que é comumente observada na LVC.

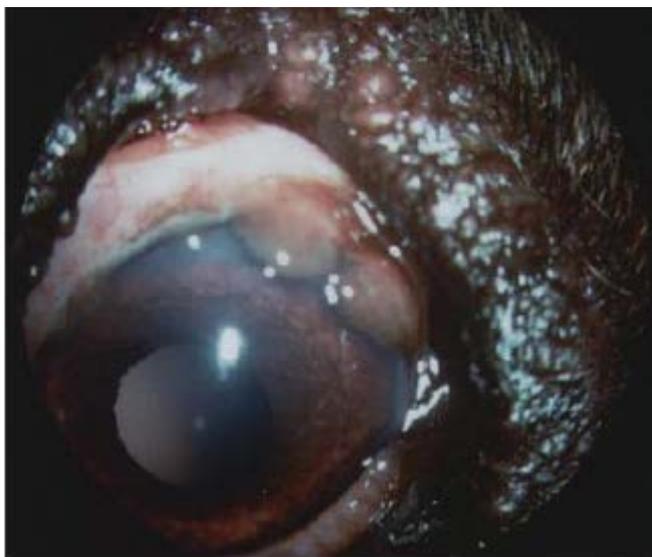
**Figura 6** - Blefaroedema difuso com alopecia periocular, exsudato seco seborreico e pálpebras com espessamento fibrótico, ceratite com edema de córnea, pigmentação e neovascularização em cão com leishmaniose visceral, Estado Pernambuco, Brasil, 2004.



Fonte: Brito *et al.*, 2006.

O limbo é a zona de transição entre a esclera e a córnea, e é um local propício para ocorrência de doenças proliferativas crônicas ou neoplásicas. Essas alterações devem ser diferenciadas daquelas que envolvem a córnea e a câmara anterior (CRISPIN, 2005). Nos estudos que abordam as afecções oculares da LVC, são descritos reações nodulares granulomatosas encontradas no limbo corneano lateral (Figura 7), que se assemelham à episcleroceratite granulomatosa nodular observada em Collies e outras raças (PEÑA *et al.*, 2000; PIETRO *et al.*, 2016). Com a finalidade de obter um diagnóstico, no exame microscópico desses granulomas é possível evidenciar parasitas, o que sugere que a citologia é eficaz para essas lesões (PEÑA *et al.*, 2000).

**Figura 7** – Lesão granulomatosa no limbo de um cão devido à *Leishmania* spp.



Fonte: Pietro *et al.*, 2016.

As afecções da esclera são pouco relatadas entre os estudos. Peña *et al.* (2008), citaram a esclera como a sexta estrutura ocular mais acometida em ordem de frequência, com uma porcentagem de 5,8% entre as amostras analisadas (PEÑA *et al.*, 2008). A deposição de imunocomplexos foi evidenciada nos capilares da esclera, o que gerou uma intensa vasculite, com dilatação dos vasos linfáticos e trombose. Além disso, foram observados edema intersticial e um infiltrado inflamatório mononuclear formado por linfócitos, macrófagos com formas amastigotas no interior do citoplasma e células plasmáticas (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996).

A uveíte é comumente observada em doenças sistêmicas com produção de imunocomplexos e habitualmente relatada em diversos estudos de cães com leishmaniose visceral (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2004; BRITO *et al.*, 2006). O mecanismo imunopatogênico é ocasionado pela estimulação policlonal dos linfócitos B, que induzem a produção e deposição de imunocomplexos nas paredes dos vasos (PUMAROLA *et al.*, 1991; GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996).

Três mecanismos patogênicos têm sido apontados com causas da uveíte na LVC: a reação alérgica ocasionada pela morte de parasitas nos tecidos após o tratamento dos cães com antimoniato pentavalente (PEÑA *et al.*, 2000), a intensa marginalização de leucócitos devido a presença de formas amastigotas livres e intracitoplasmáticas, e a resposta de hipersensibilidade imunomediada tipo III gerado por antígenos do parasita e deposição de imunocomplexos nos tecidos (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996). A inflamação do trato uveal

altera a permeabilidade da barreira hematoaquosa e modifica a composição do humor aquoso, que fica opacificado devido à elevada quantidade de proteínas totais no seu interior. A detecção dessa concentração é realizada através do teste de ELISA, que utiliza o peptídeo recombinante S7, e detecta a uma predominância de IgG em cães infectados. Com isso, tornam-se factível a verificação de anticorpos anti-*Leishmania* e a dosagem de proteínas totais como um método complementar para diagnóstico de LVC. Entretanto, a visualização de estruturas internas do globo ocular pode ficar prejudicada pela opacificação do humor aquoso (BRITO *et al.*, 2006).

A uveíte anterior constitui uma manifestação frequente e que ocorre de forma aguda através da presença de fibrina, edema de córnea e íris, miose, hifema, hiperemia conjuntival (Figura 8) e da formação de nódulos discretos e multifocais no estroma da íris (Figura 9), este, pode se desenvolver após o início do tratamento com antiprotozoário sistêmico. A maior prevalência relatada em publicações é de 42,8%, embora em áreas endêmicas possa ser mais elevada (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; BRITO *et al.*, 2006). A uveíte pode evoluir para glaucoma, porém é infrequente (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006). Na histopatologia do ângulo iridocorneal foram evidenciadas a presença de parasitas e de um infiltrado, sugerindo que este achado pode contribuir para o desenvolvimento de glaucoma (PEÑA *et al.*, 2008). O acometimento da câmara posterior é incomum (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016). Embora, esse dado possa estar subestimado nas publicações, já que em alguns casos o fundo de olho não é visível nos exames oftálmicos devido a intensidade da inflamação na câmara anterior (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006). No estudo elaborado por Peña *et al.*(2008), a presença dos parasitos na coróide foram observadas em apenas 3,3% e a inflamação em 5,8% do total de casos analisados com repercussões oculares. A alteração de ambas as câmaras também é verificada; porém, em poucos estudos e com uma frequência baixa (FULGÊNCIO, 2006, PIETRO *et al.*, 2016).

Nos exames histopatológicos do trato uveal, são observadas formas aflageladas dos parasitas e infiltrado linfo-plasmocitário perivascular nas diferentes estruturas. Além do infiltrado, é possível observar uma dilatação vascular e vasculite na úvea (GARCIA-ALONSO *et al.*, 1996; BRITO *et al.*, 2004; FULGÊNCIO, 2006).

**Figura 8** – Imagem do olho direito de um cão. Observam-se uveíte anterior, injeção ciliar, edema de córnea e íris, hifema e miose.



Fonte: Fulgêncio, 2006.

**Figura 9** - Uveíte anterior caracterizada pela formação de nódulos multifocais e cinzentos no estroma da íris. A uveíte desenvolveu-se após o início da terapia com antiprotozoário sistêmico. Observe-se também a blefarite com meibomite.



PEÑA *et al.*, 2000.

As alterações de retina e de nervo óptico são incomuns e, normalmente, acompanham a uveíte anterior (PEÑA *et al.*, 2000). Afecções como neurite, descolamento de retina (Figura 10), atrofia do nervo óptico e coriorretinite são citadas, porém, em uma frequência bem menor, quando comparada com as demais oftalmopatias (FULGÊNCIO, 2006; PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; PEÑA *et al.*, 2008). Sabe-se que o parasito possui uma baixa predileção pelo segmento posterior do olho. No entanto, a coriorretinite multifocal associada a áreas de hiporeflexividade são relatadas (FULGÊNCIO, 2006 *apud* ROZE, 1986). A ocorrência dessa alteração pode variar entre 3,8% a 9,8% nos estudos (PEÑA *et al.*, 2000).

A etiologia do descolamento de retina é atribuída à hipertensão secundária à falência insuficiência renal (FULGÊNCIO, 2006). A neurite óptica foi diagnosticada através de estudos histopatológicos. Observaram-se a presença de um infiltrado inflamatório na bainha do nervo. O infiltrado estava localizado no corpo do nervo e no exame oftalmológico o disco óptico estava normal (PEÑA *et al.*, 2008). A avaliação do fundo do olho pode ser prejudicada pela diminuição da transparência intraocular e pela resistência pupilar a ação dos midriáticos (FULGÊNCIO, 2006)

**Figura 10** – Imagem do olho direito de um cão com *Leishmania chagasi*. Observam-se descolamento de retina e hemorragia retiniana.



Fonte: Fulgêncio, 2006.

## 4 DISCUSSÃO

A leishmaniose visceral é uma zoonose que possui o cão doméstico como o principal reservatório em áreas urbanas (DESJEUX, 2001; COURTENAY *et al.*; 2002; MELO, 2004). Nas Américas, a doença é causada pelo protozoário intracelular da espécie *Leishmania chagasi*, que é transmitido ao hospedeiro pelo mosquito do gênero *Lutzomyia longipalpis*, através da inoculação (DANTAS-TORRES, 2006).

Os sinais clínicos são bastante variáveis e estão associados com o tipo de resposta imunológica que o hospedeiro irá desenvolver. De acordo com a resposta imune, os animais podem desenvolver manifestações clínicas discretas ou de maior gravidade. A disseminação do protozoário para os diferentes tecidos ocorre via sistema hemolinfático (LUVIZOTTO, 2006). Nos órgãos acometidos pelos parasitas observam-se reações inflamatórias, através da estimulação policlonal e formação, com consequente deposição, de imunocomplexos circulantes (BARBIÉRI, 2006; PUMAROLA *et al.*, 1991).

As repercussões oftálmicas são descritas com frequência na leishmaniose visceral canina, podendo variar a prevalência nos estudos entre 16% a 80,5%. Essas manifestações aparecerem comumente de maneira simultânea com outras manifestações sistêmicas, mas podem ocorrer de forma isolada (SLAPPENDEL, 1988; CIAMARELLA *et al.*, 1997; PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; KOUTINAS *et al.*, 1999; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016). Entre os sinais mais observadas estão uveíte anterior (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006), blefarite e conjuntivite (KOUTINAS *et al.*, 1999; FULGÊNCIO, 2006; CIAMARELLA *et al.*, 1997; SLAPPENDEL, 1988). Embora outras alterações menos frequentes também tenham sido descritas correlacionadas com a doença (PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006). Essas lesões oculares ocorrem com maior frequência de maneira bilateral, no segmento anterior do bulbo ocular e, geralmente, há mais de um sinal clínico associado. (KOUTINAS *et al.*, 1999; PEÑA *et al.*, 2000; BRITO *et al.*, 2006; FULGÊNCIO, 2006; PIETRO *et al.*, 2016).

A blefarite envolve diversas condições inflamatórias da pálpebra, e a causa principal pode ser mascarada por complicações secundárias. A inflamação palpebral pode ocorrer de modo focal ou difuso com envolvimento variável das pálpebras (HENDRIX, 2013). Os sinais clínicos são variáveis e, comumente, ocasionam alterações secundárias na conjuntiva e córnea (WOUK *et al.*, 2007). Devido às pálpebras serem estruturas com alta vascularização, a hiperemia e o edema normalmente são acentuados. A dor é representada pelo blefarospasmo e lacrimejamento excessivo, que podem agravar-se por trauma autoinduzido. Sinais como

alopecia, erosão e exsudato também estão presentes. A inflamação crônica pode levar a deformação palpebral e ocasionar entrópion ou ectopia (HENDRIX, 2013).

As inflamações palpebrais podem mimetizar alterações decorrentes de outras doenças como infecciosas, parasitárias, micóticas, bacterianas, seborreicas, alérgicas, endócrino-metabólicas, neoplásicas ou doenças imunomediadas. Na blefarite parasitária o principal agente encontrado é o *Demodex canis* (WOUK *et al.*, 2007; HENDRIX, 2013; AROCH *et al.*, 2007). Deve-se ressaltar que mesmo que seja constatada a presença de outro agente como *Demodex canis* não se pode anular a possibilidade de parasitismo associado (PENÃ *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; WOUK *et al.*, 2007). Entre as bactérias mais observadas na blefarite estão *Staphylococcus* e *Streptococcus* spp. Esta inflamação pode se apresentar de modo superficial difuso, piogranulomatoso no tecido subcutâneo ou como uma meibomianite. Já a blefaromicose é causada pelos fungos da espécie *Microsporum* e *Trichophyton*, porém, é pouco frequente. E entre as infecciosas destacam-se a leishmaniose, dermatofitose e tripanossomíase (HENDRIX, 2013; AROCH *et al.*, 2007).

As pálpebras são comumente acometidas na leishmaniose visceral canina (PENÃ *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; KOUTINAS *et al.*, 1999; BRITO *et al.*, 2006; PIETRO *et al.*, 2016). As alterações são consequências da ação direta do parasito associado à vasculite necrosante (PUMAROLA *et al.*, 1991). Estas lesões variam entre dermatite seca com alopecia, blefaroedema difuso, ulcerações cutâneas a formações de nódulos cutâneos granulomatosos (PEÑA *et al.*, 2000). A blefarite difusa é a alteração palpebral mais observada (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006). Porém, blefarites nodulares e granulomatosas podem ocorrer de modo menos frequente, sendo os cães da raça Boxer os mais predispostos (FERRER *et al.*, 1998; FULGÊNCIO, 2006).

Nos estudos realizados por Peña *et al.*(2000), ao considerarem a ocorrência de blefarite em relação ao número total de cães, observaram uma prevalência de 25,7%, resultado similar ao relatado por Fulgêncio (2007) de 25%. Brito e colaboradores (2006) encontraram 16% dos animais infectados. Entretanto, Pietro *et al.*(2016) relataram uma prevalência de 50% no grupo dos cães de abrigo. As porcentagens mais baixas foram observadas na publicação de Koutinas *et al.*(1999) em que apenas 3,8% dos animais diagnosticadas com leishmaniose visceral tiveram inflamação das pálpebras. Já Ciamarella *et al.*(1997) consideraram a blefarite e alopecia periocular como alterações dermatológicas e não oftálmicas.

A conjuntivite é a inflamação da mucosa conjuntival e constitui uma afecção comumente diagnosticada na clínica oftalmológica, ocorrendo, na maioria dos casos, de modo

bilateral quando a causa é sistêmica (WOUK *et al.*, 2007). Este sinal pode ocorrer de forma isolada ou concomitantemente com outras manifestações oculares como a ceratite (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006).

A conjuntivite aguda é caracterizada por quemose, hiperemia, blefarospasmo e exsudação celular. A quemose é consequência do arranjo solto do estroma conjuntival que permite que um edema extenso se desenvolva rapidamente. Já a elevada vascularização e o tecido linfóide da conjuntiva possibilitam o desenvolvimento agudo da hiperemia e da resposta celular. No acometimento crônico, células gigantes multinucleadas são observadas como uma mudança inespecífica (HENDRIX, 2013).

Entre as causas da inflamação conjuntival incluem-se traumas, vírus, bactérias, protozoários, parasitas, doenças imunomediadas, alergias, irritantes mecânicos e outros agentes infecciosos oculares e sistêmicos. A conjuntivite bacteriana pode ocorrer de forma primária ou secundária, e é um sinal comum na clínica de pequenos animais. É ocasionada pela introdução de bactérias exógenas, sendo a *Staphylococcus* spp. a de maior prevalência (HENDRIX, 2013; AROCH *et al.*, 2007). A conjuntivite bacteriana primária é incomum no cão, sendo, a maioria dos casos, inflamações secundárias decorrentes de lesões palpebrais ou do sistema lacrimal. A infecção por *Rickettsia rickettsii* é comumente relacionada com lesões oculares da conjuntiva, úvea e retina, podendo ocasionar sinais oculares de hiperemia conjuntival, quemose, secreção ocular purulenta e mucopurulenta e hemorragias cutâneas. Já a erliquiose é caracterizada por hiperemia conjuntival, secreção ocular serosa, uveíte anterior e hemorragias conjuntivais e retinianas (HENDRIX, 2013).

A leishmaniose é uma das poucas etiologias primárias da conjuntivite (PEÑA *et al.*, 2008). A prevalência deste sinal na LVC é variável, mas sempre alta, (SLAPPENDEL, 1988; KOUTINAS *et al.*, 1999; PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006) podendo abranger até 100% dos cães soropositivos diagnosticados com alterações oculares (KOUTINAS *et al.*, 1999). Essa elevada ocorrência de casos esta atribuída ao fato da conjuntiva possuir papel imunológico fundamental na defesa da superfície ocular, devido ao tecido linfóide que a compõe (FULGÊNCIO, 2006). Pietro *et al.* (2016) observaram que 20,8% dos cães do grupo de animais que possuíam tutores e foram consultados no hospital de ensino veterinário tiveram conjuntivite, resultado idêntico ao encontrado no estudo de Fulgêncio (2006). Já na publicação de Peña *et al.* (2000), a porcentagem correspondente ao número total de cães infectados, foi de 31,8%, valor bem próximo ao relato por Slappendel (1988) de 32,5%.

A conjuntivite viral, no passado, era mais associada ao vírus da cinomose canina (HENDRIX, 2013), que além da conjuntivite bilateral característica (MARTIN, 2005),

ocasiona sinais oftálmicos como coriorretinite, ceratoconjuntivite seca e neurite óptica. No entanto, pesquisas mais atuais trouxeram maior atenção para a hepatite canina infecciosa, causada pelo herpes-vírus canino tipo 1 (HENDRIX, 2013). Entre as alterações oculares desta doença incluem-se conjuntivite, blearoespasma, miose, hipotonicidade, edema de córnea e flare da câmara anterior ocasionada pela uveíte anterior (AROCH *et al.*, 2007). Os agentes micóticos são causa rara de conjuntivite em cães (HENDRIX, 2013; MARTIN, 2005), mas infecções por *Blastomyces dermatitidis* podem formar nódulos na conjuntiva inferior (HENDRIX, 2013).

O thelazia é um nematódeo associado à irritação conjuntival leve (MARTIN, 2005), e ocorre no Oeste dos Estados Unidos, Europa e sudeste da Ásia (HENDRIX, 2013). Esse parasito pode ser observado na membrana nictante, saco conjuntival e ducto lacrimal. Os sinais são conjuntivite purulenta uni ou bilateral com blefaroespasma, epífora, ceratite e secreção lacrimal intensa. Outro estudo revelou a presença do *Toxoplasma gondii* em um cão com CCS em uma massa conjuntival amarela localizada no limbo (HENDRIX, 2013).

A uveíte é a inflamação da túnica vascular do olho (TOWNSEND, 2008), e é frequentemente observada em doenças sistêmicas com produção de imunocomplexos (BRITO *et al.*, 2006). Essa alteração é comum devido o trato uveal possuir natureza vascular, ter grande proximidade com outras estruturas do bulbo e pela sua imunossensibilidade (DALMA-WEISZHAUSZ & DALMA, 2002). A uveíte anterior é caracterizada pela inflamação da íris e corpo ciliar, já a uveíte posterior somente o coróide é afetado e a panuveíte envolvem as três estruturas concomitantemente (TOWNSEND, 2008).

Uma grande variedade de etiologias pode incitar a uveíte. Essa classificação etiológica pode ser dividida em causas exógenas e endógenas e, infecciosas ou não infecciosas (HENDRIX, 2013; VAN DER WOERDT, 2001). As exógenas geralmente são consequência de traumas, que podem ser decorrentes de cirurgias intraoculares, perfurações e úlceras. Já as endógenas surgem dentro do olho ou alcançam a úvea pela corrente sanguínea, e são as responsáveis pela maioria das inflamações uveais, incluindo-se doenças imunomediadas, infecciosas, metabólicas, tóxicas e neoplásicas (HENDRIX, 2013). Dentre as causas não infecciosas abrangem-se uveíte induzida pelo cristalino, neoplasias, traumáticas, síndrome uveodermatológica, pseudo-uveíte causada por neoplasia e idiopáticas. As infecciosas são compreendidas pelas doenças virais, bacterianas, micóticas, parasitárias ou ocasionadas protozoários (VAN DER WOERDT, 2001; TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013).

Dentre as causas bacterianas os agentes responsáveis são *Brucella canis*, *Bartonella vinsonii*, *Leptospira*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Borrelia burgdorferi*. (AROCH *et al.*, 2007; DZIEZYC, 2000). A blastomicose, criptococose, coccidiomicose e histoplasmose são as micoses sistêmicas mais comumente envolvidas com uveíte (WOLF, 1989). Já entre as infecções virais que ocasionam inflamação do trato uveal estão listadas apenas a cinomose e a hepatite infecciosa canina. As infecções parasitárias abrangem a dirofilariose, angiostrongilose e a ancilostomose. E entre as protozoárias estão compreendidas a toxoplasmose, a neosporose, a leishmaniose e a hepatozoonose americana. (AROCH *et al.*, 2007; HENDRIX, 2013).

Na leishmaniose visceral canina, a uveíte anterior foi descrita como o sinal mais frequente em alguns estudos (PEÑA *et al.*, 2000; FULGÊNCIO, 2006; BRITO *et al.*, 2006). Os relatos da prevalência da inflamação da câmara anterior em relação ao número total de cães infectados apresentam valores em torno de 25% (FULGÊNCIO, 2006; BRITO *et al.*, 2006), mas podem chegar a alcançar 42,8% (PEÑA *et al.*, 2000). No entanto, essa prevalência pode oscilar bastante, inclusive dentro do mesmo estudo como é o caso de Pietro *et al.* (2016) que observaram as repercussões oculares em cães com LV de dois grupos distintos. Um grupo pertencente a cães de abrigo e outro de animais que possuíam tutores e foram examinados no hospital de ensino veterinário. Os cães do abrigo tiveram uma porcentagem de 9,37% e os com tutores de 37,5%. Como a metodologia de pesquisa, os operadores e a área geográfica de estudo eram os mesmos, a única variável atribuída a essa diferença de porcentagens foi que cães de abrigo são pouco tratados.

A fisiopatologia da uveíte se inicia quando uma injúria tecidual é ocasionada por traumas, bactérias, fungos, parasitas, vírus ou doenças imunomediadas. Este dano causa liberação de fatores tissulares e quimiotáticos, que dão início à reação inflamatória. Esta reação desestabiliza as barreiras hematoaquosa e hematorretiniana por ocasionar vasodilatação e aumento da permeabilidade vascular. A desestabilização da barreira hematoaquosa faz com que as proteínas plasmáticas escapem para o humor aquoso, e, com isso, aumentem a turbidez do mesmo, denominando-se de flare aquoso. Já a lesão na barreira hematorretiniana ocasiona edema, hemorragia e descolamento de retina. (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013).

Os sinais clínicos da uveíte anterior são numerosos e inespecíficos de acordo com a causa. Incluem-se dor ocular, visão diminuída, injeção episcleral, hiperemia conjuntival, precipitados ceráticos, miose, flare aquoso, fibrina na câmara anterior, hipópio, hifema, diminuição da pressão intraocular, edema de córnea, sinéquia posterior, além de alterações

irídicas como o espessamento, alteração de cor e neovascularização (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013; VAN DER WOERDT, 2001). O edema de córnea ocorre devido à adesão de complexos antígeno-anticorpo e/ou debris inflamatórios ao endotélio da córnea pela quebra da função endotelial. O *flare* aquoso refere-se ao aumento da turbidez do humor aquoso. Este é devido ao acúmulo de proteínas plasmáticas e outros componentes celulares dentro da câmara anterior após a lesão na barreira hematoaquosa, sendo essa uma alteração patognomônica de uveíte anterior (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013). A diminuição do diâmetro pupilar é um sinal comum na inflamação da câmara anterior (HENDRIX, 2013). A miose ocorre em resposta à presença de prostaglandinas e outros mediadores inflamatórios que agem diretamente no músculo esfíncter da íris causando dor (TOWNSEND, 2008). Já os precipitados ceráticos são acúmulos de células inflamatórias, fribrina e pigmentos da íris que atravessam a barreira hematoaquosa e se depositam na córnea (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013). A observação destes precipitados é importante, pois indicam uveíte anterior, embora, a detecção nem sempre seja fácil. Esses depósitos são feitos de células plasmáticas e macrófagos típicos da reação granulomatosa, que apresentam uma tendência maior para aderir à córnea do que linfócitos e células polimorfonucleares típicos de uveítes inespecíficas. O hifema e o hipópio são acúmulos de material purulento e sangue, respectivamente, dentro da câmara anterior, e são ocasionados pela ruptura da barreira hemato-uveal vascular. O hipópio também pode ser observado em inflamações estéreis, infecções e neoplasias (HENDRIX, 2013).

Uma das indicações mais precoces de uveíte é a diminuição da pressão intraocular abaixo de 10 mmHg. Esta redução da pressão pode estar associada à queda na produção do humor aquoso, quebra da barreira hematoaquosa e aumento do fluxo úveo-escleral mediado, em parte, pelas prostaglandinas (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013). Isso ocorre em uveítes agudas e subagudas. Já em uveítes crônicas, mecanismos como fibrose ou atrofia do corpo ciliar podem contribuir para diminuição da secreção com hipotonia ocular subsequente.

O glaucoma pode se desenvolver de modo secundário a uveítes graves ou prolongadas. Entre as causas de glaucoma secundário pode-se citar a obstrução do ângulo por detritos inflamatórios, íris bombé e formação de *rubeosis iridis*. Valores de pressão intraocular menores que 10mmHg é consistente com uveíte, porém, uma diferença de mais de 5mmHg entre os dois olhos, mesmo que os valores estejam dentro na normalidade, pode sugerir que o olho com pressão intraocular baixa tenha uveíte ou, o bulbo ocular com pressão maior tenha glaucoma iminente (HENDRIX, 2013).

. As sinéquias estão entre complicações mais graves da inflamação crônica da câmara anterior. Resulta da combinação de células inflamatórias, fibrina e fibroblastos, miose e espessamento iridial que criam adesão da íris ao cristalino, sinéquia posterior, ou da íris à córnea, sinéquia anterior. As sinéquias posteriores quando ocorrem em 360° impedem a passagem do humor aquoso da câmara posterior para a anterior, causando a íris bombé. A íris bombé é um abaulamento dos bordos anteriores da íris. Já a sinéquia anterior ocasiona obstrução da drenagem do humor aquoso, causando aumento da pressão intraocular e consequente glaucoma (TOWNSEND, 2008; HENDRIX, 2013). A *rubeosis iridis* é outra complicação da inflamação da uveíte crônica. É causada pela liberação de fatores antigênicos pela retina isquêmica, que ocasionam neovascularização crônica dos vasos sanguíneos da íris ou do corpo ciliar (TOWNSEND, 2008). Além da uveíte crônica, a *rubeosis iridis* se desenvolve secundariamente a outras doenças crônicas como neoplasia intraocular, endoftalmia e descolamento de retina. O desenvolvimento dessa alteração pode ocasionar hifema, devido à fragilidade dos vasos, e glaucoma, devido à formação de membranas sobre o ângulo iridocorneal. Dentre outras consequências comuns da cronificação da uveíte anterior seria formação de catarata, luxação da lente e *phthisis bulbi* (HENDRIX, 2013).

Quando o diagnóstico de repercussões oculares, principalmente, no segmento anterior do bulbo ocular e de lesões nos anexos oculares é feito, deve-se tentar identificar a etiologia da mesma. Para isso, exame oftalmológico e físico completo é indicado. É importante tentar identificar sinais em outros segmentos oculares como a córnea, cristalino e fundo de olho de ambos os olhos, a fim de realizar o diagnóstico diferencial da leishmaniose visceral canina com outras doenças que ocasionam alterações oculares similares (PEÑA *et al.*, 2000; HENDRIX, 2013).

## 5 CONCLUSÃO

As repercussões oculares e perioculares são descritas com frequência em cães infectados pela *Leishmania*. Os sinais oftálmicos são variados, e entre as manifestações mais prevalentes estão blefarite, uveíte anterior e conjuntivite. As alterações são relatadas com maior frequência de maneira bilateral, no segmento anterior globo ocular e com mais de um sinal ocular ocorrendo concomitantemente. As manifestações aparecem mais comumente associadas a outros sinais sistêmicos ou, de modo mais raro, podem ser a primeira ou única repercussão da doença, constituindo o motivo da consulta ao veterinário.

As lesões são decorrentes da presença do parasito nas diferentes estruturas oculares e da deposição de imunocomplexos circulantes nos vasos. Entre as alterações histopatológicas mais características encontra-se o infiltrado inflamatório granulomatoso que ocorre em resposta direta à presença do protozoário. O infiltrado é constituído predominantemente por macrófagos e quantidades variáveis de linfócitos, neutrófilos e células plasmáticas.

Com base nos resultados encontrados, a leishmaniose visceral canina deve ser incluída como suspeita clínica e diagnóstico diferencial de cães com sinais oculares e perioculares, principalmente, em áreas endêmicas.

## REFERÊNCIAS

- ALVAR, J.; CAÑAVATE, C.; MOLINA, R.; MORENO, J.; NIETO, J. Canine leishmaniasis. **Advances in Parasitology**, v. 57, p. 1-88, 2004.
- ALVES, W. A. Controle da leishmaniose visceral baseado no reservatório canino. In: **Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las Américas**, 2005, Brasília. *Informe final de la reunion de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis em las Américas*. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de salud, p. 94-97, 2006.
- AMUSATEGUI, I.; SAINZ, A.; RODRÍGUEZ, F.; TESOURO, M. A. Distribution and relationships between clinical and biopathological parameters in canine leishmaniasis. **European Journal of Epidemiology**, v. 18, n. 2, p. 147-156, 2003.
- AROCH, I.; OFRI, R.; SUTTON, G. A. Ocular manifestations of systemic disease. In: OFRI, R.; MAGGS, D.; MILLER, P. B. **Slatter's Fundamentals of Veterinary Ophthalmology**. Philadelphia: Elsevier, p. 374-418, 2007.
- ASHFORD, R.W. Leishmaniasis reservoirs and their significance in control. **Clinics in Dermatology**, v. 14, n. 5, p. 523-532, 1996.
- BARBIÉRI, C. L. Immunology of canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 28, n. 7, p. 329-337, 2006
- BATES, P. A. The developmental biology of *Leishmania* promastigotes. **Experimental Parasitology**, v. 79, p. 215-218, 1994.
- BERRAHAL, F.; MARY, C.; ROZE, M.; BERENGER, A.; ESCOFFIER, K.; LAMOUREUX, D.; DUNAN, S. Canine leishmaniasis: Identification of asymptomatic carriers by polymerase chain reaction and immunoblotting. **The American Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 3, p. 273-277, 1996.
- BRITO, F. L. C.; ALVES, L. C.; MAIA, F. C. L.; ALBUQUERQUE, A. R.; ORTIZ, J. P. D.; LAUS, J. L. Amastigotas forms resembling *Leishmania* sp. on corneal ulceration in a dog: case report. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 59, n. 1, p. 81-84, 2007.
- BRITO, F. L. C.; ALVES, L. C.; MAIA, F. C. L.; SANTOS, E. S. C.; LAUS, J. L.; MEUNIER, I. M. J. Ocular alterations in dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v. 58, n. 5, p. 768-775, 2006.
- BRITO, F. L. C.; ALVES, L. C.; ORTIZ, J. P. D.; MAIA, F. C. L.; JÚNIOR, V. A. S.; LAUS, J. L. Uveitis associated to the infection by *Leishmania chagasi* in dog from the Olinda city, Permambuco, Brazil. **Ciência Rural**, v. 34, n. 3, p. 925-929, 2004.

CARDOSO, L.; RODRIGUES, M.; SANTOS, H.; SCHOONE, G. J.; CARRETA, P.; VAREJÃO, E.; VAN BENTHEM, B.; AFONSO, M. O.; ALVES-PIRES, C.; SEMIÃO-SANTOS, S. J.; RODRIGUES, J.; SCHALLING, H. D. Sero-epidemiological study of canine *Leishmania* spp. infection in the municipality of Alijó (Alto Douro, Portugal). **Veterinary Parasitology**, v. 121, p. 21–32, 2004.

CIARAMELLA, P.; OLIVA, G.; De LUNA, R.; GRADONI, L.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.; SCALONE, A.; PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v. 141, n. 21, p. 539-543, 1997.

COSTA, C. A.; GENARO, O.; LANA, M.; MAGALHÃES, P. A.; DIAS, M.; MICHALICK, M. S. M.; MELO, M. N.; COSTA, R. T.; MAGALHÃES-ROCHA, N. M.; MAYRINK, W. Leishmaniose visceral canina: avaliação da metodologia sorológica utilizada em inquéritos epidemiológicos. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 24, p. 21-25, 1991

COSTA, F. A. L.; GOTO, H.; SALDANHA, L. C. B.; SILVA, S, M. M. S.; SINHORINI, I. L.; SILVA, T. C.; GUERRA, J. L. Histopathologic Patterns of Nephropathy in Naturally Acquired Canine Visceral Leishmaniasis. **Veterinary Pathology**, v. 40, p. 677-684, 2003.

COURTENAY, O.; QUINNELL, R. J.; GARCEZ, L. M.; SHAW, J. J.; DYE, C. Infectiousness in a cohort of Brazilian dogs: why culling fails to control visceral leishmaniasis in areas of high transmission. **The Journal of Infectious Diseases**, v. 186, p. 1314-1320, 2002.

CRISPIN, S. M. **Notes on veterinary ophthalmology**. New Jersey: Blackwell Science, 2005, 372 p.

CUPOLILLO, E. Avanços dos estudos moleculares de *Leishmania (Leishmania) chagasi* aplicados ao diagnóstico de LV no Brasil. In: **Consulta de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis visceral en las Américas**, 2005, Brasília. *Informe final de la reunion de expertos OPS/OMS sobre leishmaniasis em las Américas*. Rio de Janeiro: Organización Panamericana de salud, p. 57-62, 2006.

DALMA-WEISZHAUSZ, J.; DALMA, A. The uvea in ocular trauma. **Ophthalmology Clinics of North America**, v. 15, p. 205-213, 2000.

DANTAS-TORRES, F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Visceral leishmaniasis in Brazil: revisiting paradigms of epidemiology and control. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, São Paulo, v. 48, n. 3, p. 151-156, 2006.

DESJEUX, P. Leishmaniasis: Public Health Aspects and Control. **Clinics in Dermatology**, v. 14, n. 5, p. 417-423, 1996.

DESJEUX, P. The increase in risk factors for leishmaniasis worldwide. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 95, n. 3, p. 239-243, 2001.

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

DZIEZYC, J. Canine systemic bacterial infections. **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 30, n. 5, p. 1103-1117, 2000.

FERRER, L.; RABANAL, R.; FONDEVILA, D.; RAMOS, J. A.; DOMINGO, M. Skin lesions in canine leishmaniasis. **Journal of Small Animal Practice**, v. 29, p. 381-388, 1988.

FERRER, L. The pathology of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2, 2002, Sevilha, **Proceedings of ...Spain** 100p. p. 21-24.

FRANCA-SILVA, J. C.; Da Costa, R. T.; SIQUEIRA, A. M.; MACHADO-COELHO, G. L. L.; Da COSTA, C. A.; MAYRINK, W.; VIEIRA, E. P.; COSTA, J. S.; GENARO, O.; NASCIMENTO, E. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 111, p. 161-173, 2003.

FULGÊNCIO, G. O.; SILVA, M. A. P.; BORGES, K. D. A.; BARBOSA, E. B.; VIANA, F. A. B. Ceratoconjuntivite seca em três cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista Universidade Rural Série Ciência Vida**. Seropédica, Rio de Janeiro, ed. Universidade Rural, v. 25, suplemento, 2005.

FULGÊNCIO, G. O. **Prevalência de oftalmopatias em cães naturalmente infectados com *Leishmania (Leishmania) chagasi* no município de Belo Horizonte – Estudo clínico e histopatológico**. 2006. 48f. Dissertação (Mestrado em Clínica e Cirurgia) – Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2006.

GARCÍA-ALONSO, M.; BLANCO, A.; RINA, D. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v. 18, n. 12, p. 617-623, 1996.

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

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, n.3, p. 388-349, 2004.

GRADONI, L. The diagnosis of canine leishmaniasis. In: INTERNACIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2002. Sevilha, **Proceedings of...Spain** 100p. p. 7-14.

HENDRIX, D. V. H. Disease and surgery of the canine anterior uvea. In: GELATT, K. N.; GILGER, B. C.; KERN, T. J. **Veterinary Ophthalmology**. Chichester: Willey-Blackwell, p. 1146-1198, 2013.

HERVÁS, J.; CHACÓN-MANRIQUE DE LARA, F.; LÓPEZ, J.; GÓMEZ-VILLAMANDOS, J. C.; GUERRERO, M-J.; MORENO, A. Granulomatous (pseudotumoral) iridocyclitis associated with leishmaniasis in a cat. **Veterinary Record**, v. 149, p.624-625, 2001.

KILLICCK-KENDRICK, R. The life-cycles of *Leishmania* in the sand fly and transmission of leishmaniasis by bite. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2, 2002, Sevilha, **Proceedings of ...Spain** 100p. p. 57-68.

KOUTINAS, A. F.; POLIZOPOULOU, Z. S.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; ARGYRIADIS, D.; FYTIANOU, A.; PLEVRAKI, K. G. Clinical considerations on canine visceral leishmaniasis in Greece: A retrospective study of 158 cases (1989-1996). **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 35, n. 5, p. 376-383, 1999.

KOUTINAS, A. F.; SCOTT, D. W.; KANTOS, V.; LEKKAS, S. Skin lesions in canine leishmaniasis (Kala-Azar): A clinical and histopathological study on 22 spontaneous cases in Greece. **Veterinary Dermatology**, v. 3, n. 3, p. 121-130, 1992.

LAINSON, R.; RANGEL, E. F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – a Review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 100, p. 811-827, 2005.

LEIVA, M.; LLORET, A.; PEÑA, T.; ROURA, X. Therapy of ocular and visceral leishmaniasis in a cat. **Veterinary Ophthalmology**, n. 8, v. 1, p. 71-75, 2005.

LOPEZ, R.; LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P. J.; MARTIN, E.; MOLLEDA, J. M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medicine**, v.43, n. 8, p. 469-474, 1996.

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

MARTIN, C. L. Conjunctiva and Third Eyelid. In: MARTIN, C. L. **Ophthalmic disease in veterinary medicine**. London: Manson Publishing, p. 183-214, 2005.

MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J. S.; TOLEDO, L. M.; GRIMALDI-FILHO, G.; MOMEN, H.; PACHECO, R. S.; SABROZA, P. C.; SOUZA, M. A.; RANGEL-FILHO, F. B.; TRAMONTANO, N. C. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutic and epidemiological findings (1977-1983). 1986. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, p. 349-57, 1985.

MAURICIO, I. L.; GAUNT, M. W.; STODARD, J. R.; MILES, M. A. Genetic typing and phylogeny of the *Leishmania donovani* complex by restriction analysis of PCR amplified gp63 intergenic regions. **Veterinary Parasitology**, v. 122, p. 393-403, 2001.

MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, suplemento 1, p. 41-45, 2004.

MIGONE, L. E. Un caso de Kalazar em Assunción (Paraguay). **Bulletin Societe Pathologic Exotique**, v. 6, n. 2, p. 118-120, 1913.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 1. 120p.

MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; OLIVA, G.; BANETH, G. Canine leishmaniosis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part two. **Trends in Parasitology**, v. 24, n. 8, p. 371-377, 2008.

NARANJO, C.; FONDEVILA, C.; LEIVA, M.; ROURA, X.; PEÑA, T. Detection of *Leishmania* spp. and associated inflammation in ocular-associated smooth and striated muscles in dogs with patente leishmaniosis. **Veterinary Ophthalmology**, v. 13, n. 3, p. 139-143, 2010.

NARANJO, C.; FONDEVILA, D.; LEIVA, M.; ROURA, X.; PEÑA, T. Characterization of lacrimal gland lesion and possible pathogenic mechanisms of keratoconjunctivitis sicca in dogs with leishmaniosis. **Veterinary Parasitology**, v. 133, n. 1, p. 37-47, 2005.

NICOLLE C.; COMTE C. Origine du Kala azar. **Academy of Science**, v. 146, p. 789, 1908.

NOGUEIRA, F. S. **Avaliação clínico-laboratorial de cães naturalmente infectados por leishmaniose visceral, submetidos à terapia com anfotericina B**. 2007.138f . Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.

OLIVER, M.; GREGORY, D. J.; FORGET, G. Subversion mechanisms by wich *Leishmania* parasites can escape the host immune responses: a signaling point of view. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 18, n. 2, p. 293-305, 2005.

PEÑA, M. T.; ROURA, X.; DAVIDSON, M. G. Ocular and periocular manifestations of leishmaniasis in dog: 105 cases (1993-1998). **Veterinary Ophthalmology**, v. 3, n. 1, p. 35-41, 2000.

PEÑA, M. T.; NARANJO, C.; KLAUSS, G.; FONDEVILA, D.; LEIVA, M.; ROURA, X.; DAVIDSON, M. G.; DUBIELZIG, R. R. Histopathological features of ocular leishmaniosis in the dog. **Journal of Comparative Pathology**, v. 138, p. 32-39, 2008.

PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, v. 48, p. 949-950, 1934.

PIETRO, S.; BOSCO, V. R. F.; CRINÒ, C.; FRANCAVIGLIA, F.; GIUDICE, E. Prevalence, type, and prognosis of ocular lesions in shelter and owned-client dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary World**, v. 9, n. 6, p. 633-637, 2016.

PLEVRAKI, K.; KOUTINAS, A. F.; KALDRYMIDOU, H.; ROUMPIES, N.; PAPAZOGLU, L. Ç.; SARIDOMICHELAKIS, M. N.; SAVVAS, I.; LEONDIDES, L. Effects of allopurinol treatment on the progression of chronic nephritis in canine leishmaniosis (*Leishmania infantum*). **Journal of Veterinary Internal Medicine**, v. 20, p. 228-233, 2006.

PUMAROLA, M.; BREVICK, L.; BADIOLA, J.; VARGAS, A.; DOMINGO, M.; FERRER, L. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v. 105, p. 279-286, 1991.

- QUEIROZ, M. J. A.; ALVES, J. G. B.; CORREIA, J. B. Leishmaniose visceral: características clínicas e epidemiológicas das crianças em uma área endêmica. **Jornal Pediatria**, v. 80, n. 2, p. 141-146, 2004.
- REY, L. Bases da Parasitologia Médica, 2ª ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. p. 349p.
- RIOUX, J. A.; LANOTTE, G.; SERRES, E.; PRATLONG, F.; BASTIEN, P.; PERIERES, J. Taxonomy of *Leishmania*. use of isoenzymes. Suggestions for a new classification. **Annales de Parasitologie Humaine et Comparee**, v. 65, n. 3, p. 111-125, 1990.
- ROZE, M. Manifestations conjonctivales at cornéennes de la leishmaniose. **Pratique Medecine et Chirurgie**, v. 4, p. 245-255, 1986.
- SACKS, D.; KAMHAWI, S. Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. **Annual Review of Microbiology**, v. 55, p. 453-483, 2001.
- SAVANI, E. S. M. M.; CAMARGO, M. C. G. O.; CARVALHO, M. R.; ZAMPIERI, R. A.; SANTOS, M. G.; D'ÁURIA, S. R. N.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. The first record in the Americas of an autochthonous case of *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* in a domestic cat (*Felix catus*) from Cotia County, São Paulo State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, v. 120, p. 229-233, 2004.
- SHERLOCK, I. A.; MIRANDA, J. C.; SADIGURSKI, M.; GRIMALDI Jr, G. Observações sobre o calazar em Jacobina, Bahia: IV-Investigações sobre reservatórios silvestres e comensais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 21, n. 1, p. 23-27, 1988.
- SIDERIS, V.; PAPADOPOULOU, G.; DOTSIKA, E.; KARAGOUNI, E. Asymptomatic canine leishmaniasis in Greater Athens area, Greece. **European Journal of Epidemiology**, v. 15, p. 271-276, 1999.
- SILVA, F. S. Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina. **Revista Trópica – Ciências Agrárias e Biológicas**, v. 1, n. 1, p. 20-31, 2007.
- SLAPPENDEL, R. J. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in the Netherlands. **Veterinary Quartely**, v. 10, n. 1, p. 1-16, 1988.
- SOARES, M. B. P.; TITUS, R. G.; SHOEMAKER, C. B.; DAVID, J. R.; BROZZA, M. The vasoactive peptide maxadilan from sand fly saliva inhibits TNF- $\alpha$  and induces IL-6 by mouse macrophage through interaction with the pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (PACAP) receptor. **Journal of Immunology**, v. 160, p. 1811-1816, 1998.
- SOLANO-GALLEGO, L.; KOUTINAS, A.; MIRÓ, G.; CARDOSO, L.; PENNISI, M. G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 165, p. 1-18, 2009.
- TOWNSEND, W. M. **Veterinary Clinics Small Animal Practice**, v. 38, p. 323-346, 2008.

VAN DER WOERDT, A. Management of intraocular inflammatory disease. **Clinical Techniques in Small Animal Practice**, v. 16, n. 1, p. 58-61, 2001.

WOLF, A. Systemic mycoses. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 194, p. 1192-1196, 1989.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Control of the leishmaniasis. *Technical Report Series*, v. 793, p. 50-52, 1990.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of leishmaniasis. WHO, 2007. Disponível em: < [http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/22438/1/A60\\_10-en.pdf](http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/22438/1/A60_10-en.pdf)>. Acesso em: 25/10/2017.

WOUK, A. F. P.; SOUZA, S. L. P.; FARIAS, M. R. Afecções dos anexos oftálmicos. In: LAUS, J. L. **Oftalmologia clínica e cirúrgica em cães e gatos**. São Paulo: Roca, 2007, p. 33-68.

ZAFFARONI, E.; RUBAUDO, L.; LANFRANCHI, P.; MIGNONE, W. Epidemiological patterns of canine leishmaniasis in Western Liguria. **Veterinary Parasitology**, v. 81, p. 11-19, 1999.