



## Artrosis erosiva canina asociada con *Leishmania* spp

### Canine erosive arthrosis associated with *Leishmania* spp

DOI:10.54022/shsv3n1-041

Recebimento dos originais: 23/02/2022  
Aceitação para publicação: 07/03/2022

---

#### María José Tintel Astigarraga

Especialista em diagnostico anatomohistopatologico veterinario  
Institución: CEV- Centro de Especialidades Veterinarias  
Dirección: Del Mestro 608  
Correo electrónico: tintelvet@gmail.com

#### Verónica Paola Arze Selich

Magister em melhora genetica  
Institución: CEDIC- Centro para el Desarrollo de la Investigación Científica  
Dirección: Manduvira 635  
Correo electrónico: pao.aussie@gmail.com

---

#### RESUMEN

La leishmaniasis es una enfermedad parasitaria causada por protozoos del género *Leishmania*. Está clasificada como una enfermedad tropical desatendida (NTD). Se transmiten por la picadura de flebotomos y pueden afectar a varias especies de animales, incluido el hombre, que son reservorios naturales de los parásitos *Leishmania*. El mecanismo patogénico de la enfermedad está estrechamente relacionado con el sistema inmunitario del canino. Las alteraciones articulares pueden generarse por una respuesta inflamatoria local por acción directa del parásito a nivel articular y por el depósito de inmunocomplejos circulantes en la articulación, desencadenando una reacción de hipersensibilidad tipo III. Este artículo presentará casos de artrosis erosiva en caninos y la implicación de la leishmaniasis como potencial agente inmunológico degenerativo.

**Palabras clave:** leishmaniasis, canino, artrosis, inmunocomplejos.

#### ABSTRACT

Leishmaniasis is a parasitic disease caused by protozoa of the genus *Leishmania*. It is classified as a neglected tropical disease (NTD). They are transmitted by the bite of phlebotomine sand flies, and can affect several species of animals, including humans, which are natural reservoirs of *Leishmania* parasites. The pathogenic mechanism of the disease is closely related to the canine's immune system. Joint alterations can be generated by a local inflammatory response by direct action of the parasite at the joint level and through the deposition of circulating immune complexes in the joint, triggering a type III hypersensitivity reaction. This article will present cases of erosive osteoarthritis in canines and the implication of leishmaniasis as a potential degenerative immunological agent.



**Keywords:** leishmaniosis, dog, arthrosis, immune complex.

## 1 INTRODUCCIÓN

La leishmaniosis se enmarca dentro del grupo de enfermedades tropicales desatendidas (NTDs: neglected tropical diseases), debido a su asociación con la pobreza y a la escasez de recursos disponibles para su control, diagnóstico y tratamiento. Factores como la malnutrición, la mala condición de las viviendas, la falta de higiene, la inmunodepresión, la coinfección con VIH y la falta de atención sanitaria predisponen a padecer esta enfermedad en países en vías de desarrollo. Además, la industria farmacéutica no ha logrado desarrollar nuevos fármacos eficaces incrementando la dificultad en el control de esta enfermedad (Desjeux, 2004; Dujardin et al., 2008). La Leishmaniasis antroponótica (*L. donovani* y *L. tropica*), en la cual el ser humano actúa como reservorio de la enfermedad, es de especial importancia, ya que causa epidemias frecuentes y mortales, fundamentalmente en regiones del Sudeste Asiático y en el este de África. (Desjeux, 2004; Alvar et al., 2012).

Esta enfermedad parasitaria está causada por protozoos del género *Leishmania*, que son transmitidos a los humanos y animales por insectos hematófagos, los flebótomos. La Leishmaniosis es endémica en más de 80 países en todo el mundo, estando presente en regiones del sur de Europa, África, Asia, Sudamérica y Centroamérica. Hoy en día, se considera que *L. infantum*, el agente etiológico de la leishmaniosis visceral zoonótica en el Viejo Mundo, y *L. chagasi*, su homólogo en el Nuevo Mundo. El perro (*Canis familiaris*) es el principal reservorio para los humanos y otros animales.

### 1.1 EL PARÁSITO

Dentro del Reino Protista, el género *Leishmania* se encuentra incluido en la Clase Zoomastigophorea, correspondiente a los protozoos flagelados que carecen de actividad fotosintética. (Cavalier-Smith, 1998).

Dentro del género *Leishmania* se describen dos subgéneros en función del lugar de reproducción en el tracto digestivo del vector (Lainson y Shaw, 1987): subgénero *Leishmania*, con multiplicación del intestino medio de los flagelados y presente tanto en el Viejo Mundo como en el Nuevo Mundo, y subgénero *Viannia*,



con multiplicación en el intestino distal y restringida al Nuevo Mundo. (WHO, 2010).

## 1.2 EL VECTOR

Los flebótomos son vectores competentes de *Leishmania* en el mundo, las hembras son los únicos insectos capaces de transmitir las especies del género *Leishmania* conocidas (Killick-Kendrick, 1990). Se han identificado 98 especies de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia* como vectores confirmados o sospechosos de leishmaniosis canina y humana (Maroli et al., 2013).

La mayoría de las especies de flebotomos analizadas hasta el momento permiten que múltiples especies de *Leishmania* maduren en su intestino medio, denominándose por tanto “vectores permisivos” (Volf y Myskova, 2007). Esta amplia competencia vectorial es muy importante desde el punto de vista epidemiológico y debe tenerse en cuenta a la hora de estimar el riesgo de aparición de nuevos focos de leishmaniosis y la transmisión en zonas no endémicas.

## 1.3 CICLO BIOLÓGICO DE *LEISHMANIA* SPP

El ciclo biológico de *Leishmania* es asexual y heteroxeno, es decir, tiene lugar en dos hospedadores diferentes, uno intermedio que actúa como vector, y un hospedador definitivo. Se trata de un ciclo de vida digenético, con una forma de promastigote móvil y flagelada, localizada en el tubo digestivo del hospedador invertebrado (Killick-Kendrick, 1990) y una forma inmóvil y aflagelar o amastigote, que afecta al hospedador vertebrado, localizándose principalmente en los macrófagos. Cuando la hembra de flebótomo infectada regurgita sangre en un hospedador vertebrado inyecta junto con su saliva los promastigotes metacíclicos presentes en su proboscis. Una vez en los capilares cutáneos del punto de inoculación del vertebrado, los parásitos son fagocitados por los macrófagos, quedando incluidos en una vacuola parasitófora con el fin de eliminarlos mediante la síntesis y liberación de diversas moléculas, destacando el papel leishmanicida del óxido nítrico (NO) (Holzmuller et al., 2006). En ella, los parásitos evaden las reacciones inmunológicas inespecíficas del macrófago y 12-24 horas tras la inoculación se transforman en amastigotes, (Sharma y Singh, 2008), los cuales se



multiplican por sucesivas fisiones binarias. Para asegurar la transmisión, el parásito ha desarrollado una serie de mecanismos capaces de alterar el comportamiento del vector (Rogers y Bates, 2007), de manera que el vector infectado con promastigotes metacíclicos (fase infectante) ingiere sangre un mayor número de veces y durante más tiempo, optimizando así la transmisión. Tras la multiplicación dentro de los macrófagos infectados, estos se lisarán y permitirán la liberación del parásito en forma de amastigotes, pudiendo ser fagocitados por macrófagos o neutrófilos y favorecer, por tanto, la diseminación del parásito y alcanzar diversos órganos del sistema linfohematopoyético, como MO, LN, bazo e hígado, entre otros. (Antoine et al., 1990).

La progresión de la enfermedad dependerá de la virulencia del parásito, de la dosis infectante inoculada por el vector y de condiciones del hospedador infectado (eficacia de la respuesta inmune, condiciones socioeconómicas y predisposición genética) (Alvar et al., 2004; Reithinger et al., 2007).

#### 1.4 VÍAS DE TRANSMISIÓN DE LA LEISHMANIOSIS

Algunos autores han evaluado la capacidad vectorial de otros artrópodos hematófagos, como ixódidos de la especie *Rhipicephalus sanguineus* (Coutinho et al., 2005), pulgas de la especie *Ctenocephalides felis* (Coutinho y Linardi, 2007; Ferreira et al., 2009), y más recientemente la “mosca del caballo” *Tabanus importunus* (Coelho y Bresciani, 2013), y *Culicoides* spp. (Slama et al., 2014), sin haberse demostrado experimentalmente su papel en la transmisión natural de *Leishmania*.

La transmisión vertical (transplacentaria o lactogénica) se ha demostrado en perros con infección natural por *L. infantum* en regiones endémicas (da Silva et al., 2009; Pangrazio et al., 2009), no endémicas (Rosypal et al., 2005b; Boggiatto et al., 2011; Naucke y Lorentz, 2012) y en una Beagle infectada experimentalmente (Rosypal et al., 2005). El suministro de sangre de la placenta está en estrecho contacto con la circulación materna, pudiendo pasar los macrófagos infectados a la circulación fetal (Rosypal y Lindsay, 2005). Durante la gestación, la inmunosupresión es necesaria para prevenir reacciones inmunes contra los antígenos fetales. Por tanto, el cambio “fisiológico” de respuesta inmune Th1 a Th2 que se produce durante la gestación puede aumentar la gravedad del



cuadro clínico, así como el riesgo de transmisión congénita. (Rosypal et al., 2005b). En regiones endémicas, se desconoce la frecuencia de transmisión vertical debido a la elevada probabilidad de contacto con el vector (Mancianti et al., 1988). La transmisión vertical también se ha descrito en humanos, incluso a partir de madres asintomáticas (Pagliano et al., 2005; Boehme et al., 2006), y experimentalmente en ratones (Rosypal y Lindsay, 2005).

Otra vía de transmisión de la enfermedad en perros es la venérea (Silva et al., 2009; Naucke y Lorentz, 2012). Riera y Valladares (1996) demostraron la presencia de *Leishmania* spp. en el semen de un perro infectado. La transfusión de sangre de animales infectados también es una vía de transmisión a tener en cuenta (Owens et al., 2001), teniendo vital importancia en zonas donde los donantes de sangre podrían ser portadores de la infección (Owens et al., 2001; de Freitas et al., 2006; Tabar et al., 2008).

## 2 INMUNOPATOLOGÍA

### 2.1 RESPUESTA INMUNITARIA INNATA

Cuando una hembra de flebótomo pica a un hospedador vertebrado, tras la inoculación intradérmica, ésta ingiere sangre y se produce una reacción inflamatoria cutánea local, en la que intervienen células centinelas de la piel, como las células dendríticas (CD), linfocitos T y  $\delta$  y macrófagos (Teixeira et al., 2006). Estas células contienen receptores Toll-like (TLR) en su superficie, capaces de reconocer patrones moleculares conservados (PAMP) asociados a patógenos (Janeway y Medzhitov, 2002; Tuon et al., 2008). Durante este proceso se liberan una serie de quimioquinas que inducen el reclutamiento de neutrófilos y células natural killer (NK), seguidos de una oleada de macrófagos, iniciando la cascada de la respuesta inmunitaria innata para combatir los parásitos en el lugar de la infección (Santos-Gomes et al., 2000; Teixeira et al., 2006). Las quimioquinas y las células reclutadas durante las primeras fases de la infección podrían condicionar la resistencia a la enfermedad (Teixeira et al., 2006). La saliva de los flebótomos contiene moléculas bien caracterizadas con efecto no sólo anticoagulante y antiinflamatorio, sino también inmunomodulador (Sacks y Kamhawi, 2001) así como otras moléculas no caracterizadas que, en menos de dos horas tras la inoculación atraen neutrófilos, monocitos y macrófagos (Anjili et



al., 1995; Zer et al., 2001; Silva et al., 2005). Inicialmente, los parásitos se enfrentan a moléculas del complemento, anticuerpos y células fagocíticas, que serán capaces de destruir hasta el 80% de los promastigotes (Lewis y Peters, 1977). La supervivencia de los parásitos es posible mediante la invasión de la célula diana, el macrófago, de lo contrario serían rápidamente destruidos por el sistema del complemento (de Almeida et al., 2003), neutrófilos y células NK. Los neutrófilos son las primeras células en llegar al punto de inoculación y predominan durante los primeros días post-infección, se infectan y pueden destruir los parásitos o ser fagocitados por los macrófagos cutáneos (de Almeida et al., 2003). No obstante, la afluencia temprana de neutrófilos ha demostrado ser beneficiosa para la supervivencia de *Leishmania* en el tejido infectado, utilizando los granulocitos como un “caballo de Troya” para alcanzar sus células diana de manera “silente” pasando desapercibidos (Laskay et al., 2003). En perros susceptibles la actividad fagocítica de los neutrófilos está aumentada pero su capacidad para eliminar los parásitos intracelulares está suprimida (Brandonisio et al., 1996). Los macrófagos son los segundos en llegar al punto de entrada de la *Leishmania*. Entre sus múltiples funciones destacan su papel como: células diana para la replicación del parásito, ser células presentadoras de antígenos (CPA) y fuente de citoquinas moduladoras de la respuesta inmune mediada por linfocitos T (LT). Además, tras ser activadas por LTh1 son capaces de provocar la muerte parasitaria intracelular (Teixeira et al., 2006). Las células NK llegan al punto de entrada 24 horas tras la inoculación (Müller et al., 2001), producen IFN- $\gamma$ , y su actividad temprana podría influir en la cinética de la respuesta Th1 (Teixeira et al., 2006). Las CD de la piel, potentes CPA, también se infectan, ya que los parásitos son inoculados en la dermis, donde se encuentran estas células (Ferrer, 2002). Mediante una activación regulada por el CMH I y II, las CD transportan los parásitos desde la piel infectada hasta los LN presentándolos a LT antígeno-específicos (Moll, 2000). Las células de Langerhans (CL), presentes en la epidermis, también pueden infectarse si los amastigotes viajan en dirección inversa a la epidermis, o durante la migración de dichas células de la sangre a la piel. Tanto las CD como las CL, al igual que los macrófagos, transportan los amastigotes a los LN regionales para presentar sus antígenos a los LT, a través de moléculas del CMH, que en perros resistentes están muy implicadas en el



desarrollo de la inmunidad celular (Ferrer, 2002; Sacchi et al., 2006). Los promastigotes metacíclicos deben evadir en primer lugar la lisis mediada por el complemento, para posteriormente adherirse a los receptores de los macrófagos. Posteriormente, son fagocitados y localizados en el interior de una vacuola parasitófora (Rittig y Bogdan, 2000; Ferrer, 2002; Bañuls et al., 2007). En los perros susceptibles, la capacidad fagocítica de estas células es reducida, debido probablemente, a la formación de inmunocomplejos (IC) (Brandonisio et al., 1986; Brandonisio et al., 1990). Los macrófagos transportan los parásitos, primero a los LN regionales, y después al resto del organismo. Esta diseminación dependerá de la resistencia del hospedador, de manera que en animales susceptibles la diseminación puede ocurrir en horas, mientras que en animales resistentes pueden permanecer confinados en la piel y LN regionales (Ferrer, 2002). Además del transporte, los macrófagos presentan los antígenos del parásito a los LT, mediante las moléculas del CMH (Ferrer, 2002).

## 2.2 RESPUESTA INMUNITARIA ADQUIRIDA

### 2.2.1 Respuesta inmunitaria de base celular

La inmunidad protectora en la Leishmaniosis está muy probablemente mediada por la acción del factor de necrosis tumoral alfa (FNT-  $\alpha$ ), la interleuquina 2 (IL-2) y el interferón gamma (IFN- $\gamma$ ) secretados por los LT activados, para a su vez activar la función leishmanicida de los macrófagos a través de la producción de NO, responsable de la muerte parasitaria intracelular mediante apoptosis a través de la activación de la enzima óxido nítrico sintetasa (iNOS) (Holzmuller et al., 2006). Estudios recientes han demostrado que el índice de apoptosis está directamente relacionado con la carga parasitaria, la intensidad de la respuesta inflamatoria y la gravedad del cuadro clínico (Verçosa et al., 2012). Parece ser que el IFN- $\gamma$  producido por los PMNN estimulados, es insuficiente por sí solo para producir una respuesta eficaz frente al parásito, siendo necesarios otros co-factores, como el FNT-  $\alpha$  (Carrillo y Moreno, 2009). Los macrófagos infectados son lisados por LT citotóxicos CD8+ en un proceso regulado por el CMH, el cual se suprime en perros enfermos con una carga parasitaria elevada (Pinelli et al., 1994; De Luna et al., 1999). En perros asintomáticos, con baja carga parasitaria, prevalecen los LT CD8+ (Reis et al., 2006b; Guerra et al., 2009). Los macrófagos



portan los amastigotes fagocitados desde la piel hasta los LN, exponiendo los antígenos a los LT, activándolos. Los LT migran vía hemolinfática a la zona afectada, favoreciendo la respuesta inmunitaria. Existen dos tipos de respuesta mediada por los LT, una respuesta celular Th1 asociada a la inmunidad protectora y otra respuesta humoral Th2 asociada a la progresión o susceptibilidad de la enfermedad (Baneth et al., 2008). En los perros que presentan una multiplicación descontrolada y diseminación de los parásitos la producción de citoquinas inducidas por respuestas tanto Th1 como Th2 es baja (Santos-Gomes et al., 2002; Carrillo y Moreno, 2009). La ineficiente inmunidad celular presente en estos animales lleva a una inflamación granulomatosa compensatoria y una exacerbada inmunidad humoral, resultando en el depósito de IC en órganos diana y/o la generación elevada de anticuerpos no protectores (Martínez-Moreno et al., 1995; Koutinas y Koutinas, 2014).

### 2.2.2 Respuesta inmunitaria de base humoral

La Leishmaniosis se asocia con una respuesta humoral marcada, no protectora y con un control ineficaz de la infección. Existe una correlación positiva entre la concentración de anticuerpos IgG *Leishmania*-específicos, la carga parasitaria en los tejidos y el cuadro clínico en el animal (Oliva et al., 2006; Reis et al., 2006a; 2006c; Dos-Santos et al., 2008; Boggiatto et al., 2010). Diversos estudios han intentado encontrar una asociación entre los subtipos IgG1 e IgG2 con el tipo de respuesta Th y el cuadro clínico, pero no se ha alcanzado un consenso sobre si la respuesta inmune humoral está polarizada en la Leishmaniosis. Algunos autores describen una correlación negativa entre IgG1 con la aparición de signos clínicos en animales infectados (Vercammen et al., 2002; Cordeiro-da-Silva et al., 2003; de Freitas et al., 2012). En cuanto a las concentraciones séricas de IgG2, de Freitas et al. (2012) no observaron diferencias entre animales infectados clínicamente sanos y enfermos, mientras que otros autores (Leandro et al., 2001; Solano-Gallego et al., 2001c) hallaron niveles superiores de esta subclase en perros enfermos. Los resultados contradictorios obtenidos posiblemente se deban a la falta de especificidad de los reactivos comerciales y a la inconsistencia en la nomenclatura empleada (Day, 2007; Carson et al., 2010). Además, el uso de anticuerpos monoclonales ha





puesto de manifiesto que tanto IgG1 como IgG2 aumentan en los animales infectados sin mostrar asociación con la resistencia o susceptibilidad a la enfermedad (Quinnell et al., 2003a; Strauss-Ayali et al., 2007; Boggiatto et al., 2010). El papel perjudicial de la activación de LB y la superproducción de inmunoglobulinas producen la formación de IC compuestos por IgG y las fracciones C1, C2 y C4 del complemento (Makni et al., 1989). La hipergammaglobulinemia asociada produce, directa e indirectamente, alteraciones patológicas mediante la generación de auto-anticuerpos (trombocitopenia inmunomediada), anticuerpos anti-histonas (glomerulonefritis), y/o IC circulantes (vasculitis, uveítis, poliartritis) (Brandonisio et al., 1990; Lopez et al., 1996; Cortese et al., 2009; Alvar et al., 2004; Ginel et al., 2008). Dichos IC solubles también reducen la actividad fagocítica de los macrófagos y aumentan la inflamación mediada por la activación del complemento (Saridomichelakis, 2009).

### 2.2.3 Lesiones óseas y articulares

Son frecuentes en perros infectados con leishmaniosis, pueden ser debidas a poliartritis, polimiositis, lesiones óseas o ulceraciones en las almohadillas plantares (Drutz, et al., 1982; Turrel J, 1982; Wolschrijn, et al., 1996). A nivel óseo, se ha descrito osteomielitis granulomatosa secundaria a la distribución hemática de los parásitos y osteólisis (Santos et al., 2006). Radiográficamente los huesos afectados muestran lesiones proliferativas intramedulares y del periostio con osteólisis cortical y medular (Santos et al., 2006). La patología articular es muy frecuente, produciendo cojeras y poliartritis que pueden ser bilateral y simétrica, o tanto erosiva como no erosiva (Santos et al., 2006; Saridomichelakis, 2009).

### 2.2.4 Poliartritis en la leishmaniosis canina

Se proponen dos teorías sobre la etiología de la poliartritis en la Leishmaniosis canina: 1) la presencia de una elevada carga parasitaria provoca una sinovitis granulomatosa y 2) el depósito de IC en el líquido sinovial produce una reacción de hipersensibilidad tipo III que finalmente acaba atrayendo neutrófilos con la consiguiente destrucción articular mediante enzimas hidrolíticas. En la mayoría de los casos, no se detectan amastigotes de *L. infantum* en el aspirado del líquido sinovial, a no ser que haya un elevado número de parásitos



en la citología, por lo que debe incluirse esta infección en el diagnóstico diferencial de artritis inflamatorias. (Blavier et al. 2001).

En el estudio del líquido sinovial se observan resultados variables. En algunos casos es posible no encontrar alteraciones en los recuentos celulares; en otros casos, el número de células está incrementado. Se observan células mononucleares (linfocitos, macrófagos), y neutrófilos normales o degenerados en proporción variable (Buracco et al. 1997, Spreng, 1993); en todo caso, es característica la falta de constancia en el patrón celular que se obtiene del líquido sinovial en los distintos pacientes. A nivel de membrana sinovial, la alteración más constante es la sinovitis, con un grado de intensidad que varía desde un infiltrado de células predominantemente mononucleares (células plasmáticas, linfocitos y macrófagos), sin cambios proliferativos a nivel de las vellosidades, hasta sinovitis proliferativas con vellosidades hiperplásicas (Yamaguchi et al. 1983) y más raramente periostitis con áreas de osteólisis en hueso subcondral (Buracco et al. 1997). Las radiografías de las articulaciones afectadas acostumbran a ser normales. En algún caso se observa inflamación de los tejidos blandos periarticulares. Raramente se detecta alteración del periostio u osteólisis. (Wolschrijn et al. 1996).

### **2.2.5 Patogenia de la poliartritis**

La lesión principal en las poliartritis infecciosas es la sinovitis. El grado de lesión articular dependerá de la intensidad de la infección (masiva o de baja intensidad) también y de la duración del proceso. Como respuesta a la infección aparece en primer lugar un aumento de la permeabilidad vascular, seguido del infiltrado de células mononucleares en la capa de soporte, pero con poca presencia de polimorfonucleares neutrófilos (PMNN). Si la infección progresa, aumenta el infiltrado de PMNN, aparece proliferación de fibroblastos y en estadios avanzados puede aparecer degradación de cartílagos y finalmente incluso periostitis (Person et al. 1991). En las poliartritis inmunomediadas el proceso inflamatorio se desencadena por la acción de inmunocomplejos, a través de una reacción de hipersensibilidad de tipo III. En este caso, si bien se acepta la división entre formas no erosivas y erosivas hay que tener en cuenta que estos procesos son evolutivos y por lo tanto pueden evolucionar con el tiempo. Igualmente, un



mismo proceso es variable en cada paciente y puede evolucionar de forma diferente a pesar de presentar la misma etiología. Ello es debido a factores genéticos, diferencias en el sistema inmunitario o respuestas inapropiadas frente a diversos antígenos. Tanto en las poliartritis infecciosas como en las inmunomediadas, los mediadores de la inflamación son similares tanto en tipo como en cantidad, por lo que pueden provocar patrones morfológicos de destrucción articular parecidos. Asimismo, es posible que un mismo animal presente a la vez los dos tipos de poliartritis (Bennet 1995).

### 3 CASOS CLÍNICOS

Se describen cuatro perros que residían en establecimientos rurales en el departamento Central, ciudad de Asunción como animales de compañía.

Los perros fueron evaluados por signos clínicos osteoarticulares asociados con cojera intermitente y deformación macroscópica local de evolución progresiva según los propietarios. Los cuales, fueron sometidos a evaluación hematológica de rutina y radiografía regional. Tabla 1.

Los hallazgos radiográficos manifestaban signos de lisis ósea marcada, como patologías diferenciales se nombra artritis séptica o proceso neoplásico. Figs. 1, 2, 3, 4. Para ello, se procedió a evaluación citológica local por medio de aspirado con aguja fina (AAF), donde se confirmó proceso erosivo séptico con presencia de amastigotes de *Leishmania* spp. Fig. 5.

Tabla 1. Hallazgos clínicos de los pacientes caninos

Identificación	Raza	Sexo	Edad (años)	Signos clínicos
M1	Whippet	Hembra	10	Cojera intermitente inicial con evolución a cojera permanente del MPI, deformación local en la articulación del tarso.
M2	Pomerania	Macho	8	Cojera intermitente unilateral MAD, deformación local a nivel de la articulación del tarso.
M3	Mestiza	Hembra	7	Deformación local bilateral a nivel de la articulación del carpo, movilización en forma plantigrada.
M4	Bullterrier	Hembra	6	Cojera de evolución progresiva a nivel de la articulación del tarso MPD, deformación local a nivel articular.

MPI: miembro posterior izquierdo. MAD: miembro anterior derecho. MPD: miembro posterior derecho.



**Fig. 1. M1.** Rx articulación del tarso en vistas dorso-ventral con extensa zona de osteólisis en todas las líneas del tarso extendiéndose hasta las epifisis proximales de los metatarsianos



**Fig. 2. M2.** Rx del tarso y metatarso derecho proyección antero posterior. Signos de lisis ósea y solución de continuidad del astrágalo, marcada tumefacción sinovial.



**Fig. 3. M3.** Rx anteroposterior de miembros anteriores. Se identifican zonas de lisis ósea bilateral a nivel del carpo con evidente deformación plantigrada de las falanges.



**Fig. 4. M4.** Rx anteroposterior con signos de degeneración articular en articulación tibio- astragaliana derecha, asociado con efusión articular.

#### 4 DISCUSIÓN

Los dos mecanismos principales por los que se presentan poliartritis en la leishmaniosis son la acción directa del parásito a nivel articular y a través del depósito de inmunocomplejos circulantes en la articulación desencadenando una reacción de hipersensibilidad de tipo III. (Bennet, 1995).

Teniendo en cuenta los tipos de respuesta mediada por los LT, una respuesta humoral Th2 está asociada a la progresión o susceptibilidad de la enfermedad (Baneth et al., 2008). En los perros que presentan una multiplicación



descontrolada y diseminación de los parásitos, la producción de citoquinas inducidas por respuestas tanto Th1 como Th2 es baja (Santos-Gomes et al., 2002; Carrillo y Moreno, 2009). La ineficiente inmunidad celular presente en estos animales lleva a una inflamación granulomatosa compensatoria y una exacerbada inmunidad humoral, resultando en el depósito de IC y la generación elevada de anticuerpos no protectores (Martínez-Moreno et al., 1995; Koutinas y Koutinas, 2014).

Tanto en las poliartritis infecciosas como en las inmunomediadas, los mediadores de la inflamación son similares tanto en tipo como en cantidad, por lo que pueden provocar patrones morfológicos de destrucción articular parecidos. Asimismo, es posible que un mismo animal presente a la vez los dos tipos de poliartritis. (Bennet, 1995).

La presencia de dificultad en la locomoción en un paciente canino puede inducir la sospecha de una enfermedad inflamatoria degenerativa de la articulación o pueden confundirse con procesos neoplásicos. Por lo cual, es de vital importancia realizar un control citológico articular/ sinovial para determinar un diagnóstico definitivo y establecer el pronóstico para el paciente.



## REFERENCIAS

- Alvar, J., Cañavate, C., Molina, R., Moreno, J. and Nieto, J. (2004). Canine leishmaniasis. *Adv Parasitol*, 57, 1-88.
- Alvar, J., Vélez, I.D., Bern, C., Herrero, M., Desjeux, P., Cano, J., Jannin, J., den Boer, M. and Team, W.L.C. (2012). Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. *PLoS One*, 7, e35671.
- Anjili, C.O., Mbatia, P.A., Mwangi, R.W., Githure, J.I., Olobo, J.O., Robert, L.L. and Koech, D.K. (1995). The chemotactic effect of *Phlebotomus duboscqi* (Diptera: Psychodidae) salivary gland lysates to murine monocytes. *Acta Trop*, 60, 97-100.
- Baneth, G., Koutinas, A.F., Solano-Gallego, L., Bourdeau, P. and Ferrer, L. (2008). Canine leishmaniasis - new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. *Trends Parasitol*, 24, 324-330.
- Bañuls, A.L., Hide, M. and Prugnolle, F. (2007). *Leishmania* and the leishmaniasis: a parasite genetic update and advances in taxonomy, epidemiology and pathogenicity in humans. *Adv Parasitol*, 64, 1-109.
- Bennet D, May e. Joint diseases of dogs and cats. En: Ettinger-Feldman (Ed.). Textbook of Veterinary Internal Medicine 1995; 4th.ed, 2032-2077, W.B. Saunders Company, Philadelphia.
- Blavier A, Keroack S, Denerolle P, Goy-Thollot I, Chabanne L, Cadoré JL, Bourdoiseau G. (2001). Formas atípicas de leishmaniosis canina. *Vet J*, 162(2):108-20.
- Boehme, C. C., Hain, U., Novosel, A., Eichenlaub, S., Fleischmann, E. and Löscher, T. (2006). Congenital visceral leishmaniasis. *Emerg Infect Dis*, 12, 359-360.
- Boggiatto, P.M., Ramer-Tait, A.E., Metz, K., Kramer, E.E., Gibson-Corley, K., Mullin, K., Hostetter, J.M., Gallup, J.M., Jones, D.E. and Petersen, C.A. (2010). Immunologic indicators of clinical progression during canine *Leishmania infantum* infection. *Clin Vaccine Immunol*, 17, 267-273.
- Boggiatto, P.M., Gibson-Corley, K.N., Metz, K., Gallup, J.M., Hostetter, J.M., Mullin, K. and Petersen, C.A. (2011). Transplacental transmission of *Leishmania infantum* as a means for continued disease incidence in North America. *PLoS Negl Trop Dis*, 5, e1019.
- Brandonisio, O., Ceci, L., Cedola, M.C., Caretto, G., Antonaci, S. and Jirillo, E. (1986). Phagocytosis of *Leishmania infantum* promastigotes by monocytes isolated from Leishmania-infected dogs. *Microbiologica*, 9, 173-178.
- Brandonisio, O., Carelli, G., Altamura, M., Varvara, B. and Ceci, L. (1990). Circulating immune complexes and autoantibodies in canine leishmaniasis. *Parasitologia*, 32, 275-281.
- Buracco P, Abate O, Guglielmino R, and Morello, E. (1997). Osteomyelitis and



arthrosynovitis associated with *Leishmania donovani* infection in a dog. *J Small Anim Pract*, 38: 29-30.

Carrillo, E. y Moreno, J. (2009). Cytokine profiles in canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*, 128, 67-70.

Carson, C., Quinnell, R. J., Day, M.J. and Courtenay, O. (2010). Comparison of monoclonal and polyclonal antibodies for the detection of canine IgG1 and IgG2, and associations with infection outcome in *Leishmania infantum* naturally infected dogs. *Vet Immunol Immunopathol*, 133, 264-268.

Cavalier-Smith, T. (1998). A revised six-kingdom system of life. *Biol Rev Camb Philos Soc*, 73, 203-266.

Codner Ee. Infectious polyarthritis in the dog and cat. En: Kirk,R.(Ed.): Current Veterinary Therapy XI, pp 246-252, WB. Saunders, Philadelphia, 1992.

Coelho, W.M. and Bresciani, K.D. (2013). Molecular and parasitological detection of *Leishmania* spp. in a dipteran of the species *Tabanus importunus*. *Rev Bras Parasitol Vet*, 22, 605-607.

Cordeiro-da-Silva, A., Cardoso, L., Araújo, N., Castro, H., Tomás, A., Rodrigues, M., Cabral, M., Vergnes, B., Sereno, D. and Ouaiissi, A. (2003). Identification of antibodies to *Leishmania* silent information regulatory 2 (SIR2) protein homologue during canine natural infections: pathological implications. *Immunol Lett*, 86, 155-162.

Cortese, L., Sica, M., Piantedosi, D., Ruggiero, G., Pero, M.E., Terrazzano, G., Mastellone, V. and Ciaramella, P. (2009). Secondary immune-mediated thrombocytopenia in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *Vet Rec*, 164, 778-782.

Coutinho, M.T., Bueno, L.L., Sterzik, A., Fujiwara, R.T., Botelho, J.R., De Maria, M., Genaro, O. and Linardi, P.M. (2005). Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol*, 128, 149-155.

Coutinho, M.T. and Linardi, P.M. (2007). Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals?. *Vet Parasitol*, 147, 320-325.

Day, M.J. (2007). Immunoglobulin G subclass distribution in canine leishmaniosis: a review and analysis of pitfalls in interpretation. *Vet Parasitol*, 147, 2-8.

Da Silva, S.M., Ribeiro, V.M., Ribeiro, R.R., Tafuri, W.L., Melo, M.N. and Michalick, M.S. (2009). First report of vertical transmission of *Leishmania (Leishmania) infantum* in a naturally infected bitch from Brazil. *Vet Parasitol*, 166, 159-162.

De Almeida, M.C., Vilhena, V., Barral, A. and Barral-Netto, M. (2003). Leishmanial infection: analysis of its first steps. A review. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 98, 861-870.

De Freitas, J.C., Lopes-Neto, B.E., de Abreu, C.R., Coura-Vital, W., Braga, S.L.,





Reis, A.B. and Nunes-Pinheiro, D.C. (2012). Profile of anti-*Leishmania* antibodies related to clinical picture in canine visceral leishmaniasis. *Res Vet Sci*, 93, 705-709.

De Luna, R., Vuotto, M.L., Lelopo, M.T., Ambrosio, R., Piantedosi, D., Moscatiello, V., Ciaramella, P., Scalone, A., Gradoni, L. and Mancino, D. (1999). Early suppression of lymphoproliferative response in dogs with natural infection by *Leishmania infantum*. *Vet Immunol Immunopathol*, 70, 95-103.

Desjeux, P. (2004). Leishmaniasis: current situation and new perspectives. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 27, 305-318.

Dos-Santos, W.L., Jesus, E.E., Paranhos-Silva, M., Pereira, A.M., Santos, J.C., Baleeiro, C.O., Nascimento, E.G., Moreira, E.D., Oliveira, G.G. and Pontes-de-Carvalho, L.C. (2008). Associations among immunological, parasitological and clinical parameters in canine visceral leishmaniasis: Emaciation, spleen parasitism, specific antibodies and leishmanin skin test reaction. *Vet Immunol Immunopathol*, 123, 251-259.

Drutz DJ, Graybill JR. Infectious diseases. En: OP Stites, JO Stobo, HH Fudenberg y JV Wells Lange(Eds.): Basic and Clinical Immunology 4th Ed., pp 628-630, Medical Publications, Los Altos, 1982.

Dujardin, J.C., Campino, L., Cañavate, C., Dedet, J.P., Gradoni, L., Soteriadou, K., Mazeris, A., Ozbek, Y. and Boelaert, M. (2008). Spread of vector-borne diseases and neglect of Leishmaniasis, Europe. *Emerg Infect Dis*, 14, 1013-1018.

Ferrer, L. (2002). The pathology of canine leishmaniasis. En: Killick-Kendrick R ed. Canine Leishmaniasis: Moving towards a Solution. Proceedings of the 2nd International Canine Leishmaniasis Forum, 21-24. Sevilla, Spain, Invervet International BV.

Freitas, J.C., Nunes-Pinheiro, D.C., Lopes Neto, B.E., Santos, G.J., Abreu, C.R., Braga, R.R., Campos, M. and Oliveira, L.F. (2012). Clinical and laboratory alterations in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Rev Soc Bras Med Trop*, 45, 24-29.

Ginel, P.J., Camacho, S. and Lucena, R. (2008). Anti-histone antibodies in dogs with leishmaniasis and glomerulonephritis. *Res Vet Sci*, 85, 510-514.

Guerra, L.L., Teixeira-Carvalho, A., Giunchetti, R.C., Martins-Filho, O.A., Reis, A.B. and Corrêa-Oliveira, R. (2009). Evaluation of the influence of tissue parasite density on hematological and phenotypic cellular parameters of circulating leukocytes and splenocytes during ongoing canine visceral leishmaniasis. *Parasitol Res*, 104, 611- 622.

Holzmuller, P., Hide, M., Sereno, D. and Lemesre, J.L. (2006). *Leishmania infantum* amastigotes resistant to nitric oxide cytotoxicity: Impact on in vitro parasite developmental cycle and metabolic enzyme activities. *Infect Genet Evol*, 6, 187-197.



Janeway, C.A. and Medzhitov, R. (2002). Innate immune recognition. *Annu Rev Immunol*, 20, 197-216.

Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N. Diseases of joints, En: Pathology of domestic animals. 4th Edn., pp 138-181, Academic Press Inc., San Diego, California. 1991.

Killick-Kendrick, R. (1990). Phlebotomine vectors of the leishmaniasis: a review. *Med Vet Entomol*, 4, 1-24.

Koutinas, A.F. and Koutinas, C.K. (2014). Pathologic mechanisms underlying the clinical findings in canine leishmaniasis due to *Leishmania infantum/chagasi*. *Vet Pathol*, 51, 527-538

Lainson, R. and Shaw, J.J. (1987). Evolution, classification and geographical distribution. Peters, W. and Killick-Kendrick, R. (Eds.) The Leishmaniasis in Biology and Medicine, 1, 1-120.

Laskay, T., van Zandbergen, G. and Solbach, W. (2003). Neutrophil granulocytes-Trojan horses for *Leishmania major* and other intracellular microbes?. *Trends Microbiol*, 11, 210-214

Leandro, C., Santos-Gomes, G.M., Campino, L., Romão, P., Cortes, S., Rolão, N., Gomes-Pereira, S., Riça Capela, M.J. and Abranches, P. (2001). Cell mediated immunity and specific IgG1 and IgG2 antibody response in natural and experimental canine leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*, 79, 273-284.

Lewis, D.H. and Peters, W. (1977). The resistance of intracellular *Leishmania* parasites to digestion by lysosomal enzymes. *Ann Trop Med Parasitol*, 71, 295-312.

Lopez, R., Lucena, R., Novales, M., Ginel, P.J., Martin, E. and Molleda, J. M. (1996). Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. *Zentralbl Veterinarmed B*, 43, 469-474.

Makni, S., Ayed, K., Ben Said, M. and Ben Rachid, M.S. (1989). Study of circulating immune complexes during the evolution of visceral Mediterranean leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol*, 83, 349-355.

Mancianti, F., Gramiccia, M., Gradoni, L. and Pieri, S. (1988). Studies on canine leishmaniasis control. 1. Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Trans R Soc Trop Med Hyg*, 82, 566-567.

Maroli, M., Feliciangeli, M.D., Bichaud, L., Charrel, R.N. and Gradoni, L. (2013). Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniasis and other diseases of public health concern. *Med Vet Entomol*, 27, 123-147.

Martínez-Moreno, A., Moreno, T., Martínez-Moreno, F.J., Acosta, I. and Hernández, S. (1995). Humoral and cell-mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*, 48, 209-220.

Moll, H. (2000). The role of dendritic cells at the early stages of *Leishmania*



infection. *Adv Exp Med Biol*, 479, 163-173.

Molyneux, D. and Killick-Kendrick, R. (1987). The leishmaniasis in biology and medicine. W. Peters and R. Killick-Kendrick (eds). *Academic Press: London*, 1, 121- 176.

Müller, K., van Zandbergen, G., Hansen, B., Laufs, H., Jahnke, N., Solbach, W. and Laskay, T. (2001). Chemokines, natural killer cells and granulocytes in the early course of *Leishmania major* infection in mice. *Med Microbiol Immunol*, 190, 73-76.

Naucke, T.J. and Lorentz, S. (2012). First report of venereal and vertical transmission of canine leishmaniosis from naturally infected dogs in Germany. *Parasit Vectors*, 5, 67.

Oliva, G., Scalone, A., Foglia Manzillo, V., Gramiccia, M., Pagano, A., Di Muccio, T. And Gradoni, L. (2006). Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *J Clin Microbiol*, 44, 1318-1322.

Owens, S.D., Oakley, D.A., Marrayott, K., Hatchett, W., Walton, R., Nolan, T.J., Newton, A., Steurer, F., Schantz, P. and Giger, U. (2001). Transmission of visceral leishmaniasis through blood transfusions from infected English foxhounds to anemic dogs. *J Am Vet Med Assoc*, 219, 1076-1083

Pagliano, P., Carannante, N., Rossi, M., Gramiccia, M., Gradoni, L., Faella, F.S. and Gaeta, G.B. (2005). Visceral leishmaniasis in pregnancy: a case series and a systematic review of the literature. *J Antimicrob Chemother*, 55, 229-233.

Pangrazio, K.K., Costa, E.A., Amarilla, S.P., Cino, A. G., Silva, T. M., Paixão, T.A., Costa, L.F., Dengues, E.G., Diaz, A.A. and Santos, R.L. (2009). Tissue distribution of *Leishmania chagasi* and lesions in transplacentally infected fetuses from symptomatic and asymptomatic naturally infected bitches. *Vet Parasitol*, 165, 327-331.

Person JM, Quintin-Colonna F, Boulouis HJ. (1991). Les poly-arthrites immunologiques du chien. *Rec Med Vet*, 167.

Pinelli, E., Killick-Kendrick, R., Wagenaar, J., Bernadina, W., del Real, G. and Ruitenbergh, J. (1994). Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. *Infect Immun*, 62, 229-235.

Quinnell, R.J., Courtenay, O., Garcez, L.M., Kaye, P.M., Shaw, M.A., Dye, C. and Day, M.J. (2003a). IgG subclass responses in a longitudinal study of canine visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol*, 91, 161-168.

Reis, A.B., Martins-Filho, O.A., Teixeira-Carvalho, A., Carvalho, M.G., Mayrink, W., França-Silva, J.C., Giunchetti, R.C., Genaro, O. and Corrêa-Oliveira, R. (2006a). Parasite density and impaired biochemical/hematological status are



associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Res Vet Sci*, 81, 68-75.

Reis, A.B., Teixeira-Carvalho, A., Giunchetti, R.C., Guerra, L.L., Carvalho, M.G., Mayrink, W., Genaro, O., Corrêa-Oliveira, R. and Martins-Filho, O.A. (2006b). Phenotypic features of circulating leucocytes as immunological markers for clinical status and bone marrow parasite density in dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. *Clin Exp Immunol*, 146, 303-311.

Reis, A.B., Teixeira-Carvalho, A., Vale, A.M., Marques, M.J., Giunchetti, R.C., Mayrink, W., Guerra, L.L., Andrade, R.A., Corrêa-Oliveira, R. and Martins-Filho, O.A. (2006c). Isotype patterns of immunoglobulins: hallmarks for clinical status and tissue parasite density in Brazilian dogs naturally infected by *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Vet Immunol Immunopathol*, 112, 102-116.

Reithinger, R., Dujardin, J.C., Louzir, H., Pirmez, C., Alexander, B. and Brooker, S. (2007). Cutaneous leishmaniasis. *Lancet Infect Dis*, 7, 581-596.

Rogers, M.E. and Bates, P.A. (2007). *Leishmania* manipulation of sand fly feeding behavior results in enhanced transmission. *PLoS Pathog*, 3, e91

Rosypal, A.C., Troy, G.C., Duncan, R.B., Zajac, A.M. and Lindsay, D.S. (2005a). Utility of diagnostic tests used in diagnosis of infection in dogs experimentally inoculated with a North American isolate of *Leishmania infantum infantum*. *J Vet Intern Med*, 19, 802-809.

Rosypal, A.C., Troy, G.C., Zajac, A.M., Frank, G. and Lindsay, D.S. (2005b). Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. *J Parasitol*, 91, 970-972.

Sacchi, L., Calvi, L.E., Kramer, L.H., Ferroglio, E., Grandi, G., Clementi, E. and Corona, S. (2006). The intradermal Leishmanin reaction induces antigen-specific maturation of canine dendritic cells with up-regulation of MHCII synthesis and expression. *J Comp Pathol*, 135, 17-24.

Sacks, D. and Kamhawi, S. (2001). Molecular aspects of parasite-vector and vector-host interactions in leishmaniasis. *Annu Rev Microbiol*, 55, 453-483.

Santos, M., Marcos, R., Assunção, M., Matos, A. (2006). Polyarthrititis associated with visceral leishmaniasis in a juvenile dog. *Veterinary Parasitology*, 141, Issues 3-4.

Santos-Gomes, G.M., Rosa, R., Leandro, C., Cortes, S., Romão, P. and Silveira, H. (2002). Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. *Vet Immunol Immunopathol*, 88, 21-30.

Saridomichelakis MN. (2009). Avances en la patogénesis de la leishmaniosis canina: implicaciones epidemiológicas y diagnósticas. *Dermatol veterinario*, 20(5-6):471-89.

Silva, F.L., Oliveira, R.G., Silva, T.M., Xavier, M.N., Nascimento, E.F. and Santos, R.L. (2009). Venereal transmission of canine visceral leishmaniasis. *Vet Parasitol*,



160, 55- 59.

Slama, D., Haouas, N., Remadi, L., Mezhoud, H., Babba, H. and Chaker, E. (2014). First detection of *Leishmania infantum* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) in *Culicoides* spp. (Diptera: Ceratopogonidae). *Parasit Vectors*, 7, 51.

Solano-Gallego, L., Riera, C., Roura, X., Iniesta, L., Gallego, M., Valladares, J.E., Fisa, R., Castillejo, S., Alberola, J., Ferrer, L., Arboix, M. and Portús, M. (2011c). *Leishmania infantum*-specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. *Vet Parasitol*, 96, 265-276.

Spreng D. (1993). Leishmanial polyarthritis in two dogs. *J Small Anim Pract*, 34: 559-563.

Strauss-Ayali, D., Baneth, G. and Jaffe, C.L. (2007). Splenic immune responses during canine visceral leishmaniasis. *Vet Res*, 38, 547-564.

Tabar, M.D., Roura, X., Francino, O., Altet, L. and Ruiz de Gopegui, R. (2008). Detection of *Leishmania infantum* by real-time PCR in a canine blood bank. *J Small Anim Pract*, 49, 325-328.

Teixeira, M.J., Teixeira, C.R., Andrade, B.B., Barral-Netto, M. and Barral, A. (2006). Chemokines in host-parasite interactions in leishmaniasis. *Trends Parasitol*, 22, 32- 40.

Turrel JM, Pool RR. (1982). Bone lesions in four dogs with visceral leishmaniasis. *Vet Radial*, 23: 243-249.

Tuon, F.F., Amato, V.S., Bacha, H.A., Almusawi, T., Duarte, M.I. and Amato Neto, V. (2008). Toll-like receptors and leishmaniasis. *Infect Immun*, 76, 866-872.

Vercammen, F., Fernandez-Perez, F.J., del Amo, C. and Alunda, J.M. (2002). Follow-up of *Leishmania infantum* naturally infected dogs treated with allopurinol: immunofluorescence antibody test, ELISA and Western blot. *Acta Trop*, 84, 175-181.

Verçosa, B.L., Melo, M.N., Puerto, H.L., Mendonça, I.L. and Vasconcelos, A.C. (2012). Apoptosis, inflammatory response and parasite load in skin of *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* naturally infected dogs: a histomorphometric analysis. *Vet Parasitol*, 189, 162-170.

Volf, P. and Myskova, J. (2007). Sand flies and *Leishmania*: specific versus permissive vectors. *Trends Parasitol*, 23, 91-92.

WHO (2010). Report of a meeting of the WHO Expert Committee on the Control of Leishmaniasis. Geneva.

Wolschrijn C.F., Meyer H.P., Hazewinkel H.A.W., Wolvekamp W.Th.C. (1996). Destructive polyarthritis in a dog with leishmaniasis. *J Small Anim Pract*, 37, 601-603.



Yamaguchi R.A., French T.W., Simpson C.F., Harvey J.W. (1983). *Leishmania donovani* in the synovial fluid of a dog with visceral leishmaniasis. *J Am Anim Hosp Assoc*, 19, 723-726.

Zer, R., Yaroslavski, I., Rosen, L. and Warburg, A. (2001). Effect of sand fly saliva on *Leishmania* uptake by murine macrophages. *Int J Parasitol*, 31, 810-814.