

QUADRO CLÍNICO DE CÃES COM LEISHMANIOSE VISCERAL E SUA CORRELAÇÃO COM A SENSIBILIDADE DO TESTE PARASITOLÓGICO

Larissa Fernandes Magalhães^{2*}, Tais Meziara Wilson³, Alessandra Aparecida Medeiros⁴

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma enfermidade sistêmica severa cuja manifestação clínica relaciona-se com o tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado. É causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, espécie *Leishmania chagasi*, e tem como principal transmissão, a picada do inseto vetor. Para ter o diagnóstico desta doença realizam-se testes sorológicos e/ou parasitológicos, uma vez que os sinais clínicos são diversos e podem se assemelhar a várias outras doenças infecciosas. Este trabalho teve como intuito verificar quais foram os principais sinais clínicos encontrados em cães sororreagentes para LVC provenientes do Centro de Controle de Zoonoses (CCZ) de Uberlândia – MG e realizar exame parasitológico de amostras coletadas em baço e linfonodo poplíteo de cães sororreagentes e correlacionar seu resultado com a sintomatologia apresentada pelo cão. Verificou-se que os principais sinais clínicos ocorreram na pele e anexo (79,41%); linfadenomegalia (52,94%); hepatomegalia (50%); emagrecimento (26,47%); esplenomegalia (23,52%); apatia (23,52%); hipertermia (20,58%); alterações oftálmicas (17,6%) e mucosas hipocoradas (14,70%). Treze dos 34 animais foram positivos no exame parasitológico, sendo que foi mais frequente a visualização de formas amastigotas no baço. Foi verificado que 42% dos animais assintomáticos deram positivos no exame parasitológico, confirmando a importância deste grupo para a disseminação inaparente desta doença.

PALAVRAS-CHAVE: Sintomas. Baço. Parasitológico. *Leishmania*.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose é uma antroponose causada por protozoários tripanossomídeos do gênero *Leishmania*, que parasitam o interior de células do sistema fagocítico mononuclear. Está presente em todo o mundo e representa um dos maiores problemas mundiais em termos de saúde pública (VOLPINI et al., 2004; BRASIL, 2006).

Os reservatórios desta doença mais observados no Brasil são mamíferos da família Canidae, especialmente cães e raposas (MELO, 2004; PRATA e SILVA, 2005). Na área urbana, o cão é considerado o mais importante elo na cadeia de transmissão da Leishmaniose Visceral, sendo fonte de infecção para vetores (MELO, 2004).

O quadro clínico desta doença se apresenta de forma semelhante e inespecífica no cão e no homem e devido à diversidade de sintomas, esta pode ser confundida com várias outras enfermidades, podendo variar do aparente estado sadio a grave apresentação sintomática (FEITOSA, 2006; ALBUQUERQUE et al., 2007; BRASIL, 2006).

As manifestações clínicas estão relacionadas com o tipo de resposta imunológica expressa pelo animal infectado e estas são uma consequência das interações de vários fatores como sua antigenicidade, carga parasitária e sistema imunológico do hospedeiro (BRASIL, 2006; SANTOS-GOMES et al., 2002).

Segundo Ramos (2009), as manifestações clínicas mais frequentes foram: linfadenomegalia, dermatite, alopecia, perda de peso, conjuntivite, hiperqueratose,

¹Projeto de pesquisa individual PET Medicina Veterinária FAMEV – UFU;

²Bolsista do Programa Educação Tutorial (PET) Medicina Veterinária - Laboratório de Patologia Animal -FAMEV – UFU;

³Aluna de Iniciação Científica- PIBIC/CNPq/UFU - Laboratório de Patologia Animal – FAMEV – UFU;

⁴ Professora Doutora, Laboratório de Patologia Animal - FAMEV – UFU.

*Autor para correspondência: lala.fm@hotmail.com

onicogrifose, esplenomegalia, úlceras cutâneas, mucosa pálida e hepatomegalia.

O diagnóstico para a LVC é considerado um problema para os serviços de saúde pública, uma vez que existe uma diversidade de sintomas clínicos e que são semelhantes aos observados em outras doenças infecciosas, as alterações histopatológicas são inespecíficas e não existe um teste diagnóstico que seja 100% específico e sensível (BRASIL, 2006).

Hoje em dia, os métodos diagnósticos laboratoriais mais utilizados são os parasitológicos e os sorológicos, que incluem os testes de ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação de imunofluorescência (RIFI). Essas técnicas sorológicas, por terem alta sensibilidade, são recomendadas pelo Ministério da Saúde para realização de inquéritos sorológicos (BRASIL, 2006).

O rápido diagnóstico, tanto em humanos quanto em cães, é essencial por se tratar de uma enfermidade que pode ser fatal para o ser humano, e para que medidas de controle específicas sobre o reservatório doméstico sejam tomadas (ALVES e BEVILACQUA, 2004).

De acordo com Laurenti (2009) a especificidade do teste parasitológico é de 100%, mas a sensibilidade depende do grau do parasitismo, do tipo de material biológico coletado, do seu processamento e coloração e do observador.

Considerando a dificuldade para o diagnóstico clínico da LVC canina e da diversidade de sintomas, ou a apresentação muitas vezes assintomática da mesma, objetivou-se: determinar os principais sinais clínicos apresentados por cães sororreagentes para LVC, realizar exame parasitológico de amostras coletadas em baço e linfonodo poplíteo de cães sororreagentes e correlacionar seu resultado com a sintomatologia apresentada pelo cão.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

Foram utilizados 34 cães sororreagentes nos teste de ELISA e RIFI, de raça, idade e sexo variados,

provenientes do CCZ de Uberlândia – MG. O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e teve como protocolo de registro o número CEUA/UFU 034/11.

Avaliação clínica

Os animais foram submetidos a exame clínico completo segundo a Ficha Clínica do Hospital Veterinário da Universidade Federal de Uberlândia. As alterações clínicas observadas foram registradas e os cães foram agrupados conforme a manifestação de sinais clínicos, em: sintomáticos, assintomáticos ou oligossintomáticos, de acordo com o Ministério da Saúde (BRASIL, 2006).

Obtenção das amostras e confecção das lâminas

Após a eutanásia dos cães, que foi realizada no CCZ de Uberlândia conforme a indicação da American Veterinary Medical Association (2007), os animais foram enviados para o Laboratório de Patologia Animal da UFU, onde foram submetidos à necropsia.

Durante a necropsia foi coletado um fragmento do baço e um linfonodo poplíteo de cada animal para que fosse realizado *imprint* em lâminas de microscópico, sendo confeccionadas duas lâminas por animal e coradas com Panótico Rápido.

Exame Parasitológico

As lâminas foram avaliadas em microscópio óptico, objetiva de 100x, com o intuito de visualizar as formas amastigotas da *Leishmania*, em ensaio cego (o observador não tinha conhecimento do grupo ao qual o animal avaliado pertencia). Os critérios utilizados para se considerar uma amostra positiva foram: visualização das três estruturas básicas do parasita (núcleo, citoplasma e cinetoplasto), presença de estruturas íntegras, independência da carga parasitária (TRONCARELLI, et al., 2009) e presença de formas livres ou dentro de macrófagos (MOREIRA, et al., 2002).

Após a leitura, as amostras positivas foram classificadas de acordo

com o parasitismo em alto, moderado e baixo parasitismo.

RESULTADOS

Doze animais foram classificados como sintomáticos (12/34 - 35,29%), quinze como oligossintomáticos (15/34 - 44,11%) e sete como assintomáticos (7/34 - 20,58%).

Com relação aos sinais clínicos, os mais frequentes, na ordem decrescente, foram: alterações de pele e anexo (79,41%); linfadenomegalia (52,94%); hepatomegalia (50%); emagrecimento (26,47%); esplenomegalia (23,52%); apatia (23,52%); hipertermia (20,58%); alterações oftálmicas (17,6%) e mucosas hipocoradas (14,70%) (Tabela 1).

Assim como Ramos (2009), os sintomas clínicos observados não diferiram do descrito pela literatura, onde existe um espectro de características clínicas que vai desde aparente estado sadio a grave apresentação sintomática.

Dentro do grupo dos sintomáticos, as lesões e pele e anexos (12/38) foram as mais frequentes, seguidas de linfadenomegalia (8/34), hepatomegalia

(4/34), mucosas hipocoradas (4/34), alterações oftálmicas (4/34), emagrecimento (4/34), apatia (4/34), hipertermia (2/34) e esplenomegalia (1/34). Já no grupo dos oligossintomáticos, o sintoma mais comum também foi relacionado a lesões de pele e anexos (14/34), seguido de hepatomegalia (9/34), linfadenomegalia (7/34), esplenomegalia (6/34), emagrecimento (5/34), apatia (3/34) e hipertermia (3/34).

Dentro das lesões de pele e anexo, a onicogribose ocorreu em oito animais, sendo que sete pertenciam ao grupo dos sintomáticos e um ao grupo dos oligossintomáticos. Com relação as lesões de pele, a alopecia ocorreu em 23 animais, sendo que esta muitas vezes ocorreu em mais de um lugar do corpo, acompanhada ou não de eczema. A alopecia periocular e de ponta de orelha foram as mais frequentes. A hiperqueratose foi observada em quatro cães, dois do grupo sintomático e dois do oligossintomático e dois animais apresentaram pústulas, um do grupo dos oligossintomáticos e outro dos sintomáticos.

Tabela 1 - Principais sinais clínicos apresentados por animais sintomáticos, oligossintomáticos e assintomáticos.

SINTOMATOLOGIA	SINTOMÁTICOS (15)		OLIGOSSINTOMÁTICOS (16)	
	N	%	N	%
Apatia (8/34)	4	26,66	3	18,75
Hipertermia (7/34)	2	13,33	3	18,75
Alterações de pele e Anexos (27/34)	12	80	14	87,5
Linfadenomegalia (18/34)	8	53,3	7	43,75
Esplenomegalia (8/34)	1	6,66	6	37,5
Alterações oftálmicas (6/34)	4	26,66	1	6,25
Hepatomegalia (17/34)	4	26,66	9	56,25
Mucosas hipocoradas (5/34)	4	26,66	0	0
Emagrecimento (9/34)	4	26,66	5	31,25

Foram observados ectoparasitas (pulgas e carrapatos) em 25 animais, sendo o carrapato *Rhipicephalus sanguineus* o parasita mais frequente, não podendo excluir a participação deste na transmissão do protozoário (DANTAS-TORRES, 2009).

Sobre o exame parasitológico realizado com impressão de fragmentos de baço e linfonodo poplíteo, 13 (38,2%) animais foram positivos no exame parasitológico em pelo menos um dos órgãos em questão, sendo que nove (26,5%) destes eram positivos tanto no

teste parasitológico em amostras de linfonodo como no baço e quatro (11,8%) apresentavam formas amastigotas apenas nos *imprints* de baço, não tendo nenhum animal positivo, mesmo que com baixo parasitismo, apenas no linfonodo.

No grupo dos assintomáticos (7/34), três (42,9%) animais foram positivos no exame parasitológico, sendo dois em ambos os órgãos, um com alto parasitismo apenas no linfonodo e outro com baixo parasitismo nos dois órgãos. O terceiro animal obteve alto parasitismo apenas no baço.

Já no grupo dos oligossintomáticos (15/34), apenas dois (13,3%) animais apresentaram positivos, sendo que um estava com moderado parasitismo tanto no baço como no linfonodo poplíteo e o outro animal apresentou baixo parasitismo em ambos os órgãos.

E por último, no grupo dos sintomáticos (12/34), 8 (66,7%) animais deram positivos, sendo que em cinco o parasitismo ocorreu em ambos os órgãos, sendo mais frequente no baço e, em três animais foi visualizada a forma amastigota apenas no baço.

Com relação ao exame parasitológico, 42% dos animais assintomáticos deram positivos ao exame, mostrando a importância deste grupo na disseminação inaparente da doença e, independente da forma clínica, o baço é um dos principais sítios de alto parasitismo durante o curso da LVC (REIS et al., 2006).

O parasitismo foi classificado em alto, moderado e baixo conforme a quantidade de formas amastigotas visualizadas nas lâminas. O alto parasitismo foi verificado em seis animais, sendo que esta alta quantidade foi vista em cinco apenas no baço e um apenas no linfonodo, não havendo nenhum alto parasitismo em ambos os órgãos. Foi evidenciado com moderado parasitismo três cães, sendo que um deles apresentou parasitismo moderado em ambos os órgãos e dois apenas no baço. Nove dos treze animais apresentaram pelo menos um órgão com baixo parasitismo e três cães apresentaram baixo parasitismo em ambos os órgãos.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os sinais clínicos mais frequentes ocorrem na pele e anexos e órgãos linfóides. A sensibilidade do teste parasitológico é maior em animais sintomáticos, sendo que a sensibilidade não atinge 50% em casos de animais oligossintomáticos e assintomáticos. O baço é órgão que apresenta maior parasitismo e animais assintomáticos podem apresentar alto parasitismo nos teste parasitológico.

ABSTRACT

The Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) is a severe systemic disease whose clinical manifestation is related to the type of immune response expressed by the infected animal. It is caused by a protozoan of the genus *Leishmania*, *Leishmania chagasi*, and the main transmission is by the bite of the insect vector. To make diagnosis of the disease is carried out serologic tests and / or parasitological, because the symptoms are varied and may resemble several other infectious diseases. This study was aimed to check what were the main clinical signs found in dogs seropositive for LVC from the Zoonosis Control Center (CCZ) of Uberlândia - MG and perform parasitological examination of samples collected from spleen and popliteal lymph node of seropositive dogs and correlate their result with the symptoms presented by the dog. It was found that the main clinical signs occurred in the skin and attached (79.41%); lymphadenopathy (52.94%); hepatomegaly (50%); body score below three (26.47%), splenomegaly (23.52%), apathy (23.52%), hyperthermia (20.58%); ophthalmic problem (17.6%) and pale mucous membranes(14.70%). Thirteen of the 34 animals were positive parasitological examination, and was more frequent viewing of amastigotes in the spleen. It was found that 42% of asymptomatic animals results in positive parasitological examination, confirming the importance of this group for the spread of this disease unapparent.

Keywords: Symptoms. Parasitologic. Spleen. *Leishmania*.

REFERÊNCIAS

ALBUQUERQUE, A. L.; ARAGÃO, F. R.; FAUSTINO, M. A. G.; GOMES, Y. M.; LIRA, R. A.; NAKASAWA, M.; ALVES, L. C. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* região metropolitana do Recife. **Clínica Veterinária**, n. 71, p. 78-84, 2007.

ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 20, n. 1, p.256-259, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. 120p.

DANTAS-TORRES, F. *Rhipicephalus sanguineus* e a epidemiologia da leishmaniose visceral canina no estado de Pernambuco. 2009. **Tese (Doutorado em Saúde Pública)** - Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2009.

FEITOSA, M. M. Avaliação clínica de animais naturalmente infectos. In: FÓRUMSobre LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, I, 2006, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: UNESP, 2006. p. 9-13.

LAURENTI, M. D. Correlação entre o diagnóstico parasitológico e sorológico na leishmaniose visceral americana canina. **Boletim Epidemiológico Paulista**, São Paulo, v.6, n. 67, p.13-23, 2009.

MELO, M. N. Leishmaniose visceral no Brasil: desafios e perspectivas. In XII CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA E SIMPÓSIO LATINO AMERICANO DE RICKETIOSIS, 2004, Ouro Preto. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 23, suplemento 1, p 41-45, 2004.

MOREIRA, M. A. B., LUVIZOTTO, M. C. R., NUNES, C. M., DA SILVA, T. C. C., LAURENTI, M. D., CORBETT, C. E. P. Aplicação da Técnica de Imunofluorescência direta para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral canina em aspirado de linfonodo. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v. 39, n. 2, 2002.

PRATA, A., SILVA, L. A. Calazar. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. P. 713-732.

RAMOS, J. K. M. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínicos e de diagnóstico. 2009. 71f. **Dissertação (Mestrado)** – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.

REIS, A. B.; MARTINS-FILHO, O. A.; TEIXEIRA-CARVALHO, A.; CARVALHO, M. G.; MAYRINK, W.; FRANCA-SILVA, J. C.; GIUNCHETTI, R. C.; GENARO, O.; CORREA OLIVEIRA, R. Parasite density and impaired biochemical/ hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. **Research of Veterinary Science**, v. 81, n. 1, p.68-75, 2006.

SANTOS-GOMES, G. M.; ROSA, R.; LEANDRO, C.; CORTES, S.; ROMÃO, P.; SILVEIRA, H. Cytokine expression during the outcome of canine experimental infection by *Leishmania infantum*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 6, n. 88, p. 21-30, 2002.

TRONCARELLI, M. Z., LUCHEIS, S. B., CAMARGO, J. B., MACHADO, J. G., LANGONI, H. Análise clínica e laboratorial em cães eutanasiados no centro de controle de zoonoses de Bauru- SP, com vistas ao diagnóstico de leishmaniose visceral (LV). **Veterinária e Zootecnia**, v. 16, n. 2, p. 343-353, 2009.

VOLPINI, A. C.; PASSOS, V. M. A.; OLIVEIRA, G. C.; ROMANHA, A. J. PCR-

RFLP to identify *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (Leishmania) amazonensis* causing American cutaneous leishmaniasis, **Acta Tropica**, v. 90, n. 1, p. 31-37, 2004.