

**JAMILE PRADO DOS SANTOS**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758)  
PROVENIENTES DA ZONA URBANA DO MUNICÍPIO DE BOM JESUS - PI E  
REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE – PE, BRASIL**

**RECIFE - PE**

**2011**

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**JAMILE PRADO DOS SANTOS**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758)  
PROVENIENTES DA ZONA URBANA DO MUNICÍPIO DE BOM JESUS - PI E  
REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE – PE, BRASIL**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciência Veterinária.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Aparecida da Gloria Faustino

Co-orientador: Prof. Dr. Leucio Câmara Alves

**RECIFE - PE**

**2011**

Ficha catalográfica

S237a Santos, Jamile Prado dos  
Aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da  
leishmaniose visceral em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus,  
1758) provenientes da zona urbana do município de Bom  
Jesus e região metropolitana do Recife – PE, Brasil / Jamile  
Prado dos Santos. -- 2011.  
91 f.: il.

Orientadora: Maria Aparecida da Gloria Faustino.  
Tese (Doutorado em Ciência Veterinária) – Universidade  
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Medicina  
Veterinária, Recife, 2011.

Inclui referências e anexo.

1. *Leishmania infantum* 2. Zoonoses 3. ELISA 4. Imuno-  
histoquímica 4. Histopatológico I. Faustino, Maria Aparecida  
da Gloria, orientadora II. Título

CDD 636.7089456

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNANBUCO  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA VETERINÁRIA**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758)  
PROVENIENTES DA ZONA URBANA DO MUNICÍPIO DE BOM JESUS - PI E  
REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE – PE, BRASIL**

Tese de Doutorado elaborada por

**JAMILE PRADO DOS SANTOS**

Aprovada em ...../...../.....

**BANCA EXAMINADORA:**

---

Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Maria Aparecida da Gloria Faustino  
Orientadora: Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

---

Prof. Dr. Walter Flausino  
Instituto de Medicina Veterinária – UFRRJ

---

Dr. Marco Antônio Granja Barbosa  
Médico Veterinário Autônomo

---

Dr<sup>ª</sup>. Nair Silva Cavalcante de Lira  
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

---

Prof. Dr. Leucio Câmara Alves  
Departamento de Medicina Veterinária – UFRPE

*"A vida só pode ser compreendida olhando-se para trás; mas só pode ser vivida, olhando-se para frente."*

*Soren Kierkegaard*

## ***Dedico...***

*...A minha amada Mãezinha, Cida, que me buscou, me acolheu e me transformou no ser que hoje eu sou, que esteve presente, que lutou, que chorou, que incentivou, que torceu e acima de tudo, me amou.*

*...Ao meu amado Pai, Daniel, que foi a pessoa que me apoiou a vir para Recife, acreditando na sua intuição de pai, confiando que este era o meu lugar, o meu caminho para o sucesso.*

***...A vocês dedico!***

## ***Dedico...***

*...Ao **Caio**, ao **Pedro** e a **Emanuelle** que eu tanto amo, por serem a razão do meu viver, a minha essência e a energia do meu ser.*

*...Ao **Pedro** (in memoriam), que nem tive a oportunidade de colocá-lo nos meus braços, de tocá-lo, mas ainda assim foi a maior perda dos últimos tempos.*

*...Aos **animais**, minha paixão incondicional, que são verdadeiros e puros como os homens deveriam ser.*

***...A vocês dedico!***

## **AGRADECIMENTOS...**

...A **Deus**, fonte de amor e sabedoria inesgotável. Agradeço por todas as minhas conquistas.

...Aos **Amigos Espirituais** que me iluminaram, me protegeram e me guiaram neste longo caminho percorrido.

...Aos meus pais, **Maria Aparecida Prado dos Santos e Daniel dos Santos** pelo apoio, amor e dedicação. Pelas longas conversas de apoio nos momentos difíceis, pelas risadas e festas nos momentos de alegria.

...Ao **Caio Moreto** que é o meu companheiro, meu amor, minha razão de viver, por ser espontâneo e verdadeiro. Ao **Pedro Dario e a Emanuelle Mareto (Manú)** por serem crianças e espontâneos, enchendo a minha vida de graça.

...Ao **Vô Emilio** (in memorian) e a **Vózinha "Bastina"** (in memorian) por terem sido tão importantes na minha vida e por todos os encontros nos sonhos, para abraços carinhosos, para conselhos ou apenas para matar as saudades.

...Aos meus irmãos **André Luiz Prado e Márcio Prado** e às cunhadinhas **Lucimara Moreto e Vera Fernanda**, que me incentivam, que me esperam ansiosos, que fazem festa quando eu chego e entendem quando estou ausente.

...A minha mãe **Maria Luiza Paiva**, que sempre está pronta a ajudar e nos amar.

...Ao **Wilson**, que tanto me escutou, me amparou, me orientou e me incentivou no último ano.

... À minha madrinha, **Sidnéia**, que sempre tem um tempo, uma palavra, um incentivo.

...À você **Osires Lustosa**, que apesar dos apertados, me apoiou e acreditou no meu sucesso. E por ter sido fundamental na reta final, ficando perto e sendo meu companheiro.

...À querida **Dona Sônia Granja**, por ser mãezona, carinhosa, atenciosa e por me receber tão bem.

...A toda **Minha Família**, por me apoiarem e deixarem claro o orgulho que sentem de mim, em especial o **Tio Zezinho (José Prado)** que sempre me liga ou vai me visitar, nas minhas idas para casa e a minha **Vózinha Deca**, que mesmo tão idosa, ainda se preocupa por eu estar tão longe.

...Aos meus primos, **Marcelo S. Prado, Natália S. Prado, Andréa S. Prado, Rodnei, Emerson S. Prado (Tuca), Alexandra, Lais S. Prado, Guilherme S. Prado, Gabriel, Larissa S. Prado e Camila S. Prado** que estão sempre prontos nas minhas visitas para um almoço festivo ou para uma mega conversa, como a **Meire**.

...Ao **Paulinho (Paulo Sérgio)** que acreditou no meu sucesso, me incentivou e me ajudou. Sem você não chegaria tão longe.

**...a todos vocês obrigada!!!**



## **AGRADECIMENTOS...**

...A minha orientadora, **Professora Maria Aparecida Faustino**, pela prova de confiança, pela serenidade, pelo carinho, pelo apoio e dedicação.

...Ao **Professor Leucio Câmara** pela orientação, pela dedicação, pelo carinho, pelos puxões de orelhas, pelos lenços quando chorei, pela amizade.

...Ao **Professor Marcos Antônio Lemos**, pelo carinho, pela confiança, pelo jeito paizão de ser, por ter-me aberto as portas desta Instituição.

...Ao **Professor Frederico Lira**, por ser sereno, atencioso e carinhoso. E pela atenção e ensinamentos na avaliação histopatológica.

...Aos professores **Paulo Fernandes, Ana Paula Tenório, Eduardo Cole, M<sup>a</sup> Cristina Coelho, Evilda Lima, Edvaldo Almeida, Jean Carlos, Fernando Leandro, Marcia Brayner, Lucio Melo, Eneilda Rego, Jacinta Eufrásia, Silvana Sueli e Beatriz D. Vaz** que sempre estão prontos a esclarecer uma dúvida, a opinar sobre um caso ou ajudar, aconselhar. A todos **os Professores** que, de alguma forma, contribuíram na minha formação.

...Aos companheiros de pós-graduação: **Paschoal, Fabiane, Aerlem Cinara, Mariana, Torquato, Zélia, Marluce, Felipe, Adalton... Débora, Márcia Paula, Mércia, Sérgio, Enilson, Cecília, Érica, Tiago, Alessandra Martins** enfim todos que participaram desta fase tão importante, que me acolheram.

...Aos amigos do laboratório de Doenças Parasitárias: **Rafael** pela competência, **Marília** pela docura, **Hévila (minha fotógrafa)** pelo carinho, atenção e almoços de muitas conversas, **Edna** pela paciência, **Danillo** por toda a ajuda e, enfim, **Rebeka, Marcelo, Carina, Fernanda, Neurisvan, George, Tiara, Tadeu, Juliana, Glauca e a Lorena**, obrigada pelo carinho e parabéns pelo senso de equipe.

... À **Cássia** e à **Simone** pela ajuda com as lâminas e com as fotos.

...Aos secretários do Programa de Pós-Graduação em Ciência Veterinária, **Edna Cheries e Tom Menezes**, pelo apoio, atenção, amizade e presteza ao resolverem meus problemas, mesmo eu estando distante.

...A todos os funcionários do Departamento de Medicina Veterinária, **D. Vera, Acássio, Ilma, Josi, Seu Bené, Fausto, Maria, D. Sônia, Sérgio e a Guiomar** por toda a amizade demonstrada.

**...a todos vocês obrigada!!!**

## **AGRADECIMENTOS...**

...Aos grandes amigos **Fábio Brito e Thiaguinho**, que permanecem presentes na minha vida, independente da distância. Para um conversa boba, para um carinho... Amo vocês.

...Aos amigos **Flávia Menezes, Júlio, Neuza, Moa (Moacir), Fernando Magalhães, Graziela Kopinitis, Grazi Aleixo, Pedro, Denisson, Maria Betânia, Eryvelton, Francisco, Josinha, Adriana Moreto (SP), Flávia Coelho, Helena, Magali Bianchi, Marco Granja**. Todos vocês sabem o quanto são importantes na minha vida.

...À **Flávia Maia (Monga)**, por ser confidente e por todo o carinho e apoio. ...À **Nath** por ser cúmplice e estar sempre na torcida.

...À **Dona Virgínia**, que foi uma mãe para mim, principalmente em momentos difíceis e decisivos.

...À **Nair Lira** que me ajudou muito seja na análise histopatológica, seja me escutando e me aconselhando.

...Ao **Jaime, a Lala, ao Cássio, ao Caio e a Adriana** por me acolherem em sua casa e me tratarem como filha ou irmã, com carinho e atenção.

...À família **Pet Dream**, donos, veterinários, funcionários, estagiários, clientes e pacientes por terem me ajudado a conquistar este sonho e por serem a minha família de Recife.

...Aos amigos de Bom Jesus: **Edson, Regiane, Mauro Sérgio, Lindenberg, Rita, Leilson, Mauro Tavares, Josy, Luciana, Filó, Leilane, Naira, Carvana, Célia, Antônio Augusto, Clara, Gracia, Júnior e Janailton** que acreditaram no meu sucesso e me incentivaram. Que estiveram presente até nos últimos instantes me dando apoio.

...Aos meus queridos **amigos, alunos-orientados**, que participaram da realização do experimento em Bom Jesus, de sol a sol, com animo e disposição: **Osires, Tairon, Denys, Leidiane, Denise, Antônio Neto, Fabiana, Wesley, Kairo e Alex**. Principalmente ao **Denys** que participou da sorologia e ao **Osires** que coordenou as coletas.

...À Secretaria de Saúde de Bom Jesus, em especial **a Nadja e a Conceição** a todos os **agentes de saúde ou endemias** que nos acompanharam nas coletas pelo município. Ao **Sr Brás** que foi fundamental na coleta de Bom Jesus.

...À **Dona Doraci** e ao **Seu Elói** por cuidarem das minhas filhas e assim facilitarem a minha vida..

...As minhas filhas **Suzi, Letícia, Yura e Lia Maria** (in memorian) que aprenderam viver sem minha presença. Aos queridos **Apolo, Pitty, Meggie e Fiona** (in memorian) que encantam a minha vida e preenchem o vazio da distância.

...A todos os **Cães**, que participaram deste experimento, principalmente àqueles que pagaram muito alto, com suas vidas, devido o descaso das políticas públicas de saúde.

...A **todas as pessoas** que fizeram parte deste sonho.

**...a todos vocês muito obrigada!!!**

*“Nós seres humanos estamos na natureza para auxiliar o progresso dos animais,  
Na mesma proporção que os anjos estão para nos auxiliar.  
Portanto, quem chuta ou maltrata um animal é alguém que não aprendeu a  
amar”*

*Chico Xavier*

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS E LABORATORIAIS DA  
LEISHMANIOSE VISCERAL EM CÃES (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758)  
PROVENIENTES DA ZONA URBANA DO MUNICÍPIO DE BOM JESUS - PI E  
REGIÃO METROPOLITANA DO RECIFE – PE, BRASIL**

**RESUMO**

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no Brasil é causada por *Leishmania infantum* a qual é relatada em várias regiões. O objetivo desta pesquisa foi verificar aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da leishmaniose visceral em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus – PI e Região Metropolitana de Recife - PE, Brasil. Cães do município de Bom Jesus, Piauí, e do bairro de Muribeca, município de Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil, foram submetidos à coleta de sangue e investigados quanto aos sinais clínicos relacionados à Leishmaniose Visceral Canina. Os soros foram analisados pelo teste ELISA para anticorpos *anti-Leishmania infantum*, para determinar a frequência de animais sororreagentes nas duas localidades acima citadas. No bairro de Muribeca de acordo com a sorologia, para os cães positivos foram atribuídas coordenadas através da utilização de um GPS portátil. Os pontos foram registrados no município e analisados no ArcGIS, utilizando-se a “Correlação Espacial de Moran’s”, para distinguir agrupamento com base nas variáveis da vegetação e hidrologia. Foi realizada a avaliação imuno-histoquímica e histopatológica de fragmentos de bexiga urinária de cães adultos naturalmente infectados por *L. infantum* da região metropolitana de Recife. No inquérito sorológico de Bom Jesus – PI, de 206 amostras de soro examinadas, 42,23% foram positivas ao ELISA. Não houve diferença significativa entre cães sintomáticos e assintomáticos. Em Muribeca, no município de Jaboatão dos Guararapes, de 159 cães, 50,3% foram positivos ao ELISA, não havendo diferença significativa em relação à raça e sexo, porém com frequência significativamente mais elevada nos animais assintomáticos. Predominaram dentre os animais positivos as dermatopatias. Por outro lado, as correlações entre todos os pontos e fatores ambientais, tipo de vegetação e hidrologia, que foram agrupados não apresentaram relação. Na avaliação imuno-histoquímica e histopatológica de amostras de bexiga urinária e de rins de 25 cães da região metropolitana de Recife, positivos para *L. infantum*, 32% das amostras de bexiga e 8% das amostras de rins demonstraram a imunomarcagem de formas amastigotas de *L. infantum*. A cistite esteve presente em 36% das amostras e as alterações histopatológicas renais mais encontradas foram glomerulonefrite membrano-proliferativa e nefrite intersticial. Conclui-se que a frequência de animais sorologicamente positivos em ambas as localidades de estudo é alta e que o método de imuno-histoquímica é superior ao exame histopatológico para a detecção de formas amastigotas em diferentes amostras de rins e bexiga urinária de cães com infecção natural por *L. infantum*, sendo este o primeiro relato em bexiga urinária.

**Palavras-chave:** *Leishmania infantum*, Imunologia, Imuno-histoquímica, Epidemiologia.

**EPIDEMIOLOGICAL, CLINICAL AND LABORATORY ASPECTS OF THE  
VISCERAL LEISHMANIASIS IN DOGS (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758)  
PROCEEDING FROM THE URBAN ZONE OF THE CITY OF BOM JESUS,  
PIAUI STATE, AND METROPOLITAN AREA OF RECIFE, PERNAMBUCO  
STATE, BRAZIL**

**ABSTRACT**

Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) in Brazil is caused by *Leishmania infantum*, which is reported in several regions. The objective of this research was to investigate the epidemiological, clinical and laboratory features of visceral leishmaniasis in dogs (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) from the urban area of Bom Jesus, Piauí State and Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil. Dogs from Bom Jesus, Piauí, and Muribeca neighborhood, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brazil, were submitted to blood collection and investigated for Canine Visceral Leishmaniasis clinical signs. Serum samples were analyzed by ELISA for anti-*Leishmania infantum* to determine the frequency of positive animals in the two localities mentioned above. According to serology, positive dogs were assigned coordinates by using a portable GPS in Muribeca neighborhood. The points were recorded in the district and analyzed in ArcGIS using the "Spatial Correlation of Moran's," to distinguish grouping based on the variables of vegetation and hydrology. Samples of the urinary bladder of adult dogs naturally infected by *L. infantum* in the metropolitan area of Recife were performed by immunohistochemical and histopathologic analysis. On the serological survey of Bom Jesus, PI, 42.23% were positive by ELISA from 206 serum samples examined. There was no significant difference between symptomatic and asymptomatic dogs. In Muribeca, Jaboatão dos Guararapes, 159 dog blood samples were used, which 50.3% were positive by ELISA. No significant difference in relation to race and gender was found, but a significantly higher frequency was observed in asymptomatic animals. The skin diseases predominated among the positive animals. Moreover, the correlations between all points and environmental factors, vegetation type and hydrology, which were pooled showed no relationship. Samples of urinary bladder and kidneys from 25 *Leishmania infantum* natural infected dogs provenient of metropolitan region of Recife were analysed by immunohistochemical and histopathology. In assessing the immunohistochemical staining 32% of samples of bladder and 8% of samples of kidneys demonstrated immunostaining of amastigotes of *L. infantum*. Cystitis was present in 36% of samples analyzed bladder. Membranoproliferative glomerulonephritis and interstitial nephritis were the more found renal histopathological changes. We conclude that the frequency of seropositive animals at both locations of study is high. Immunohistochemistry was superior in comparison with histopathology for the detection of amastigotes in different samples of kidneys and urinary bladder of *Leishmania infantum* naturally infected dogs. This is the first report in urinary bladder.

**Keywords:** *Leishmania infantum*, Immunology, Immunohistochemistry, Epidemiology

## LISTA DE TABELAS

TABELAS	TÍTULO	Pág.
<b>Capítulo 1</b>		
Tabela 1	Frequência absoluta e relativa de caninos submetidos à sorologia para <i>L. infantum</i> da cidade de Bom Jesus, segundo a raça .....	47
Tabela 2	Frequência absoluta e relativa dos animais submetidos à sorologia para <i>L. infantum</i> segundo a idade e o sexo.....	48
Tabela 3	Frequência absoluta e relativa dos animais submetidos a sorologia para <i>L. infantum</i> segundo a condição clínica.....	49
<b>Capítulo 2</b>		
Tabela 1	Frequência absoluta e relativa dos sinais clínicos encontrados nos animais soropositivos para Leishmaniose Visceral Canina proveniente do bairro Muribeca do município de Jaboatão dos Guararapes, estado de Pernambuco, Brasil .....	59
<b>Capítulo 4</b>		
Tabela 1	Frequência das alterações histopatológicas nas amostras de bexiga urinária de animais sorologicamente positivos para a <i>Leishmania infantum</i> .....	79
Tabela 2	Frequência das alterações histopatológicas nas amostras de rim de animais sorologicamente positivos para a <i>Leishmania infantum</i> . .....	81

## LISTA DE FIGURAS

FIGURAS	Capítulo 1	pág
Figura 1	Figura 1- Imagem geográfica do Brasil, destacando o Estado do Piauí mostrando a localização do município de Bom Jesus (Fonte: <a href="http://commons.wikimedia.org">http://commons.wikimedia.org</a> ) .....	45
<b>Capítulo 3</b>		
<b>Figura 1</b>	ArcGIS 9.2 model of Muribeca with vegetation, hydrology, and roads drawn. Red points indicate a positive case. Blue points indicate a negative case.....	<b>70</b>
<b>Capítulo 4</b>		
<b>Figura 1A</b>	Fotomicrografia de infiltrado linfocitoplasmocitário na camada submucosa da bexiga urinária. Seta. HE 400X.....	<b>80</b>
<b>Figura 1B</b>	Fotomicrografia de infiltrado linfocitoplasmocitário moderado e focal perivascular na camada adventícia da bexiga urinária. Seta. HE 400X. ....	<b>80</b>
<b>Figura 1C</b>	Fotomicrografia de imunomarcção pela imunohistoquímica através da estreptovidina-peroxidase das formas amastigotas de <i>L. infantum</i> na camada adventícia da bexiga urinária.Seta. IHQ 400X.....	<b>81</b>
<b>Figura 1D</b>	Fotomicrografia de imunomarcção pela imunohistoquímica através da estreptovidina-peroxidase das formas amastigotas de <i>L. infantum</i> na camada muscular da bexiga urinária.Seta. IHQ 400X.....	<b>80</b>
<b>Figura 2A</b>	Fotomicrografia da glomerulonefrite membrano-proliferativa. Seta. HE 400X.....	<b>84</b>
<b>Figura 2B</b>	Fotomicrografia de infiltrado linfocitoplasmocitário intenso e difuso no parênquima renal. Seta. HE 100X.....	<b>84</b>
<b>Figura 2C</b>	Fotomicrografia de granuloma no parênquima renal. Seta. IHQ 400X.....	<b>84</b>
<b>Figura 2D</b>	Fotomicrografia da imunomarcção pela imunohistoquímica através da estreptovidina-peroxidase das formas amastigotas de <i>L. infantum</i> nos túbulos renais. Seta. IHQ 400X.....	<b>84</b>
<b>Figura 2E</b>	Observar imunomarcção pela imunohistoquímica através	

	da estreptoavidina-peroxidase das formas amastigotas de <i>L. infantum</i> nos túbulos renais. Seta. IHQ 400X.....	84
<b>Figura 2F</b>	Presença de atrofia glomerular. Seta. HE. 400X.....	84



## LISTA DE ABREVIATURAS

DMV	Departamento de Medicina Veterinária
ELISA	Teste de imunoadsorção enzimática
HE	Hematoxilina-eosina
IFN- $\gamma$	Interferon gama
IgE	Imunoglobulina E
IHQ	Imuno-histoquímica
IL	Interleucina
IV	Intravenoso
LV	Leishmaniose visceral
LVC	Leishmaniose visceral canina
NK	Células killer
RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
Th	Células auxiliares
TNF	Fator de necrose tumoral
UFRPE	Universidade Federal Rural de Pernambuco
UFRRJ	Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

# SUMÁRIO

	Página
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	18
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	20
<b>3. REFERÊNCIAS.....</b>	30
<b>4. CAPÍTULO 1.....</b>	41
<b>Frequência de anticorpos anti-<i>Leishmania infantum</i> (Nicolle 1908) em cães (<i>Canis familiaris</i>) (Linnaeus, 1758) provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus, Piauí, Brasil</b>	
4.1. Resumo.....	42
4.2. Abstract.....	43
4.3. Introdução.....	44
4.4. Material e métodos.....	44
4.5. Resultados e discussão.....	46
4.6. Conclusão.....	49
4.7. Referências.....	50
<b>5. CAPÍTULO 2.....</b>	54
<b>Leishmaniose visceral canina no bairro Muribeca, município de Jaboatão dos Guararapes, estado de Pernambuco, Brasil</b>	
5.1. Resumo.....	55
5.2. Abstract.....	56
5.3. Introdução.....	57
5.4. Material e métodos.....	57
5.5. Resultados e discussão.....	58
5.6. Conclusão.....	61
5.7. Referências.....	62
<b>6. CAPÍTULO 3.....</b>	66
<b>Spatial Distribution of Canine Visceral Leishmaniasis in the Bairro of Muribeca in Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil.</b>	
6.1. Abstract.....	67
6.2. Resumo.....	68
6.3. Short Communication.....	69
6.4. Referências.....	72
<b>7. CAPÍTULO 4.....</b>	74
<b>Alterações estruturais e imunomarcagem de formas amastigotas em rins e bexiga urinária de cães (<i>Canis familiaris</i>) (Linnaeus, 1758) com infecção natural por <i>Leishmania infantum</i> (Nicolle, 1908)</b>	
7.1. Resumo.....	75
7.2. Abstract.....	76
7.3. Introdução.....	77
7.4. Material e métodos.....	77
7.5. Resultados e discussão.....	79
7.6. Conclusão.....	83
7.7. Referências.....	85
<b>8. CONCLUSÕES GERAIS.....</b>	88
<b>9. ANEXOS.....</b>	89
9.1. Ficha de avaliação.....	90
9.2. Autorização para a eutanásia.....	91

## 1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma importante antropozoonose que é causada pela *Leishmania chagasi/infantum* na América Latina e é transmitida ao homem e aos animais através da picada das fêmeas hematófagas dos insetos do gênero *Lutzomyia* (TAFURI et al., 2001) onde é observado com frequência nas áreas peri e intradomiciliares.

De acordo com a organização mundial de saúde, a LV é uma das sete endemias mundiais, afetando de um a dois milhões de pessoas a cada ano. Ocorre em 47 países e estima-se que cerca de 360 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de infecção no mundo (CAMARGO et al., 2007).

O Brasil enfrenta, atualmente, a expansão e urbanização da LV com casos humanos e grande número de cães positivos em várias cidades de grande e médio porte. O ciclo de transmissão, que anteriormente ocorria no ambiente silvestre e rural, hoje também se desenvolve em centros urbanos.

Na década de 50 pesquisadores já se preocupavam com a expansão e o fenômeno de urbanização da LV, fato hoje consolidado, com a doença instalada definitivamente em cidades de médio e grande porte, como Teresina, Recife, Rio de Janeiro, Salvador, Belo Horizonte, Montes Claros, Januária, entre outras (MONTEIRO et al., 2005). Os principais determinantes dos níveis epidêmicos da LV nos grandes centros são: convívio muito próximo homem/reservatório (cão), aumento da densidade do vetor, desmatamento acentuado, o constante processo migratório (MARZOCHI, 1989) e o estado imunológico da população que é alterado por fatores como estresse, desnutrição, drogas, enfermidades transmissíveis, entre elas, o HIV (NAVEDA, 2006).

O cão como reservatório da LV apresenta variações no quadro clínico da doença, caracterizando-se como uma infecção crônica e sistêmica, considerada como uma enfermidade imunomediada, cuja resposta celular Th1 está associada a cães assintomáticos, exibindo assim uma aparente resistência à leishmaniose visceral, enquanto a doença clínica esta representada pela resposta humoral (MORENO et al., 1999).

Sendo assim, em função da atividade exagerada de linfócitos B, ocorre formação de imunocomplexos (ALVES e FAUSTINO, 2005; GOTO e LINDOSO, 2004), que se depositam nas paredes de vasos sangüíneos e órgãos (LOPEZ et al., 1996; NOLI, 1999), favorecendo o desenvolvimento de vasculites, uveítes, artrites (SLAPPENDEL e FERRER, 1990; LOPEZ et al.,

1996), glomerulonefrite (NIETO et al., 1992) e nefrite intersticial com comprometimento da função renal (LOPEZ et al., 1996), podendo estar presente em cães assintomáticos (CIARAMELLA et al., 1997) ou sintomáticos (POLI et al., 1991), sendo muitas vezes a principal causa da morte de cães com leishmaniose visceral (SLAPPENDEL e FERRER, 1990; PUMAROLA et al., 1991; NIETO et al., 1992; FERRER et al., 1995; LOPEZ et al., 1996; POCAI et al., 1998).

Neste contexto, o cão apresenta um importante elo no ciclo de transmissão da LV, em função do intenso parasitismo cutâneo que facilita a infecção do flebotomíneo (MOLINA et al., 1994; GIUNCHETTI et al., 2009). Sendo assim, verifica-se que a maioria dos focos da doença humana está associada a áreas com altos índices da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) (MONTEIRO et al., 2005).

O diagnóstico dos casos de LVC é de extrema importância, uma vez que a doença canina precede a doença humana, sendo os cães primariamente infectados em um ambiente domiciliar ou peridomiciliar. Estima-se, ainda, que para cada caso humano, ocorra uma média de pelo menos 200 cães infectados (MONTEIRO et al., 1994). O diagnóstico definitivo na LVC é difícil, sendo o método mais seguro o parasitológico, através da detecção do parasito. Entretanto este método esbarra na falta de praticidade e baixa sensibilidade. Por outro lado, os métodos moleculares de diagnóstico apesar de possuírem alta sensibilidade e especificidade, são normalmente utilizados apenas em instituições de pesquisa (BARROUIN-MELO et al., 2005, BONATES, 2003). Desta forma, a técnica imuno-histoquímica é um procedimento importante no diagnóstico da *Leishmania* em fragmentos de diferentes órgãos, propiciando a identificação precisa do agente etiológico, além de auxiliar na avaliação da resposta tecidual desenvolvida pelo hospedeiro (GARCIA, 2005). Em estudo realizado com cães, a reação imuno-histoquímica no fígado, baço e medula óssea foi capaz de identificar parasitos nos tecidos e mostrou-se mais sensível para a detecção de *Leishmania* quando comparado aos fragmentos corados com hematoxilinaeosina (TAFURI et al. 2004).

Diante desses fatos, objetivou-se com este estudo avaliar os aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da leishmaniose visceral em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus – Piauí e da Região Metropolitana de Recife, Pernambuco, Brasil.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Histórico

A leishmaniose visceral (LV) foi descrita na Grécia em 1835 sendo denominada “ponos” ou “hapoplinakon”. Foi na Índia em 1869 que recebeu o nome “kala-jwar” que quer dizer febre negra ou “kala-azar” que significa pele negra em virtude do discreto aumento da pigmentação da pele ocorrido durante a doença (MARZOCHI et al., 1981). Em 1900, William Leishman identificou um protozoário no baço de um soldado indiano que viera a óbito em decorrência de uma febre local conhecida como febre “Dum-Dum” ou “Kala-azar”. Suas anotações não foram publicadas até 1903 quando Charles Donovan encontrou o mesmo parasito em outro paciente. No mesmo ano, Major Ross nomeou este parasito de *Leishmania donovani* criando o gênero *Leishmania* (BADARÓ e DUARTE, 1996; PRATA e SILVA, 2005).

O primeiro relato do parasito no continente americano data de 1931, onde Migone descreve um caso no Paraguai de um paciente proveniente do Estado de Mato Grosso, Brasil. O primeiro relato de leishmaniose visceral no Brasil ocorreu em 1934 por Penna que encontrou formas amastigotas de *Leishmania* sp. em cortes histológicos de fígado de pessoas que morreram com suspeita de febre amarela (BADARÓ e DUARTE, 1996; REY, 2001).

Em 1936, Evandro Chagas descreveu o primeiro caso de leishmaniose visceral no Brasil e em 1937, Cunha e Chagas estabeleceram o seu agente etiológico, denominando-o de *Leishmania donovani chagasi* (BADARÓ e DUARTE, 1996).

A participação dos cães como reservatórios da leishmaniose foi descrita por Charles Nicolle em 1908 na Tunísia, a partir da detecção, nos animais, do agente etiológico do calazar. A comprovação da participação de insetos na transmissão da doença foi feita por Cerqueira em 1920 e por Aragão em 1922 (NICOLLE, 1908; REY, 2001).

### 2.2. Leishmaniose visceral

A LV é uma doença parasitária que acomete o homem e diferentes espécies de mamíferos silvestres e domésticos das regiões tropicais e subtropicais dos chamados Velho e Novo Mundo. De acordo com a Organização Mundial de Saúde é uma das sete endemias mundiais afetando de um a dois milhões de pessoas a cada ano. Ela ocorre em 47 países e estima-se que cerca de 360 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de infecção no mundo (CAMARGO et al., 2007) e

que haja 12 milhões de infectados em 88 nações, com predominância nos países do Terceiro Mundo (MARZOCHI e MARZOCHI, 1994).

No Brasil a LV encontra-se em plena expansão geográfica e também em franco processo de urbanização em cidades localizadas em regiões distintas, como Nordeste e Sudeste (ALVES e BEVILACQUA, 2004), onde o cão tem sido apontado como o principal reservatório (SAVANI et al., 2003; SILVA et al., 2005), tendo um papel fundamental na expansão da doença em áreas endêmicas (SANTOS, 2006).

A leishmaniose visceral canina (LVC) tem sido relatada em áreas rurais e periurbanas do Brasil (BRASIL, 2004; GONTIJO e MELO, 2004; MELO, 2004), com diferentes taxas de prevalência nos municípios do País relatadas por Moura et al. (1999) em Cuiabá com 64% no período de 1997 a 1998, por Silva et al. (2001) em Belo Horizonte – MG com 64,6%, por Abreu Silva et al. (2008) em Raposa – MA com 51,61%, por Amóra et al. (2006) na zona urbana da cidade de Mossoró – RN com 45%, por Dantas-Torres et al. (2006) em Paulista – PE com 40,3%, Rio Verde – GO com 26,62 % (SILVA, 2007), Jequié – BA com 23,5 % (AGUIAR, 2007), Tamandaré – PE com 20, 4% (BARBOSA, 2010), Imperatriz – MA, que variou de 3,26 e 4,02% no período de 2002 e 2005 (CASTRO, 2008), Campina Grande – PB com 3% (VIDAL, 2007), Maceió – AL com 1,9% (MARTINS, 2008) e Teresina – PI, com prevalência de 1,59 a 28,96 entre 1995 a 2006 (FMS, 2008).

Do ponto de vista epidemiológico a LVC é considerada mais importante que a doença humana pois, além de ser mais prevalente, apresenta um grande contingente de animais infectados, que mesmo assintomáticos servem como fonte de infecção para os vetores (DE ANDRADE et al., 2007; LARANGEIRA, 2009).

### **2.3. Agente etiológico**

A leishmaniose visceral é causada por um protozoário da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, e do gênero *Leishmania* (ROSS, 1903). Os parasitos responsáveis pela enfermidade pertencem ao complexo donovani, compreendendo três espécies, que variam de acordo com a região geográfica, sendo a *Leishmania donovani* observada na Ásia e África; *Leishmania infantum* na Ásia, Europa e África e *Leishmania chagasi* nas Américas (LAVERAN, MESNIL, 1903; ROSS, 1903; NICOLE, 1908; CUNHA e CHAGAS, 1937; LAINSON e SHAW, 1987).

Alguns pesquisadores afirmam que semelhanças estruturais verificadas por meio de estudos moleculares indicam que a *L. chagasi* e a *L. infantum* são a mesma espécie, permitindo a denominação de *L. infantum/chagasi* para o agente etiológico desta enfermidade no continente americano (MAURÍCIO et al., 1999; JERONIMO et al., 2005).

#### **2.4. Vetor**

No Brasil, a forma de transmissão da leishmaniose visceral é através da picada dos vetores, *Lutzomyia longipalpis* ou *Lutzomyia cruzi*, infectados pela *Leishmania (Leishmania) chagasi/infantum* (BRASIL, 2006). São insetos pequenos, medindo de 1 a 3 mm de comprimento, apresentam o corpo coberto de cerdas, e uma coloração castanho claro ou cor de palha. São facilmente reconhecidos pelo seu comportamento, ao voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas. Adaptados a diversos ambientes, desenvolvem-se em ambientes terrestres úmidos e ricos de matéria orgânica e com baixa incidência luminosa. Com hábitos crepusculares, somente a fêmea alimenta-se de sangue para maturação dos ovos (DEANE e DEANE, 1955).

Conhecidos popularmente por mosquito-palha, tatuquiras, birigui, entre outros, são encontrados preferencialmente em áreas de florestas, matas secundárias, sopé das serras, margens dos rios, cavernas, abrigos de pequenos roedores e de outros animais (DEANE, 1962; MARZOCHI et al., 1985). No entanto, no ambiente doméstico, podem ser encontrados no peridomicílio, em galinheiros, chiqueiros, canis e também no intradomicílio.

Apesar de a transmissão vetorial por flebotomíneos ser a mais importante na epidemiologia da leishmaniose, tem-se relatado outras vias de infecção. Carrapatos e pulgas têm sido estudados, experimentalmente, como possíveis transmissores da leishmaniose visceral. Autores, utilizando a técnica de reação em cadeia polimerase (PCR) conseguiram detectar DNA de *Leishmania* sp. em carrapatos após parasitarem cães infectados com o agente, sugerindo possível ação vetorial dos mesmos (COUTINHO et al., 2005; COUTINHO e LINARDI, 2007). Shaw (2007) relata a transmissão de leishmaniose visceral através de transfusão sanguínea e transplante de órgãos.

## 2.5. Ciclo biológico da *Leishmania infantum*

Durante o ciclo biológico, a *Leishmania infantum* apresenta-se sob duas formas morfológicamente distintas. No hospedeiro vertebrado, no interior de macrófagos, encontram-se as formas amastigotas, medindo de 2 a 5 µm, arredondadas e sem flagelos. No tubo digestivo do inseto vetor, transformam-se em promastigotas, alongadas e flageladas, que evoluem para formas promastigotas metacíclicas, altamente infectantes (SACKS, 1989; WALTERS, 1993).

As fêmeas dos insetos ingerem macrófagos infectados com formas amastigotas de *Leishmania* sp., durante a sucção sanguínea. Em seguida, transformam-se em promastigotas, multiplicam-se, e diferenciam-se no intestino do inseto. O ciclo de vida é completado, aproximadamente uma semana após, quando a forma infectante, promastigota metacíclica, migra para a probóscide e são inoculadas na pele do hospedeiro, no próximo repasto sanguíneo (PEARSON e SOUSA, 1996). A saliva do inseto *Lutzomyia longipalpis* possui um potente peptídeo vasodilatador, denominado maxadilán, que é liberado na pele do hospedeiro, quando o inseto realiza o repasto sanguíneo (LERNER et al., 1991, LERNER e SHOEMAKER, 1992).

Na epiderme do hospedeiro, as formas promastigotas são fagocitadas por células do sistema mononuclear fagocitário. No interior dos macrófagos, no vacúolo parasitóforo, diferenciam-se em amastigotas e multiplicam-se intensamente até o rompimento dos mesmos. Com a liberação, estas formas são fagocitadas por novos macrófagos em um processo contínuo, ocorrendo então a disseminação hematogênica e linfática para outros tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário, como linfonodos, fígado, baço e medula óssea (RIBEIRO, 2005; BRASIL, 2006) e para todo o organismo, com possível desenvolvimento posterior do quadro clínico (FEITOSA, 2000). Dependendo da imunocompetência do hospedeiro, os sinais clínicos tornam-se evidentes num período que varia de três meses a vários anos (SANTA ROSA e OLIVEIRA, 1997; NOLI, 1999; FEITOSA, 2000).

## 2.6. Resposta imune na leishmaniose visceral canina

Após a inoculação do parasito na pele, ocorre uma resposta inflamatória local sendo inicialmente encontrados neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, células “killer” (NK) e posteriormente linfócitos (DAY, 1999). As células NK desempenham papel fundamental na resistência da infecção pelo hospedeiro, pois ainda na pele, produzem rapidamente interferon gama (IFN- $\gamma$ ) e interleucina (IL-12), importantes indutores da produção de óxido nítrico pelos



macrófagos. A produção de óxido nítrico e superóxido são os mecanismos mais eficientes de destruição parasitária (DAY, 1999; NOLI, 1999; PINELLI, et al., 1999; BELKAID, 2001).

O estabelecimento de uma resposta imune protetora ou não, exige também antígenos apropriados presentes nas células, a indução e a proliferação de células T e a ativação de macrófagos eficientes no controle da infecção. As subpopulações de células T que expressam a molécula de CD4 (células T auxiliares: T helper = Th) podem ser subdivididas em linhagens Th1 e Th2, e são distinguíveis pelas citocinas produzidas e pelos efeitos imunológicos que elas comandam (DAY, 1999; NOLI, 1999; PINELLI et al., 1999; BELKAID, 2001).

As células Th1 produzem principalmente as interleucinas 2 (IL-2) e 12 (IL-12), fator de necrose tumoral (TNF) e interferon- $\gamma$  (IFN-  $\gamma$ ) que pode iniciar a imunidade celular mediada e citotoxicidade, induzindo a ativação de macrófagos e a resposta mediada por células (CHER e MOSMANN, 1987), associada a resistência (SACKS e NOBEN-TRAUTH, 2002).

As células Th2 mediam a imunidade humoral, através da produção predominante das interleucinas 4, 5, 6, 10 e 13, e apresenta comportamento antagonista às células Th1, fornecendo maior ajuda à resposta mediada por anticorpos (COFFMAN et al., 1988; BACELLAR et al., 2000), associada à susceptibilidade (SACKS e NOBEN-TRAUTH, 2002).

O tipo de resposta imune produzida (Th1 ou Th2) é determinada principalmente pelas citocinas produzidas após o encontro dos macrófagos com o antígeno (DAY, 1999; NOLI, 1999; PINELLI et al., 1999; BELKAID, 2001). De acordo com Ferrer (2002) a citocina IL-4 é a mais importante a este respeito, pois ela regula a produção da IL-12, e esta influencia na atuação das células NK.

Na LVC a resposta imune se caracteriza pelo desenvolvimento da resposta humoral pela ativação de células B e pela intensa hipergamaglobulinemia (QUINNELL et al., 2001), além da produção do anticorpo imunoglobulina-E (IgE) antileishmania (ALMEIDA et al., 2005). Cães infectados assintomáticos têm sido associados com uma resposta proliferativa específica, com produção de IFN-g, IL-2 e TNF-a e baixos títulos de anticorpos antileishmania, e cães sintomáticos apresentam a depressão das funções das células T e níveis altos de anticorpos específicos (CABRAL et al., 1992).

Dependendo da resposta imune do animal, o período de incubação ou pré-patente em animais naturalmente infectados pode variar de 3 meses a 7 anos, levando a diferentes

apresentações clínicas da doença (ALENCAR, 1959; SLAPPENDEL e FERRER 1990; GENARO 1993) e apresenta formas clínicas assintomáticas e sintomáticas.

## 2.7. Manifestações clínicas

A leishmaniose canina se caracteriza pela sua enorme variabilidade de sintomas clínicos e dos tipos de lesões apresentadas, devido basicamente a fatores individuais relacionados exclusivamente ao tipo de resposta imunológica desenvolvida, grau de infecção, tempo de evolução da enfermidade e aos órgãos afetados (EZQUERRA, 2001; FERRER, 1995).

Após a infecção, muitos cães apresentam doença crônica progressiva com exibição de inúmeros sinais clínicos, como alopecia, úlceras na pele, linfadenopatia, caquexia (CIARAMELLA et al., 1997; TAFURI et al., 2001). Porém, pode ser extremamente freqüente não apresentarem nenhum sinal clínico, considerado por pesquisadores, o período de infecção silenciosa (DONATIEN e LESTOQUARD, 1938). Uma resposta imune celular protetora controla a infecção em alguns cães e em outros desenvolve uma doença lenta e progressiva (FERRER, 1999).

De acordo com os sinais clínicos, os animais podem ser classificados em assintomáticos, oligossintomáticos ou sintomáticos (ABRANCHES et al., 1991; BRASIL, 2004), sendo que os assintomáticos representam importante papel como reservatório da doença (POZIO et al., 1981).

Os cães assintomáticos possuem variabilidade à pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* sp., podendo permanecer sem sinais clínicos ou desenvolver poucos sintomas que desaparecem espontaneamente (ALMEIDA et al., 2005). Estima-se que 50% dos cães infectados não apresentam sinais da doença (ABRANCHES et al., 1991, FERREIRA et al., 2007, LAGE et al., 2007), porém sendo fontes de infecção para o vetor.

Classicamente os animais com LVC apresentam sinais inespecíficos, como linfadenopatia, hepatoesplenomegalia, hipergamaglobulinemia (CIARAMELLA et al., 1997; FERRER, 1999), alterações dermatológicas (FERRER et al., 1988; FERRER, 1999), onicogribose e emagrecimento (MARZOCHI et al., 1985; SANTA ROSA e OLIVEIRA, 1997; BRASIL, 2006).

Outros sinais como diarreia (FERRER, 1999; SILVA et al., 2005; LUVIZOTTO, 2006), febre irregular, apatia (SLAPPENDEL, 1988), lesões oculares (GARCIA-ALONSO et al., 1996; CIARAMELLA et al., 1997; FERRER, 1999; BRITO, 2004), epistaxe (FERRER et al., 1995) e

anemia (KOUTINAS et al., 1999) tem sido descritos. Além destes sinais, quadros atípicos, incluindo desordens neurológicas, musculoesqueléticas (FEITOSA et al., 2000; RIBEIRO, 2005), alterações estruturais cardiovasculares e respiratórias (LUVIZOTTO, 2006) têm sido relatadas em cães infectados com *Leishmania infantum*. Ainda encontram-se relatos de problemas articulares como a poliartrite autoimune, polimiosite e lesões ósseas (DENEROLLE, 1996) e disfunções digestivas, também têm sido assinaladas em animais com LVC (FERRER et al., 1995; BARROIUN-MELO et al., 2005; RIBEIRO, 2005).

Na fase final da infecção ocorrem em geral paraparesia, caquexia, inanição e óbito do animal (DEANE e DEANE, 1955; BRENER, 1957; MARZOCHI et al., 1985; ABRANCHES et al. 1991; GENARO, 1993; CIARAMELLA et al., 1997; TAFURI et al., 2001) sendo a principal causa a insuficiência renal (FERRER et al., 1995; BARROIUN-MELO et al., 2005; RIBEIRO, 2005).

Entre as alterações dermatológicas mais comuns têm-se a alopecia local ou generalizada, lesões como dermatite esfoliativa e ulcerações crostosas em geral no focinho, orelhas e nas extremidades, descamação furfurácea (HOMMEL, 1987; ALVES e FAUSTINO, 2005) hiperqueratose (BONATES, 2003; BRASIL, 2004), ceratite intersticial, despigmentação cutânea e pelame seco (SANTA ROSA e OLIVEIRA, 1997).

De acordo com Lestoquard e Donatien (1938), o alongamento anormal das unhas tem sido explicado pelo estímulo da matriz ungueal pelo próprio parasito. Porém, Marzochi et al. (1985) admitem que a apatia do cão seja grandemente responsável pelo não desgaste natural das mesmas.

Dentre os sinais clínicos da LVC, as oftalmopatias vêm ocupando importante papel, onde o animal pode apresentar lesão uni ou bilateral (BRITO, 2004), ceratoconjuntivite (BRASIL, 2004), ceratoconjuntivite seca, ceratite ulcerativa e corioretinite (BRITO, 2004), blefarite, conjuntivite, ceratite, uveíte anterior e glaucoma secundário (FERRER, 1999). E devido a deposição dos imunocomplexos nos vasos sanguíneos causando sinais clínicos como vasculite, uveíte, glomerulonefrite e artrite (GARCIA e ALONSO et al., 1996; NOLI, 1999; ALVES e FAUSTINO, 2005).

A imunossupressão, causada pela infecção, ao acometer às espécies susceptíveis faz com que o parasito se distribua, também, para órgãos que não pertencem ao sistema fagocítico mononuclear (SFM) (NICKOL e BONVENTRE, 1985). Nos rins, apesar de ser rara a presença

de parasitos, as lesões são frequentes tanto no homem (ANDRADE e IABUKI, 1972; DUARTE et al., 1983; DUTRA et al., 1985) quanto no cão (BENDERITTER et al., 1988; MACIANTI et al., 1989; POLI et al., 1991) e no modelo experimental de hamster (MATHIAS et al., 2001), levando à nefrite intersticial e glomerulonefrite, principalmente, do tipo proliferativa; lesões que podem desencadear proteinúria, hematúria e aumento dos níveis de uréia e creatinina (ETTINGER, 1997; COSTA et al., 2003).

Muitas pesquisas mostram que a maioria das doenças renais são imunologicamente mediadas (McCLUSKEY e BHAN, 1982). Apesar disso, o tipo de mediação imunológica, seja por ativação da resposta imune humoral (WEISINGER et al., 1978), seja por ativação da resposta imune celular (FILLIT e ZABRISKIE, 1982; van ALDERWEGEN et al., 1997) ou pela participação de macrófagos (VILA FRANCA et al., 1994) e apoptose de células renais (BAKER et al., 1994; SHIMIZU et al., 1996), ainda não é bem conhecida. Como na imunidade humoral, o mecanismo imune celular pode causar injúria local de tecidos (FILLIT e ZABRISKIE, 1982).

Pesquisas recentes sobre os mecanismos patogênicos das nefropatias revelam a participação de células T na patogênese da doença renal (KELLY, 1997; COSTA et al., 2001). O emprego de anticorpos monoclonais específicos tem possibilitado a identificação de populações de células T CD4<sup>+</sup> e T CD8<sup>+</sup> no tecido renal (BOUCHER et al., 1986). Estas células são necessárias para a indução da resposta humoral e ao mesmo tempo são necessárias para a defesa e eliminação de patógenos extracelulares e intracelulares (ABBAS et al., 1997).

Apesar de alguns estudos sobre nefropatias, ainda não há uma definição clara dos aspectos morfológicos e dos elementos que participam do mecanismo de lesão renal na leishmaniose visceral canina (COSTA et al., 2001), especificamente na nefrite intersticial.

## **2.8. Diagnóstico**

O diagnóstico da LVC no Brasil é, sem dúvida, um enorme desafio para os órgãos de controle de endemias, já que o cão é considerado o principal reservatório da doença nas Américas. Pode ser feito com base nas características clínicas apresentadas pelos animais, confirmadas por métodos laboratoriais parasitológicos e imunológicos (BONATES, 2003).

O método parasitológico baseia-se na demonstração do parasito, a partir de material coletado proveniente de biópsia de medula óssea, raspados de pele, ou aspirados de baço e fígado (LIGNOS, 1916; BALOZET, 1932; CARVALHO-NETA, 2004; BARROUIN-MELO et al.,

2005). Apesar de a presença de uma única forma amastigota ser confirmatória para o diagnóstico da LVC, esse método além de ser pouco sensível, é invasivo e traumático, requerendo técnico treinado para a realização do isolamento e leitura microscópica (SUNDAR e RAI, 2002).

Os métodos imunológicos, onde se detecta a presença de anticorpos contra o parasito, são úteis para uma triagem de casos, quando for difícil demonstrar a presença de *Leishmania* sp., bem como em inquéritos epidemiológicos (REY, 2001).

A Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) pode ser utilizada rotineiramente para a detecção de anticorpos específicos e é facilmente utilizada quando em grande escala. Com sensibilidade de 90 a 100% e especificidade de 80%, ainda é o teste de eleição para ser utilizado em inquéritos epidemiológicos por reunir uma série de vantagens como ser de fácil execução, rápido, barato e apresentar adequadas sensibilidade e especificidade, quando comparado com outras técnicas (ALVES e BEVILACQUA, 2004).

Já o ELISA é fácil de ser executado, possui sensibilidade maior que o teste RIFI (FERREIRA et al., 2007, TÁVORA et al., 2007), chegando até 100% em cães parasitologicamente positivos (FERREIRA et al., 2007), porém sua eficácia depende da qualidade do antígeno empregado (ROSATI et al., 2003). O ELISA é mais indicado, por ser menos oneroso e rápido, em estudos epidemiológicos com um grande número de amostras (TÁVORA et al., 2007).

Os métodos moleculares mais modernos possuem maior sensibilidade e especificidade do que a RIFI e o ELISA (ROSYPAL et al, 2005), porém, não estão acessível para rotina clínica veterinária sendo apenas aplicados na pesquisa científica (IKONOMOPOLUS et al., 2003).

Dentre estes, o método que tem mostrado grande especificidade é a reação em cadeia de polimerase (PCR) na detecção do DNA da *Leishmania*, porém esta técnica é reservada para laboratórios especializados (MATHIS e DEPLAZES, 1995; ASHFORD et al., 1995; IKONOMOPOULOS et al., 2003).

### **2.8.1. Diagnóstico histológico e estudo imuno-histoquímica na detecção de *Leishmania***

Outra forma de pesquisa do parasito é o diagnóstico histológico de *Leishmania* sp., porém ele tem pouco sucesso devido à baixa sensibilidade para detecção do parasito (LIVNI et al., 1983; FERRER et al., 1988; BOURDOISEAU et al., 1997).

Com o método histológico, se os parasitos são numerosos a identificação não é difícil, contudo, em muitos casos, especialmente em animais assintomáticos ou em tecidos pouco parasitados, poucas formas amastigotas são observadas, tornando o diagnóstico incerto e muitas vezes inconclusível. As técnicas usuais de coloração histológica são inapropriadas para a identificação do parasito em rins. Este problema pode ser solucionado com a utilização da técnica de imuno-histoquímica, que é um meio de diagnóstico mais sensível (CARAVACA et al., 1991; BOURDOISEAU et al., 1997; MARTINELLI et al., 1999; BEENA et al., 2003; COSTA et al., 2003; TAFURI et al., 2004; MELO, 2005; MOREIRA et al., 2007; SONODA, 2007; GIUNCHETTI et al., 2009), e específico, simples, não necessitando a utilização de equipamentos especiais (LIVNI et al., 1983; FERRER et al., 1988; BOURDOISEAU et al., 1997).

A imuno-histoquímica combina técnicas anatomopatológicas, imunológicas e bioquímicas, localizando componentes tissulares pelo uso de anticorpos específicos e moléculas marcadas em cortes histológicos parafinados, congelados ou previamente mantidos em formol. Trata-se de um instrumento muito utilizado em pesquisas e na esfera diagnóstica (TAFURI et al., 2004; BARRA, 2006). Diversos tecidos têm sido avaliados por meio desta técnica na tentativa de minimizar resultados inconclusivos observados em outros métodos laboratoriais (FERRER et al., 1988; BOURDOISEAU et al., 1997; XAVIER et al., 2006; MOREIRA et al., 2007). De acordo com BOURDOISEAU et al. (1997), TAFURI et al. (2004) e MELO (2005), estudos realizados para a detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp. em tecidos de cães infectados apresentam um aumento de até 50% de positividade quando da utilização da técnica de imuno-histoquímica em comparação à histopatologia com Hematoxilina-Eosina (HE).

A imunomarcção de linfócitos, imunoglobulinas e macrófagos também tem sido avaliada em alguns estudos realizados em cães portadores de leishmaniose visceral (VAMVAKIDIS et al., 2000; MARCONDES 2009; TORRES-NETO et al., 2009). Moreira et al. (2007), pesquisando a presença do parasito em tecidos linfóides de cães com leishmaniose visceral, observaram que a imuno-histoquímica apresentou resultados mais sensíveis e específicos que os métodos de ELISA, citologia aspirativa por agulha fina e histopatologia (HE), obtendo resultados que variaram entre 92,7% a 100% de sensibilidade, na dependência dos sinais clínicos encontrados.

### 3. REFERÊNCIAS

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; POBER, J. S. **Cellular and molecular immunology**. 3 ed. Philadelphia:W.B. Saunders, p.494, 1997.

ABRANCHES, P. M. C. et al. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. **Journal Parasitology**, v.77, n.4 , p.557-61, 1991.

AGUIAR, P. H. P., et al. Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.283-294, 2007.

ALENCAR, J. E. Calazar canino: Contribuição para o estudo da epidemiologia no Brasil.(Doutorado). **Imprensa Oficial Ceará**, 1959, 342 p.

ALMEIDA, M. A. O. et al. Antileishmanial antibody profile in dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.106, p.151-158, 2005.

ALVES, L. C.; FAUSTINO, M. A. G. Leishmaniose visceral canina **Manual da Schering-Plough**, 2005, 14 p.

ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos. **Caderno de Saúde Pública**, v. 20, n.1, p.259-265, 2004.

AMÓRA, S. S. A., et al. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1854-1859, 2006.

ANDRADE, Z. A; IABUKI, K. A nefropatia do calazar. **Revista do Instituto de Medicina Tropical. São Paulo**, v.14, n.1, p.51-54, 1972.

ASHFORD, D. A. et al. Comparison of the polymerase chain reaction and serology for detection of canine visceral leishmaniasis. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 53, n. 3, p. 251-255, 1995.

BACELLAR, O. et al. IL-10 and IL-12 are the main regulatory cytokines in visceral leishmaniasis. **Cytokine**, v.12, p.1228-1231, 2000.

BADARÓ, R.; DUARTE, M. I. S. Leishmaniose Visceral (Calazar). In: VERONESE, R.; FOCACCI, R. **Tratado de Infectologia**, v. 2. São Paulo: Atheneu, 1996, p.1234-1259.

BAKER, A. J. et al. Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. **Journal Clinical Investigation**, v. 94, n. 5, p. 2105-2116, 1994.

BALAZET, L. Les prélèvements pour la recherche des leishmanies: technique de la ponction de la rate chez le chien. **Archives de L'Institut Pasteur de Tunis**, v.21, n.2, p.341-346, 1932.

BARBOSA, M. A. G. Prevalência, avaliação clínica e imunológica de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) com infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) provenientes do município Tamandaré, litoral sul do Estado de Pernambuco, Brasil. 2010. 122f. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2010.

BARRA, M. B. O uso da imunoistoquímica no diagnóstico: indicações e limitações. **Revista da Associação Médica do Rio Grande do Sul**, v.50, n.2, p.173-184, 2006.

BARROUIN-MELO, S. M. et al. Comparison between splenic and lymph node aspirations as sampling methods for the parasitological detection of *Leishmania chagasi* infection in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.2, p.195-197, 2004.

BEENA, K.R.; RAMESH, V.; MUKHERJEE, A. Identification of parasite antigen, correlation of parasite density and inflammation in skin lesions of post kala-azar dermal leishmaniasis. **Journal of Cutaneous Pathology**, v.30, p.616-620, 2003.

BELKAID, Y. et al. The role of Interleukin (IL)-10 in the persistence of *Leishmania major* in the skin after healing and the therapeutic potential of anti-IL-10 receptor antibody for sterile cure. **Journal of Experimental Medicine**, v.194, n.10, p.1497-1506, 2001.

BENDERITTER, T. H. et al. Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. **Annual Tropical Medical Parasitology**, v.82, n.4, p.335-341, 1988.

BONATES, A. Leishmaniose visceral (calazar). **Veterinary News**, v.61, p.4-5, 2003.

BOUCHER, A.; DROZ, D.; ADAFER, E. Characterization of mononuclear cells subsets in renal cellular interstitial infiltrates. **Kidney International**, v.29, p.1043-1049, 1986.

BOURDOISEAU, G.; MARCHAL, T.; MAGNOL, J. P. Immunohistochemical detection of *Leishmania infantum* in formalin-fixed, paraffin-embedded sections of canine skin and lymph nodes. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**. Columbia, v.9, n. 4, p. 439-440. 1997.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2004, 120 p.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília-DF: Editora do Ministério da Saúde, 2006. 120 p.

BRENER, Z. Calazar canino em Minas Gerais. 1957. 90fl. **Tese** (Doutorado). Faculdade de Medicina, UFMG, Belo Horizonte. 1957.

BRITO, F. L. C. Alterações oculares e análise do humor aquoso de cães (*Canis familiaris* Linnaeus, 1758) infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* (Cunha & Chagas, 1937). 2004.



53 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2004.

CAMARGO, J. B. et al. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle, Brasil. **Clínica Veterinária**, Ano XII, n. 71, p. 86-92, 2007.

CABRAL, M., O'GRADY, J., ALEXANDER, J. Demonstration of *Leishmania* specific cell mediated and humoral immunity in asymptomatic dogs. **Parasite Immunology**, v.14, p.531-539, 1992.

CARAVACA, F. et al. Acute renal failure in visceral leishmaniasis. **American Journal Nephrology**, v. 11, n. 4, p. 350-352, 1991.

CARVALHO-NETA, A. V. C. Estabelecimento de uma nova metodologia aplicada ao diagnóstico da LVC baseada na pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania (L.) chagasi* por citometria de fluxo. 2004. **Dissertação** (Mestrado) Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2004.

CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. 2008. 62f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa. 2008.

CHER, D. J., MOSMANN, T. R. Two types of murine helper cell clone. II Delayed-type hypersensitivity is mediated by Th1 clones. **Journal Immunology**, v.138, p.3688-3694, 1987.

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

COFFMAN, R. L. et al. The role of helper T cell products in mouse B cell differentiation and isotype regulation. **Immunology Revista**, v.102, p.5-28, 1988.

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

COSTA, F. A. L. Patologia e imunopatogenia da nefropatia da Leishmaniose visceral canina. 2001.129 f. **Tese** (Doutorado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de São Paulo, São Paulo.

COUTINHO, M. T. Z. et al. Participation of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) in the epidemiology of canine visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v.128, n.1-2, p.149-155, 2005.

COUTINHO, M. T. Z.; LINARDI, P. M. Can fleas from dogs infected with canine visceral leishmaniasis transfer the infection to other mammals? **Veterinary Parasitology**, v.147, p.320-325, 2007.

CUNHA, A. M.; CHAGAS, E. Nova espécie de protozoário do Gênero *Leishmania* patogênica para o homem. **O Hospital**, v.XI, n.2, p.5-9, 1937.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M. E. F.; BRANDÃO-FILHO, S. P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.140, p.54-60, 2006.

DAY, M. J. Clinical immunology of the dog and cat. London: Manson Publishing / The **Veterinary Press**, p.288, 1999.

DE ANDRADE, R. A. et al. Clinical value of anti-*Leishmania (Leishmania) chagasi* IgG titers detected by flow cytometry to distinguish infected from vaccinated dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.116, p.85-97, 2007.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Observações preliminares sobre a importância comparativa do homem, do cão e da raposa (*Lycalopex vetulus*) como reservatório da *Leishmania donovani* em área endêmica de calazar, no ceará. **O Hospital**, v.48, p.61-76, 1955.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Visceral Leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. **Revista do Instituto Medicina Tropical**, v.4, p.198-212, 1962.

DENEROLLE, P. H. Leishmaniose canina: difficultés du diagnostic et du traitement (125 cas). **Pratique Medicale Chirurgicale de l'Animal de Compagnie**, v.31, p.137-145, 1996.

DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Remarques sur l'évolution de la leishmaniose générale du chien. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, n.31, p.214-217. 1938.

DUARTE, M. I. S. et al. Interstitial nephritis in human Kala-azar. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.77, n.4, p.531-537, 1983.

DUTRA, M. et al. Renal involvement in visceral leishmaniasis. **American Journal of Kidney Disease**, v.6, n.1, p.22-27, 1985.

ETTINGER, S. J., FELDMAN, E. C. Tratado de Medicina Interna Veterinária: moléstia de cão e do gato. 4ªed. São Paulo: Manole, v.2, 1997. 3020p.

EZQUERRA, J. A. Las Leishmaniasis: de la biología al control. 2ed. Madri: Laboratório Sutervet S/A, 2001. 236p.

FEITOSA, M. M.; IKEDA, F. A; LUVIZOTTO, M. C. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba – São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, n.28, p.36-42, 2000.

FERRER, L. et al. Identification of *Leishmania donovani* amastigotes in canine tissues by immunoperoxidase staining. **Research in Veterinary Science**, v.44, p.194-196, 1988.

FERRER, L. et al. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v.136, n.20, p.514-516, 1995.

FERRER, L. Clinical aspects of canine Leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 1999, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona, 1999. p. 6-10.

FERRER, L. The pathology of canine leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 2, 2002, Sevilla, Spain. **Proceedings...** Salamanca: Intervet bv, 2002. p. 21.

FERREIRA, E. C. et al. Comparison of serological assays for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis in animals presenting different clinical manifestations. **Veterinary Parasitology**, v.146, p.235–241, 2007.

FILLIT, H. M.; ZABRISKIE, J. B. Cellular immunity in glomerulonephritis. **American Association of Pathologists**, v.109, n.2, p.227-243, 1982.

FUNDAÇÃO MUNICIPAL DE SAÚDE. Departamento de Epidemiologia. **Relatórios Técnicos Anuais. Teresina, Piauí, 1995 a 2000.** (Mimeo). \_\_\_\_\_. Relatórios Anuais (1995-2000) Serviço de Controle de Raiva Calazar e Outras Zoonoses. Teresina 2008.

GARCIA, F. C. B. Métodos subsidiários para o diagnóstico da LTA: comparação dos resultados do seqüenciamento de DNA e da PCR-RFLP para a determinação da espécie de *Leishmania* em amostras cutâneo-mucosas (janeiro de 1993 a junho de 2004). 2005. 90 f. **Dissertação** (Mestrado em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

GARCÍA-ALONSO, et al Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v.18, p.617-623, 1996.

GENARO, O. Leishmaniose Visceral canina experimental. 1993. 202p. **Tese.** (Doutorado em Parasitologia). Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte. 1993.

GIUNCHETTI, R. C. et al. Histopathological and immunohistochemical investigations of the hepatic compartment associated with parasitism and serum biochemical changes in canine visceral leishmaniasis. **Research in Veterinary Science**, v.84, p.269-277, 2009.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v.7, n.3, p.338-349, 2004.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Immunity and immunosuppression in experimental visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.4, p.615-623, 2004.

HOMMEL, M. The genus *Leishmania*: Biology of the parasites and clinical aspects. **Bulletin Institut Pasteur**, p.61-66, 1987.

- IKONOMOPOLUS, J. et al. Molecular diagnosis of leishmaniasis in dogs comparative application of traditional diagnostic methods and the proposed assay on clinical samples. **Veterinary Parasitological**, v.113, p.99-113, 2003.
- JERONIMO, S. M. B.; SOUSA, A. Q.; PEARSON, R. D. Leishmaniose. In: GOLDMAN, L.; AUSIELLO, D. **Tratado de Medicina Interna**, 2.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2005. 2434p.
- KELLY, C. J. Development and Expression of nephritogenic T cells. IN: NEILSON, E. G.; COUSER, W. G. **Immunologic renal diseases**. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers, p.251-263, 1997.
- KOUTINAS, A. F. et al. 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.
- LAGE, R. S. et al. Analysis of the cytokine profile in spleen cells from dogs naturally infected by *Leishmania chagasi*. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v.115, p.135-145, 2007.
- LAINSON, R.; SHAW, J. J. Evolution, classification and geographical distribution. In: PETERS, W.; KILLICK-KENDRICH, R. ed. **The leishmaniasis in biology and medicine**. London: Academic Press, p.1-121, 1987.
- LARANGEIRA, D. F. Avaliação da imunidade humoral e celular em cães naturalmente infectados com *Leishmania (L.) chagasi* e sua correlação com a transmissibilidade para o vetor. 2009. 79f. **Tese (Doutorado)**. Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, 2009.
- LAVERAN, C. L. A; MESNIL, F. Sur un protozoaire nouveau (*Piroplasma donovani* Lou. Etmean) Parasite d'une fièvre d'Inde. **Comptes Rendus de l'Association des Anatomistes**, n.137, p.957-961, 1903.
- LERNER, E. A.; RIBEIRO, J. M. C.; NELSON, R. J.; LERNER, M. R. Isolation of maxadilan, a potent vasodilatory peptide from the salivary glands of the sand fly *Lutzomyia longipalpis*. **Journal of Biological Chemistry**. v.266, n.17, p.11234-11236, 1991.
- LERNER, E. A.; SHOEMAKER, C. B. Maxadilan: cloning and functional expression of the gene encoding this potent vasodilator peptide. **Journal of Biological Chemistry**, v.267, n.2, p.1062-1066, 1992.
- LESTOQUARD, F.; DONATIEN, A. Parasitisme de la matrice ungueale dans la leishmaniose generale du chien. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v.31, p.483-487, 1938.
- LIGNOS, A. L. Infection par *Leishmania* des chiens de l'île d'Hidra. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, v.6, n.2, p.117, 1916.

- LIVNI, N. et al. Immunoperoxidase method of identification of *Leishmania* in routinely prepared histological sections. **Virchows Archiv A Pathological Anatomy and Histology**, v.401, n.2, p.147-151, 1983.
- LOPEZ, R. et al. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medicine**, v.43, 469-474, 1996.
- LUVIZOTTO, M. C. R. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. **Manual Técnico Leishmaniose Visceral Canina**, Fort Dodge, p.28-29, 2006.
- MACIANTI, F.; POLI, A.; BIONDA, A. Analysis of renal immune- deposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. **Parasitology**, v.31, n.2-3, p.213-230, 1989.
- MARCONDES, M. Envolvimento do sistema nervoso central na leishmaniose visceral canina. 2009. 154f. **Tese** (Livre-docência). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista – Araçatuba. 2009.
- MARTINELLI, R.; SILVEIRA, M. A.; ROCHA, H. Glomerulonefrites associada a infestações parasitárias. In: SOARES, V.; ALVES, M. A. R.; BARROS, R. T. **Glomerulopatias: patogenia, clínica e tratamento**. São Paulo: Sarvier, p.206-213. 1999
- MARTINS, I. V. Aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da Leishmaniose Visceral em cães (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA & CHAGAS, 1937) na cidade de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil. Recife, 2008.75f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2008
- MARZOCHI, M. C. A. A leishmaniose tegumentar no Brasil. In: **Grandes Endemias Brasileiras**. Universidade de Brasília, Brasília. 1989.
- MARZOCHI, M. C. A. et al. Leishmaniose Visceral (Calazar). **Jornal Brasileiro de Medicina**, v.41, n.5, p.61-84, 1981.
- MARZOCHI, M. C. A. et al. Canine Visceral Leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil, clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz Rio**, v.80, n.3, p.349-357, 1985.
- MARZOCHI, M. C. A.; MARZOCHI, K. B. F. Tegumentary and visceral leishmaniasis in Brazil. Emerging anthroozoonosis and possibilities for their control. **Caderno de Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v. 10 (supl. 2), p.359-375, 1994.
- MATHIAS, S. R.; COSTA, F. A. L.; GOTO, H. Detection of immunoglobulin in the lung and in the liver during visceral leishmaniasis in hamsters. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.34, n.3, p.340-55, 2001.

- MATHIS, A.; DEPLAZES, P. PCR and in vitro cultivation of *Leishmania* spp. in diagnostic samples from humans and dogs. **Journal of Clinical Microbiology**, v.33, n.5, p.1145-1149, 1995.
- MAURICIO, I.L. et al. Genomic diversity in the *Leishmania donovani* complex. **Parasitology**, v.119, n.3, p.237-246, 1999.
- McCLUSKEY, R. T.; BHAN, A. K. Cell-mediated mechanism in renal diseases. **Kidney International**, v.21, p.2-6, Sup.11, 1982.
- MELO, C. B. et al. Prevalência de anticorpos anti-*Leishmania* em cães em Aracaju, Sergipe. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE PARASITOLOGIA VETERINÁRIA, 13, SIMPÓSIO LATINO DE RICKETTSIOSES, 1., 2004, Ouro Preto. **Anais...** Ouro Preto, 2004.
- MELO, F. A. Alterações da matriz celular na pele de cães com leishmaniose visceral naturalmente infectados, 2005. 93f. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal de Viçosa, 2005.
- MOLINA, R. et al. Infectivity in dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. **Transactions Royal of Society Tropical Medicine and Hygiene**, v.88, p.491-493, 1994.
- MONTEIRO, E. M. et al. Leishmaniose visceral: estudo de flebotomíneos e infecção canina em Montes Claros, Minas Gerais. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.38, n.2, p.147-152, 2005.
- MONTEIRO, P. S.; LACERDA, M. M.; ARIAS, J. R. Controle da Leishmaniose Visceral no Brasil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.27, p.67, 1994. Suplemento III.
- MOREIRA, M. A. B. et al. Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs. **Veterinary Parasitology**, v.145, p.245, 2007.
- MORENO, J.; NIETO, J.; CHAMIZO, C. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before and after chemotherapy. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v.71, n.3/4, p.181-195, 1999.
- MOURA, S. T. et al. Diagnosis of canine leishmaniasis in the urban área of the District of Cuiabá, State of Mato Grosso, Brazil. **Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science**, v.36, n.2, 1999.
- NAVEDA, L. A. B. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n.58, p.988-993, 2006.
- NICKOL, A. D.; BONVENTRE, P. F. Immunossuppression associated with visceral leishmaniasis of hamsters. **Parasite Immunology**, v.7, p.439-449, 1985.

- NICOLE, C. Sur trois cas d'infection splénique infantile à corps de Leishman observés en Tunisie. **Archives du Institute Pasteur de Tunisia**, v.3, p.1-26, 1908.
- NIETO, C. G. et al. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**, v.45, p.33-47. 1992.
- NOLI, C. La leishmaniosis del cane. **Waltham Focus**, London, v.9, n.2, p.16-24, 1999.
- PEARSON, R. D.; SOUSA, A. Q. Clinical spectrum of leishmaniasis. **Clinical Infectious Diseases**, v.22, n.1, p.1-11, 1996.
- PINELLI, E., RUTTEN, V. P. M. G., RUITENBERG, E. J. Cellular immune responses in canine leishmaniasis. In: **International Canine Leishmaniasis Forum**, 1999, Barcelona, Spain. **Proceedings...**Barcelona, Spain, 1999. p.60-64.
- POCAI, E. A. et al. Visceral Leishmaniasis (kala-azar). Five cases in dogs in Santa Maria, Rio Grande do Sul, South Brazil. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.501-505, 1998.
- POLI, A. et al. Renal involvement in canine leishmaniasis: a light- microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. **Nephron**, v.57, n.4, p.444-452, 1991.
- POZIO, E. et al. Leishmaniasis in Tuscany (Italy): Canine leishmaniasis in the focusi of Monte Argentario (Grosseto). **Acta Tropical**, v.38, p.383-393, 1981.
- PRATA, A.; SILVA, L. A. Calazar. In: COURA, J. R. **Dinâmica das Doenças Infecciosas e Parasitárias**, v. 1, Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. p.713-732. 2005.
- PUMAROLA, M. et al. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v.105, n.3, p.279-286, 1991.
- QUINNELL, R. J. et al. Tissue cytokine responses in canine visceral leishmaniasis. **Journal of Infectious Diseases**, v.183, p.1421-1424, 2001.
- REY, L. Parasitologia. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan. 2001.424p.
- RIBEIRO, V. M. Leishmaniose Visceral Canina: Nossos cães devem morrer? **Cães & Gatos**, p.66-70, 2005.
- ROSATI, S. et al. Prokaryotic expression and antigenic characterization of three recombinant *Leishmania* antigens for serological diagnosis of canine leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.10, p.1153-1156, 2003.
- ROSS, R. Further notes on leishman's bodies. **British Medical Journal**, v.2, p.1401, 1903.
- ROSYPAL A. C. et al. Transplacental transmission of a North American isolate of *Leishmania infantum* in an experimentally infected beagle. **Journal Parasitology**, v.91, p.970-972, 2005.

SACKS, D. L. Metacyclogenesis in *Leishmania* promastigotas. **Experimental Parasitology**, v.69, p.100-103, 1989

SACKS, D., NOBEN-TRAUTH, N. The immunology of susceptibility and resistance to *Leishmania major* in the mice. **Nature Reviews Immunology**, v.11, p.845-858, 2002.

SANTA ROSA, I. C. A.; OLIVEIRA, I. C. S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, ano 2, n.11, p. 24-28, 1997.

SANTOS, C. A. C. Percepção, epidemiologia e aspectos da Leishmaniose Visceral Canina em área urbana do estado de Pernambuco. 2006. 78f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2006.

SAVANI, E. S. M. M. et al. Vigilância de leishmaniose visceral americana em cães de área não endêmica, São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.2, p.260-2, 2003.

SHAW, J. The leishmaniasis – survival and expansion in a changing world. A mini-review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**. v. 102, n. 5, p. 541-547, 2007.

SHIMIZU, A. et al. Apoptosis in progressive crescentic glomerulonephritis. **Laboratory Investigation**, v.74, n.5, p.941, 1996.

SILVA, E. S., et al. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais Brasil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.96, p.285-291, 2001.

SILVA, E. F. P. **Inquérito sorológico de leishmaniose canina na cidade de RIO Verde, GO**. 2007. 54f. Dissertação (Mestrado). Universidade do Rio Verde. Goiás. 2007

SILVA, A. V. M. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Caderno de Saúde Pública**, v.21, n.1, 324-328, 2005.

SLAPPENDEL, R. J., et al. Canine leishmaniasis. A review based on 95 cases in the Netherlands. **Veterinary Quartely**, n.10, p.1-16, 1988.

SLAPPENDEL, R. J.; FERRER, L. Leishmaniasis. In: Greene, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: W.B. Saunders Co, 1990. p.450-458.

SONODA, M. C. Leishmaniose visceral canina: aspectos clínico-epidemiológicos de casos atendidos no período de 1997 a 2007, no Hospital Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo. São Paulo, 2007. 115p. **Dissertação** (Mestrado) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. **Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology**, v.9, n.5, p.951-958, 2002.



TAFURI, W. L. et al. Canine visceral leishmaniosis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.96, n.3, p.203-212, 2001.

TAFURI, W. L. et al. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunological Methods**, v.292, n.1-2, p.17-23, 2004.

TÁVORA, M.P.F. et al. Estudo de validação comparativo entre as técnicas ELISA e RIFI para diagnosticar *Leishmania* sp. em cães errantes apreendidos no município de Campo dos Goytacazes, Estado do Rio de Janeiro. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.40, n.4, p.182-483, 2007.

TORRES-NETO, R. et al. Expression of CD3 and CD79a cell markers in exfoliative and ulcerative skin lesion in dogs with leishmaniasis. **Semina: Ciências Agrárias**, v.29, n.1, p.165-174, 2009.

VAMVAKIDIS, C.D. et al. Mastigatory and skeletal muscle myositis in canine leishmaniasis (*Leishmania infantum*). **Veterinary Record**, v.146, n.24, p.698-703, 2000.

Van ALDERWEGEN, I. A. et al. Natural infection of *Equus asinus* by *Leishmania braziliensis brasiliensis*-Bahia. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.81, p.237-238, 1986.

VILAFRANCA, M. et al. Participation of monocytes and macrophages in canine glomerular disease, **Journal Veterinary Medicine**, v.41, p.770-779, 1994.

VIDAL, I. F. Estudo clínico, epidemiológico e sorológico de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (leishmania) chagasi* (Cunha e Chagas, 1937) em Campina Grande – Paraíba. 2008. 54f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2008

WALTERS, L. L. *Leishmania* differentiation in natural and unnatural sand fly hosts. **J. EUK. Microbiology**, v.40, p.196-206, 1993.

WEISINGER, J. R. et al. Clinical and histological kidney involvement in human kala-azar. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v.27, n.2, p.357-359, 1978.

XAVIER, S.C. et al. Canine visceral Leishmaniasis: a remarkable histopatological picture of one asymptomatic animal repostia from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.994-1000, 2006.

## **4. CAPÍTULO 1**

**FREQUÊNCIA DE ANTICORPOS ANTI-*LEISHMANIA INFANTUM*  
(NICOLLE 1908) EM CÃES (*CANIS FAMILIARIS*) (LINNAEUS, 1758)  
PROVENIENTES DA ZONA URBANA DO MUNICÍPIO DE BOM JESUS,  
PIAUI, BRASIL**

**Frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* (Nicolle 1908) em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus, Piauí, Brasil**

**Resumo**

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença sistêmica severa e em alguns casos fatal, sendo causada pelo protozoário *Leishmania infantum*. A LVC tem sido detectada em cães de vários estados do Brasil. O objetivo deste estudo foi determinar a frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* nos cães do município de Bom Jesus, PI. As amostras de soro dos cães foram submetidas ao teste de ELISA para a detecção de anticorpos de *L. infantum*. De 206 amostras de soro examinados, 42,23% foram positivas ao teste de ELISA. Não houve diferença significativa entre cães sintomáticos e assintomáticos. Estes resultados indicam que a infecção de LVC é elevada na região estudada e medidas de controle devem ser adotadas a fim de impedir a infecção na população canina deste município.

**Palavras-chave:** Leishmaniose visceral canina; Imunodiagnóstico, Epidemiologia.

**Anti-*Leishmania infantum* frequency of antibodies (Nicolle 1908) in dogs  
(*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) proceeding from the urban zone of the city  
of Bom Jesus, Piauí, Brazil**

**Abstract**

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a severe systemic and fatal disease of dogs caused by the protozoan parasite *Leishmania infantum*. CVL have been reported in many states in Brazil. The goal of this research was to determine the frequency of antibodies against *Leishmania infantum* in dogs from Bom Jesus County, Piauí State. Serum samples from dogs were submitted to ELISA test for detection of *L. infantum* antibodies. From 206 serum samples examined, 42.23% were positive for ELISA. There was no significant difference between symptomatic and asymptomatic dogs. These results indicate that CVL infection is high in the studied region, and measures of control must be adopted in order to prevent the infection in dog's population in this city.

**Key Words:** Canine Visceral Leishmaniasis; Immunodiagnostic; Epidemiology

## **Frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* (Nicolle 1908) em cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus, Piauí, Brasil**

### **Introdução**

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma doença sistêmica severa e em alguns casos fatal, sendo considerada como doença imunomediada (GARCIA e ALONSO et al., 1996). Segundo Ribeiro (2005), após a infecção, a disseminação dos parasitos ocorre da pele para os linfonodos, baço, medula óssea, e para todo o organismo, com possível desenvolvimento posterior do quadro clínico (FEITOSA, 2000). Dependendo da imunocompetência do hospedeiro, os sinais clínicos tornam-se evidentes num período que varia de três meses a sete anos (SANTA ROSA e OLIVEIRA, 1997; NOLI, 1999; FEITOSA, 2000).

A doença canina tem sido diagnosticada em vários estados do Brasil (POCAI et al., 1998; NUNES et al., 2001; BEVILACQUA, 2001; CAMARGO-NEVES et al., 2001; DANTAS-TORRES et al., 2006), independente da presença de casos humanos (MARZOCHI et al. 1985).

O diagnóstico definitivo na LVC é difícil, sendo o método mais seguro o parasitológico, através da detecção do parasito. Entretanto este método esbarra na falta de praticidade e baixa sensibilidade. Por outro lado, os métodos moleculares de diagnóstico apesar de possuírem alta sensibilidade e especificidade, são normalmente utilizados apenas em instituições de pesquisa (BARROUIN-MELO et al., 2005, BONATES, 2003)

Em virtude destes dados e devido à ausência de levantamentos epidemiológicos quanto à infecção natural por *Leishmania infantum* em cães no município de Bom Jesus, este estudo tem como objetivo estudar a frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* nos cães deste município, assim como os aspectos clínicos destes animais.

### **Material e métodos**

O município de Bom Jesus (09°04'28"S e 44°21'31"O) se localiza no sul do estado do Piauí (FIGURA 1), a uma distância de 635 km da capital do estado, e apresenta clima quente e semi-úmido com temperaturas mínimas de 18°C e máximas de 36°C (AGUIAR, 2004), e umidade relativa do ar variável podendo chegar a 20%.

Com base no censo canino fornecido pela Secretaria da Saúde do município (1215 cães domiciliados), preconizou-se coletar amostras de, no mínimo, 15% dos cães do município, sendo coletadas, por conveniência, amostras sanguíneas de 206 cães domiciliados de ambos os sexos, de várias raças e idades, em todos os bairros do município, ou seja, nos bairros Aeroporto, Centro, Chapadinha, COHAB, Hugo Piauilino, Josué Parente, Judite Piauilino, Morro do Frei, Penitenciária, São Pedro e Vicente Brandão.



**Figura 1- Imagem geográfica do Brasil, destacando o Estado do Piauí mostrando a localização do município de Bom Jesus (Fonte: <http://commons.wikimedia.org>).**

Para cada animal foi preenchida uma ficha de identificação com dados referentes ao sexo, raça, idade, porte e condição clínica do mesmo, a sua procedência, informações do proprietário do animal. No que concerne à faixa etária os animais estudados foram divididos em três grupos: jovens (de 6 meses até 1 ano), adultos (de 1 ano até 8 anos) e idosos (mais de 8 anos). Concomitante após a contenção física, conforme Feitosa (2008), realizou-se o exame físico do animal, destacando-se principalmente a inspeção para verificar a presença de sinais sugestivos de LVC (FERRER et al. 1999).

De todos os animais foram coletados aproximadamente 5 ml de sangue das veias cefálica

ou jugular, com seringa<sup>1</sup> e agulha<sup>2</sup>, e acondicionados em tubos de ensaio estéreis, sem anticoagulante para obtenção do soro, que foram, então, mantidos inclinados até a completa retração do coágulo. O soro resultante foi armazenado em tubos de polipropileno<sup>3</sup> a – 20°C até a realização dos exames.

Para o diagnóstico da LVC, o teste ELISA foi realizado através do kit ELISA/S7<sup>4</sup>, tendo como base um peptídeo recombinante, segundo as instruções do fabricante. A leitura da reação foi realizada em um leitor de ELISA em densidade óptica de 450 nanômetros, no Laboratório de Doenças Parasitárias da Universidade Federal Rural de Pernambuco.

Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e a positividade da infecção, foi utilizado o teste de Independência de Qui-quadrado com nível de significância de 5%. O software utilizado para análise dos dados foi o BioEstat 5.0.

## **Resultados e discussão**

O teste sorológico ELISA revelou a presença de anticorpos circulantes em 42,23% (87/206) dos animais.

O resultado referente à frequência aqui encontrado é superior aos achados de Rosário et al. (2005), que asseguram que a prevalência de LVC no Brasil varia de 1,9 a 35%, entretanto inferior aos resultados obtidos por Moura et al. (1999) em Cuiabá e Silva et al. (2001) em Belo Horizonte que observaram prevalência maior ou igual a 64%.

Por outro lado, a frequência da LVC em Bom Jesus está próxima àquelas relatadas por Amóra et al. (2006) que observaram 45% de cães soro reagentes na zona urbana da cidade de Mossoró – RN e por Dantas-Torres et al. (2006) que relataram ser de 40,3% a prevalência da LVC em Paulista – PE, e superiores a todos os outros dados relacionados à prevalência da LVC no Brasil (VILA NOVA, 2003; COSTA, 2004; CALHEIROS, 2005; AGUIAR, 2007; SILVA, 2007; VIDAL, 2008; CASTRO, 2008; FMS, 2008; MARTINS, 2008; BARBOSA, 2010).

A discordância observada entre as prevalências pode ser devido, principalmente, ao estágio da infecção, ao número de amostras, a natureza do antígeno, ao teste sorológico empregado, como assegura Ferrer (1999). Deve-se também levar em consideração o nível de

---

<sup>1</sup> Seringa descartáveis 10 ml, Becton Dickson

<sup>2</sup> Agulhas descartáveis 25x7mm, Becton Dickson

<sup>3</sup> Tubos de propileno, Eppendorff, WWR

<sup>4</sup> Kit para diagnóstico do Calazar canino ELISA/S7, Biogene Ind. e Com. Ltda, Recife/PE

endemicidade de cada localidade estudada, ocupação desordenada da população humana, principalmente em áreas próximas à mata nativa (CABRERA et al., 2003; GUIMARÃES et al., 2005; LANGONI et al., 2005; RONDON et al., 2008; SILVA et al., 2008), presença de animais domésticos (GAMA et al., 1998; GUIMARÃES et al., 2005), ausência de saneamento básico e coleta de lixo, como na área estudada, que podem interferir nas taxas de prevalência.

Os resultados da sorologia de acordo com a raça dos cães encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Frequência absoluta e relativa de caninos submetidos à sorologia para *L.infantum* da cidade de Bom Jesus, segundo a raça

RAÇAS	Animais				TOTAL
	Positivos		Negativos		
	FA	FR (%)	FA	FR (%)	
<b>Sem Raça Definida (SRD)</b>	82	94,25	105	88,24	187
<b>Cocker Spaniel</b>	0	0	1	0,84	1
<b>Dogue alemão</b>	0	0	2	1,68	2
<b>Fox Paulistinha</b>	1	1,15	0	0	1
<b>Labrador</b>	0	0	1	0,84	1
<b>Pastor alemão</b>	1	1,15	3	2,52	4
<b>Pinscher</b>	0	0	2	1,68	2
<b>Pit bull</b>	1	1,15	2	1,68	3
<b>Poodle</b>	0	0	2	1,68	2
<b>Rottweiler</b>	1	1,15	0	0	1
<b>Teckel</b>	1	1,15	1	0,84	2
<b>Total</b>	<b>87</b>	<b>100</b>	<b>119</b>	<b>100</b>	<b>206</b>

\*p-valor do teste de independência (se p-valor < 0,05, as variáveis são independentes)

Apesar de ter sido observado uma maior quantidade de cães SRD com sorologia positiva para o LVC, não houve diferença significativa entre as frequências de animais positivos com relação à raça ( $p = 0,166$ ), discordando de França-Silva et al. (2003), afirmaram que cães de determinadas raças, particularmente aqueles da raça Boxer e da Cocker Spaniel são mais susceptíveis à infecção por *Leishmania* sp.

O maior número de cães SRD em Bom Jesus descreve a característica da população canina do município, fato associado à dificuldade de aquisição de cães de raça definida devido à ausência de canis e de pet shops na região do Vale do Gurguéia.

Com relação à idade e ao sexo, a frequência absoluta e relativa dos animais com sorologia positiva para *L. infantum* encontram-se na Tabela 2. Embora a faixa etária mais acometida pela LVC tenha sido a adulta com 85,05% (74/87) dos cães soropositivos para a LVC, não houve diferença significativa entre as frequências de animais positivos com relação à idade ( $p = 0,554$ ).



Contudo o maior número de adultos que pode ser explicado pela predisposição dos cães adultos em adquirirem a doença, associada provavelmente ao longo período de incubação (ARIAS, 1996).

Assim como em estudo realizado por Julião et al. (2007) que observaram diferença significativa entre sexos para a infecção por *Leishmania* sp, sendo os machos os mais freqüentemente parasitados, no município de Bom Jesus também ocorreu diferença significativa entre as freqüências de animais positivos com relação ao sexo ( $p = 0,031$ ) e se observou maior número de machos positivos para LVC, ou seja 63,22% (55/87). No entanto, em estudos realizados por França-Silva et al. (2003), Naveda et al. (2006), Almeida et al. (2009), Barbosa (2010) não foi observada predisposição com relação a variável sexo, tendo a LVC uma distribuição semelhante, entre machos e fêmeas.

Tabela 2. Freqüência absoluta e relativa dos animais submetidos à sorologia para *L. infantum* segundo a idade e o sexo

Variável	Grupo				Total	%	p-valor
	Positivos		Negativos				
	FA	FR %	FA	FR %			
<b>Idade</b>							
Jovem	7	8,05	15	12,60	22	10,68	0,554
Adulto	74	85,05	95	79,84	169	82,04	
Idoso	6	6,90	9	7,56	15	7,28	
<b>Sexo</b>							
Fêmeas	32	36,78	63	52,94	95	46,12	0,031
Machos	55	63,22	56	47,06	111	53,88	
<b>TOTAL</b>	<b>87</b>	<b>100</b>	<b>119</b>	<b>100</b>	<b>206</b>	<b>100</b>	

\*p-valor do teste de independência (se  $p$ -valor  $< 0,05$ , as variáveis são independentes)

Com relação aos sinais clínicos, a freqüência absoluta e relativa dos animais com sorologia positiva para *L. infantum* encontram-se na Tabela 3.

Dentre os animais soropositivos 29,89% (26/87) eram assintomáticos e 70,11% (61/87) dos cães apresentavam os sinais sugestivos da LVC (Tabela 3), porém não houve diferença significativa entre as freqüências de animais positivos com relação à condição clínica (Teste de Qui-quadrado,  $p = 0,362$ ). Essa distribuição deve-se ao fato do quadro clínico dos cães infectados apresentarem um espectro de características clínicas que variam do aparente estado sadio a um severo estágio final (BRASIL, 2006). As manifestações clínicas observadas nos cães sororreagentes, foram alterações dermatológicas, linfadenomegalia, onicogribose e oftalmopatias,

sinais estes semelhantes aqueles observados por Feitosa (2000), Silva et al. (2001) e Rondon et al. (2008). As dermatopatias são os sinais clínicos mais comumente observados na leishmaniose visceral canina (FEITOSA, 2000), tais características foram observadas neste estudo onde todos os cães com manifestações clínicas da doença apresentavam alguma alteração cutânea, como alopecia, descamação ou úlcera de ponta de orelha.

Tabela 3- Frequência absoluta e relativa dos animais submetidos à sorologia para *L. infantum* segundo a condição clínica

Categorias	Soropositivos		Soronegativos		Total	
	n	%	n	%	N	%
Assintomáticos	26	29,89	44	36,97	70	33,98
Sintomáticos	61	70,11	75	63,03	136	66,02
<b>Total</b>	87	100	119	100	206	100

\* p-valor do teste de independência (se p-valor < 0,05, as variáveis são independentes)

Embora os sinais aqui descritos sejam amplamente correlacionados na literatura com a LVC, esses não são exclusivos desta doença, podendo ser sugestivos de outras patologias sistêmicas, justificando assim a incidência de 63,03% de animais soronegativos com sinais sugestivos de LVC.

### Conclusão

Com base nos resultados deste estudo conclui-se que a frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* nos cães provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus é alta e reforçam a necessidade de adoção de medidas de profilaxia e controle para a LVC.

## Referências

- AGUIAR, P. H. P. Quadro clínico de cães Infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p.283-294, 2007.
- AGUIAR, R. B. Projeto cadastro de fontes de abastecimento por água subterrânea, estado do Piauí: diagnóstico do município de Bom Jesus /Organização do texto [por] Robério Bôto de Aguiar [e] José Roberto de Carvalho Gomes. Fortaleza: CPRM - Serviço Geológico do Brasil, 2004.
- ALMEIDA, A. B. P. F. et al. Inquérito soroepidemiológico de leishmaniose canina em áreas endêmicas de Cuiabá, Estado de Mato Grosso. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.42, n.2, p.156-159, 2009.
- AMORÁ, S.S.A.; SANTOS, M.J.P; ALVES, N.D. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1854-1859, 2006.
- ARIAS, J.R, MONTEIRO, P., ZICKER, F. The re-emergence of visceral leishmaniasis in Brasil. **Emerging Infectious Diseases**, n.2, p.145-146, 1996.
- BARROUIN-MELO, S. M. et al. Comparison between Splenic and Lymph Node Aspirations as Sampling Methods for the Parasitological Detection of *Leishmania chagasi* Infection in Dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.99, n.2, p.195-197, 2004.
- BARBOSA, M.A.G. Prevalência, avaliação clínica e imunológica de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) com infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) provenientes do município Tamandaré, litoral sul do Estado de Pernambuco, Brasil. 122f. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2010.
- BEVILACQUA, P.D. et al. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n.53, p.1-8, 2001
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral** / Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Editora do Ministério da Saúde, 2006.
- BONATES, A. Leishmaniose visceral (calazar). **Veterinary News**, Rio de Janeiro, ano 10, n.61, p. 4-5. 2003.
- CABRERA, M. A. et al. Canine visceral leishmaniasis in barra de guaratiba, rio de janeiro, Brazil:assessment of risk factors. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v.45, n.2, p.79-83, 2003.

CALHEIROS, P. W. B. Leishmaniose visceral canina na cidade de Maceió-Alagoas. 2005. 55p. **Dissertação** (Mestrado em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2005.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. Leishmaniose Visceral Americana: doença emergente no estado de São Paulo. Disponível em [http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17\\_impr.shtml](http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17_impr.shtml). Acesso 21 jan 2011.

CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. 2008. 62f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa. 2008.

COSTA, K. G. N. Identificação de casos de leishmaniose visceral canina através da reação de imunofluorescência indireta (RIFI) em Maceió – Alagoas. 2004. 22p. **Monografia** (Graduação em Farmácia). Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2004.

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M.E.F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.140, p.54-60, 2006.

FEITOSA, F.L.F. **Semiologia Veterinária: A Arte do Diagnóstico**. 2ª ed., Editora Roca, São Paulo. 2008, 754p.

FEITOSA, M.M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, n.28, p.36-44, 2000.

FERRER, L. Clinical aspects of canine Leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona, 1999. p.6-10. 1999.

FRANÇA-SILVA, J.C., et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.111. p.161-173, 2003.

FUNDAÇÃO MUNICIPAL DE SAÚDE. Departamento de Epidemiologia. **Relatórios Técnicos Anuais. Teresina, Piauí, 1995 a 2000**. (Mimeo). \_\_\_\_\_. Relatórios Anuais (1995-2000) Serviço de Controle de Raiva Calazar e Outras Zoonoses. Teresina 2008.

GAMA, M. E. A. et al. Avaliação do nível de conhecimento que populações residentes em áreas endêmicas têm sobre leishmaniose visceral, Estado do Maranhão, Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, v.14, n.2, p.381-390, 1998.

GARCÍA-ALONSO, et al. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, v.18, p.617-623, 1996.

GUIMARÃES, K. S. et al. Canine visceral leishmaniasis in São José de Ribamar, Maranhão State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.131, p.305-309, 2005.

JULIÃO, F.S. et al. Investigação de áreas de risco como metodologia complementar ao controle da leishmaniose visceral canina. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, n.27, p.319-324, 2007.

LANGONI, H. et al. American visceral leishmaniasis: a case report. **Tropical Disease**, v.11, n.3, p.362, 2005.

MARTINS, I. V. Aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da Leishmaniose Visceral em cães (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA & CHAGAS, 1937) na cidade de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil. Recife, 2008.75f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2008

MARZOCHI, M.C.A. et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.80, n.3, p.349-357, 1985.

MOURA, S.P. et al. Diagnóstico de leishmaniose canina na área urbana do município de Cuiabá, Estado de Mato Grosso, Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.36, n.2, 1999.

NAVEDA, L.A.B. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n.58, p.988-993, 2006.

NOLI, C. Canine leishmaniasis. **Waltham Focus**, v.9, n.2, 1999.

NUNES, V.L.B.; GALATI, E.A.B.; NUNES, D.B. Occurrence of canine visceral leishmaniasis in an agricultural settlement in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.34, n.3, 2001.

POCAI, E. A. et al. Visceral Leishmaniasis (kala-azar). Five cases in dogs in Santa Maria, Rio Grande do Sul, South Brazil. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.501-505, 1998.

RIBEIRO, V. M. Leishmaniose Visceral Canina: Nossos cães devem morrer? **Cães & Gatos**, p. 66-70, 2005.

RONDON, F. C. M. et al. Cross-sectional serological study of canine *Leishmania* infection in Fortaleza, Ceará state, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.155, p.24-31, 2008.

ROSARIO, E. Y. et al. Evaluation of enzyme-linked immunosorbent assay using crude *Leishmania* and recombinant antigens as a diagnostic marker for canine visceral leishmaniasis. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.100, n.2, p.197-203, 2005.

SANTA ROSA, I.C.A.; OLIVEIRA, I.C.S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, ano 2, n.11, p.24-28, 1997.

SILVA, E.S. et al. Visceral leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, n.96, p.285-291, 2001.

SILVA, E.F.P. **Inquérito sorológico de leishmaniose canina na cidade de RIO Verde, GO.** 2007. 54f. Dissertação (Mestrado). Universidade do Rio Verde. Goiás. 2007

SILVA, M. R et al. Autochthonous canine visceral leishmaniasis in a non-endemic area: Bom Sucesso, Minas Gerais State, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v.24, n.2, p.281-286, 2008.

VIDAL, I. F. Estudo clínico, epidemiológico e sorológico de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (leishmania) chagasi* (Cunha e Chagas, 1937) em Campina Grande – Paraíba. 2008. 54f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2008.

VILA NOVA, M. C. **Leishmaniose visceral canina na cidade de Maceió: epidemiologia e diagnóstico.** 2003. 46p. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2003.

## **5. CAPÍTULO 2**

**LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO BAIRRO MURIBECA  
MUNICÍPIO DE JABOATÃO DOS GUARARAPES, ESTADO DE  
PERNAMBUCO, BRASIL**

## LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO BAIRRO MURIBECA, MUNICÍPIO DE JABOATÃO DOS GUARARAPES, ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL

### Resumo:

A leishmaniose visceral canina (LVC) é causada pela *Leishmania infantum* e é uma doença endêmica na região do nordeste de Brasil, onde a maioria dos cães permanecem assintomáticos. Ainda assim, há poucos relatos da LVC na região metropolitana de Recife. O objetivo desta pesquisa foi verificar a frequência de LVC no bairro de Muribeca, município de Jaboatão dos Guararapes, estado de Pernambuco, Brasil. Um total de 159 amostras de soros de cães domiciliados foi analisado pelo teste enzimático ELISA. Os resultados mostraram que 50.3% (80/159) dos cães foram positivos ao teste sorológico. Não ocorreu nenhuma diferença estatística significativa ( $p < 0.05$ ) entre os animais positivos e o sexo dos animais. Entre os sinais clínicos encontrados as dermatopatias, perda de peso, onicogribose e as oftalmopatias foram os principais sinais clínicos observados nos cães positivos. Em função da detecção dos casos caninos no bairro de Muribeca, no Município de Jaboatão dos Guararapes, Região Metropolitana de Recife – PE, principalmente em animais assintomáticos, o monitoramento da população canina quanto à presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp. deve ser instituído.

**Palavras-chave:** *Leishmania infantum*, ELISA, Úlcera cutânea, Dermatologia Canina, Onicogribose.



**CANINE VISCERAL LEISHMANIASIS IN MURIBECA NEIGHBORHOOD,  
JABOATÃO DOS GUARARAPES COUNTRY, PERNAMBUCO STATE, BRAZIL**

**Abstract:**

Canine Visceral Leishmaniasis (CVL) caused by *Leishmania infantum* is an endemic disease in northeast region of Brazil, where most of dogs remain asymptomatic. However there are few reports of the CVL in Metropolitan Region of Recife. The goal of this research was to verify the frequency of the CVL in Muribeca neighborhood, Jaboatão dos Guararapes County, Pernambuco State, Brazil. A total of 159 sera samples from domiciliated dogs were analyzed by ELISA test. The results showed that 50.3% (80/159) of dogs were positive to serological test. There was no statistically differences ( $p < 0.05$ ) between the positivity and sex of animals. Skin abnormalities, weight loss, onychogryphosis, and ocular lesions were the major clinical sign observed in positive dogs. The high rate of circulating anti-*Leishmania infantum* antibodies observed in this study strengthens the necessity of one better evaluation of the dogs in this neighborhood with the purpose of adoption measures to control the visceral disease in dogs.

**Key Words:** *Leishmania infantum*, ELISA, Canine dermatology, Onychogryphosis.

# **LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO BAIRRO MURIBECA, MUNICÍPIO DE JABOATÃO DOS GUARARAPES, ESTADO DE PERNAMBUCO, BRASIL**

## **1. Introdução**

De acordo com a Organização Mundial de Saúde, a Leishmaniose Visceral (LV) é uma das sete endemias mundiais afetando de um a dois milhões de pessoas a cada ano. Ela ocorre em 47 países e estima-se que cerca de 360 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de infecção no mundo (CAMARGO et al., 2007).

No Brasil, a doença encontra-se em plena expansão geográfica e também em franco processo de urbanização em cidades localizadas em regiões distintas, como Nordeste e Sudeste (ALVES e BEVILACQUA, 2004), onde o cão tem sido apontado como o principal reservatório da LV (SAVANI et al., 2003; SILVA et al., 2005), tendo um papel fundamental na expansão da doença em áreas endêmicas (SANTOS et al., 2006).

A semelhança da LV, a leishmaniose visceral canina (LVC) tem sido relatada em áreas rurais e periurbanas do Brasil (BRASIL, 2004; GONTIJO e MELO, 2004; MELO, 2004). Os cães infectados podem apresentar desde a forma assintomática, até uma doença de evolução fatal (RIBEIRO, 2005), sendo o curso clínico da doença dependente de fatores relacionados à natureza da resposta imune do hospedeiro, à cepa do parasito, além do estado nutricional do animal (SANTA ROSA e OLIVEIRA, 1997).

Com o aumento da casuística clínica da LVC nas clínicas veterinárias da Região Metropolitana do Recife, aliado ao aumento de cães com sinais sugestivos de LVC no bairro de Muribeca, no Município de Jaboatão dos Guararapes segundo a Secretaria Municipal de Saúde de Jaboatão dos Guararapes, este estudo teve como objetivo determinar a frequência da Leishmaniose Visceral Canina além de avaliar as características clínicas de cães provenientes do bairro de Muribeca, Município de Jaboatão dos Guararapes.

## **2. Material e métodos**

Foram utilizados 159 cães independentemente de sexo, raça ou idade, residentes no bairro de Muribeca, no Município de Jaboatão dos Guararapes, região metropolitana de Recife – PE, Brasil. Para cada animal foi preenchida uma ficha individual, com a identificação do animal,

procedência e condição clínica do mesmo além de informações do proprietário do animal e dados epidemiológicos (Anexo 1). A avaliação dos parâmetros clínicos consistiu inicialmente de anamnese com obtenção de dados referentes ao estado geral dos animais, raça, sexo, idade, porte, evolução do processo. O exame físico constou principalmente da inspeção da pele e fâneros além da palpação dos gânglios linfáticos, onde se observou a existência ou não de sinais sugestivos de LVC, segundo Ferrer (1999).

De todos os animais foram coletados aproximadamente 5 ml de sangue das veias cefálica, safena ou jugular, com seringa<sup>5</sup> e agulha<sup>2</sup>, acondicionados em tubos de ensaio estéreis, sem anticoagulante para obtenção do soro, que foram, então, mantidos inclinados até a completa retração do coágulo. O soro resultante foi centrifugado e armazenado em tubos de polipropileno<sup>3</sup> a – 20°C até a realização dos exames.

Para o diagnóstico da LVC utilizou-se o teste de ELISA com o kit ELISA/S7<sup>4</sup>, tendo como base um peptídeo recombinante, segundo as instruções do fabricante. A leitura da reação foi realizada em um leitor de ELISA em densidade óptica de 450 nanômetros, no Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos da UFRPE.

Para verificar a associação entre as variáveis categóricas e a positividade da infecção, foi utilizado o teste de Independência de Qui-quadrado com nível de significância de 5%. O software utilizado para análise dos dados foi o BioEstat 5.0.

### **3. Resultados e discussão**

O teste sorológico ELISA revelou a presença de anticorpos circulantes em 50,3% (80/159) dos animais. A frequência aqui encontrada está próxima àquela relatada por Abreu Silva et al. (2008) em Raposa – MA que observaram positividade ao teste sorológico em 51,61% dos animais examinados, porém superior a todos os outros dados relacionados à frequência da LVC no Brasil (SHERLOCK e ALMEIDA, 1970; PARANHOS-SILVA et al., 1996; POCAI et al., 1998; BEVILACQUA et al., 2001; NUNES et al., 2001; MOURA et al., 2002; FRANÇA-SILVA et al., 2003; VILA NOVA, 2003; COSTA, 2004; CALHEIROS (2005), SILVA et al.,

---

<sup>5</sup> Seringa descartáveis 10 ml, Becton Dickson

<sup>2</sup> Agulhas descartáveis 25x7mm, Becton Dickson

<sup>3</sup> Tubos de propileno, Eppendorff, WWR

<sup>4</sup> Kit para diagnóstico do Calazar canino ELISA/S7, Biogene Ind. e Com. Ltda, Recife/PE

2005; AMORÁ et al., 2006; DANTAS-TORRES et al., 2006; AGUIAR, 2007; AZEVEDO et al., 2008; CASTRO, 2008; MARTINS, 2008; BARBOSA, 2010; CAMARGO-NEVES, 2011).

A discordância observada entre os resultados pode ser devida, principalmente, ao estágio da infecção, ao número de amostras, natureza do antígeno, teste sorológico empregado (FERRER, 1999) aliado às condições higiênico-sanitárias precárias do local, proximidade com a mata nativa e degradação ambiental local (BRASIL, 2003; AMORÁ et al., 2006; MICHALSKY et al., 2007) observadas durante a coleta do material.

Entre os caninos soropositivos estudados, 92,5% (74/80) não possuíam raça definida e 45% (36/80) eram fêmeas e 55% (44/80) eram machos, não havendo diferença estatística significativa em relação as variáveis analisadas. Os percentuais aqui observados são semelhantes aos de Feitosa et al. (2000) e Gontijo e Melo (2004), que não evidenciaram predisposição sexual em cães com infecção natural por *Leishmania chagasi* no Brasil.

No que se refere às características clínicas dos animais sororeagentes 68,75% (55/80) eram assintomáticos, e 31,25% (25/80) apresentaram sinais clínicos sugestivos de LVC, essa diferença foi estatisticamente significativa. Os dados observados no presente estudo corroboram com os achados de Barbosa (2010), podendo ser explicada pelo longo período de evolução da doença além da resposta imune do animal (FISA et al., 1999), ressaltando desta forma à importância do cão como reservatório da doença. Os sinais clínicos observados nos animais estudados encontram-se na Tabela 1.

Tabela 1. Frequência absoluta e relativa dos sinais clínicos encontrados nos animais soropositivos para Leishmaniose Visceral Canina proveniente do bairro Muribeca do município de Jaboatão dos Guararapes, estado de Pernambuco, Brasil

<b>Sinais clínicos</b>	<b>Frequência absoluta</b>	<b>Frequência relativa (%)</b>
Dermatopatia	19	76
Oftalmopatia	10	40
Caquexia	04	16
Onicogribose	03	12
Epistaxe	02	08
Diarréia	01	04
Linfoadenomegalia	01	04

\*p-valor do teste de independência (se p-valor < 0,05, as variáveis são independentes)

Inclusa nas dermatopatias estão 60% (15/25) de cães com úlceras cutâneas, 12% (3/25) com alopecia e 4% (1/25) de eritema cutâneo, totalizando os 76% de animais com dermatopatias. Os sinais clínicos dermatológicos aqui observados são concordantes com os resultados apresentados por Albuquerque et al. (2007) que encontraram, na Região Metropolitana de Recife, PE, predominância de cães (95%) com dermatopatias, cuja maioria (90%), também apresentava úlceras cutâneas, além daqueles observados por Feitosa et al. (2000) e Gállego (2004) que registram cerca de 68% dos cães acometidos apresentando tais alterações.

Segundo Gállego (2004), os sinais dermatológicos podem se iniciar como lesão única, comumente no ponto de inoculação do parasito, ou como lesão múltipla com a disseminação do parasito originando lesões não pruriginosas, descamação epidérmica e alopecia difusa.

A presença de oftalmopatia em 40% dos cães estudados é inferior aos dados encontrados por Albuquerque et al. (2007) que encontraram uma frequência de 50% de cães com alterações oculares, porém superior a outros registros de literatura que variam de 15% a 33,3% (CIARAMELLA et al. 1997; FEITOSA et al., 2000; NATAMI et al., 2000; BARROUIN-MELO et al., 2005; PAIVA CAVALCANTI et al., 2005).

As oftalmopatias na LVC podem ocorrer devido ao parasitismo ocular direto, entretanto, mecanismos imunomediados habitualmente estão associados (KOUTINAS et al., 1999), e ao contrário do que se reporta em humanos, a incidência de lesões oculares em cães é, aparentemente, mais freqüente assumindo importante área de estudo (NICOLAU e PERARD, 1936).

Com relação à caquexia a taxa obtida é inferior ao reportado por Ciaramella et al (1997), Paiva Cavalcanti et al (2005) e Albuquerque (2006) que identificaram a perda de peso em 32%, 63,9% e 51,4% respectivamente, porém sem classificarem o grau do score corporal dos animais.

A frequência de onicogribose foi inferior ao citado por Albuquerque et al. (2007), que encontrou 50% de cães com esta sintomatologias. Este aumento de unhas relaciona-se ao estímulo da matriz ungueal pelo próprio parasito, determinando assim o alongamento anormal das unhas (DONATIEN e LESTOQUARD, 1938) ou ausência do desgaste natural das mesmas em função da apatia do animal com LVC (MARZOCHI et al., 1985).

No que concerne à linfadenopatia, os dados do bairro de Muribeca, corroboram com os achados em animais com infecção natural por *Leishmania* sp (MARZOCHI et al., 1985; CIARAMELLA, et al., 1997; FEITOSA et al., 2000; NATAMI et al., 2000; PAIVA

CAVALCANTI et al., 2005). Contudo deve ser lembrado que o enfartamento ganglionar ocorre na dependência da reação individual ao agente etiológico, devido a uma proliferação da zona B e uma depleção das células T (NOLI, 1999).

De maneira geral os sintomas clínicos dos animais da região estudada não diferem do que é relatado na literatura, concordando com Alves e Faustino (2005) que asseguram ser as dermatopatas e onicogrifose os sinais observados comumente em animais com LVC e Moraes et al. (2003) que descreveram a perda de peso, lesões de pele e oftalmopatia como principais manifestações clínicas na LVC.

#### **4. Conclusão**

Em função da detecção dos casos caninos de LVC no bairro de Muribeca, no Município de Jaboatão dos Guararapes, Região Metropolitana de Recife – PE, principalmente em animais assintomáticos, o monitoramento da população canina quanto à presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp, deve ser instituído.

## 5. Referências

- AGUIAR, P. H. P. Quadro clínico de cães Infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.8, n.4, p. 283-294, 2007.
- ALBUQUERQUE, A.R. et al. Aspectos clínicos de cães naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* na região metropolitana de Recife. **Clínica Veterinária**, n.7, p.78-80, 2007.
- ALVES, L.C; FAUSTINO, M.AG. **Leishmaniose Visceral Canina**. Manual da Schering-Plough, São Paulo, 2005.14p.
- ALVES, W. A.; BEVILACQUA, P. D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da leishmaniose visceral canina em inquéritos epidemiológicos. **Caderno de Saúde Pública**, v.20, n.1, p.259-265, 2004.
- AMORÁ, S.S.A.; SANTOS, M.J.P; ALVES, N.D. Fatores relacionados com a positividade de cães para leishmaniose visceral em área endêmica do Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. **Ciência Rural**, v.36, n.6, p.1854-1859, 2006.
- AZEVEDO M. A. A. et al. Avaliação da leishmaniose visceral canina em Poxoréo, Estado do Mato Grosso, Brasil. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v.17, n.3, p.123-127, 2008.
- BARBOSA, M. A. G. Prevalência, avaliação clínica e imunológica de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) com infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) provenientes do município Tamandaré, litoral sul do Estado de Pernambuco, Brasil. 2010. 122f. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2010.
- BARROUIN-MELO, S.M. et al. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniosis? A study on asymptomatic and polysymptomatic animals. **The veterinary journal**, v.171, n.2, p.331-339, 2006.
- BEVILACQUA, P.D. et al. Urbanização da leishmaniose visceral em Belo Horizonte. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, n.53, p.1-8, 2001
- BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**, Brasília: Ministério da Saúde, 2003.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília, DF, 2004, 120 p.
- CAMARGO, J. B. et al. Leishmaniose visceral canina: aspectos de saúde pública e controle, Brasil. **Clínica Veterinária**, Ano XII, n.71, p.86-92, 2007.

CAMARGO-NEVES, V. L. F. Leishmaniose Visceral Americana: doença emergente no estado de São Paulo. Disponível em [http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17\\_impr.shtml](http://www.comciencia.br/reportagens/2005/06/17_impr.shtml). Acesso 21 jan 2011.

CASTRO, G. N. Leishmaniose visceral humana e canina no município de Imperatriz, Maranhão, Brasil. 2008. 62f. **Dissertação** (Mestrado). Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa. 2008.

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

DANTAS-TORRES, F.; BRITO, M.E.F.; BRANDÃO-FILHO, S.P. Seroepidemiological survey on canine leishmaniasis among dogs from an urban area of Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.140, p.54-60, 2006.

DONATIEN, A.; LESTOQUARD, F. Rémarques sur l'évolution de la leishmaniose générale du chien. **Bulletin de la Société de Pathologie Exotique**, n.31, p.214-217, 1938.

FEITOSA, M.M. et al. Aspectos clínicos de cães com leishmaniose visceral no município de Araçatuba, São Paulo (Brasil). **Clínica Veterinária**, n.28, p.36-44, 2000.

FERRER, L. Clinical aspects of canine Leishmaniasis. In: INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, Barcelona. **Proceedings...** Barcelona, 1999. p.6-10. 1999.

FISA, R. et al. Epidemiology of canine leishmaniosis in Catalonia (Spain): The example of the Priorat focus. **Veterinary Parasitology**, v.83, n.2, p. 87-89, 1999.

FRANÇA-SILVA, J.C., et al. Epidemiology of canine visceral leishmaniosis in the endemic area of Montes Claros Municipality, Minas Gerais State, Brazil. **Veterinary Parasitology**, n.111. p.161-173, 2003.

GALLEGO M. Zoonosis emergentes por patógenos parasitos: Las leishmaniosis. **Sciencia Technology**, v.23, n.2, p.661-76, 2004. Disponível em [http://www.oie.int/esp/publicart/rt/2302/e\\_r230217.htm](http://www.oie.int/esp/publicart/rt/2302/e_r230217.htm). Acesso em 21 de jan de 2011.

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.338-349, 2004.

KOUTINAS, A. F. et al. 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.

MARTINS, I. V. Aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais da Leishmaniose Visceral em cães (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA & CHAGAS, 1937) na cidade de Maceió, Estado de Alagoas, Brasil. Recife, 2008. 75f. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2008.



MARZOCHI, M.C.A. et al. Canine visceral leishmaniasis in Rio de Janeiro, Brazil. Clinical, parasitological, therapeutical and epidemiological findings (1977-1983). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 80, n.3, p. 349-357, 1985.

MELO, M.N. Leishmaniose Visceral no Brasil: Desafios e perspectivas. **XIII Congresso Brasileiro de Parasitologia Veterinária & I Simpósio Latino Americano de Ricketioses**, Ouro Preto, MG. p.41-45, 2004.

MICHALSKY, E. M. et al. Infectivity of seropositive dogs, showing different clinical forms of leishmaniasis, to *Lutzomyia longipalpis* phlebotomine sand flies. **Veterinary Parasitology**, v.147, n.1-2, p.67-76, 2007.

MORAIS, S.R.C. et al. Sinais clínicos X diagnóstico parasitológico na Leishmania visceral canina na cidade do Recife. **annais...**p.287-288, 2003.

MOURA, R. O. D.; PAULA, V. V.; SOARES, M. J. V. Alterações renais em cães (*Canis familiaris*) soropositivos para leishmaniose: aspectos clínicos, laboratoriais e histopatológicos. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n.4, p.61-64, 2002.

NATAMI, A. et al. Serological, clinical and histopathological changes in naturally infected dogs with *Leishmania infantum* in the khemisset province, Morocco. **Veterinary Research**, v.31, p.355-363, 2000.

NICOLAU, S.; PERARD, C. H. Étude histo-physio-pathologique de l'oeil et du système nerveux dans la leishmaniose généralisée du chien. **American Institute Pasteur**, v.5, p.463-485, 1936.

NOLI, C. Canine leishmaniasis. **Waltham Focus**, London, v. 9, n. 2, 1999.

NUNES, V.L.B.; GALATI, E.A.B.; NUNES, D.B. Occurrence of canine visceral leishmaniasis in an agricultural settlement in the State of Mato Grosso do Sul, Brazil. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 34, n. 3, 2001.

PAIVA CAVALCANTI et al. Aspectos clínicos das dermatopatias infecciosas e parasitárias em cães com diagnóstico presuntivo de leishmaniose visceral. **Clínica Veterinária**, n.58, p. 36-42, 2005.

PARANHOS-SILVA, M. et al. A cross sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*. **American Journal of Tropical Medical Hygiene**, v.55, n.1, p.39-44, 1996.

POCAI, E. A. et al. Visceral Leishmaniasis (kala-azar). Five cases in dogs in Santa Maria, Rio Grande do Sul, South Brazil. **Ciência Rural**, v.28, n.3, p.501-505, 1998.

SANTA ROSA, I.C.A.; OLIVEIRA, I.C.S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, n.11, p.24-28, 1997.

SANTOS C. A. C. Percepção, epidemiologia e aspectos da Leishmaniose Visceral Canina em área urbana do estado de Pernambuco. 2006. 61f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária). Universidade Federal Rural de Pernambuco. 2006.

SAVANI, E. S. M. M. et al. Vigilância de leishmaniose visceral americana em cães de área não endêmica, São Paulo. **Revista de Saúde Pública**, v.37, n.2, p.260-2, 2003.

SHERLOCK, I.A.; ALMEIDA, S.P. Notas sobre leishmaniose canina no estado da Bahia. **Revista Brasileira de Malariologia e Doenças tropicais**. v.XXII, n.2/4, p.230-242, abr./dez. 1970.

SILVA, A. V. M. et al. Leishmaniose em cães domésticos: aspectos epidemiológicos. **Caderno de Saúde Pública**, v.21, n.1, p.324-328, 2005.

VILA NOVA, M. C. **Leishmaniose visceral canina na cidade de Maceió: epidemiologia e diagnóstico**. 2003. 46p. Dissertação (Mestrado em Química e Biotecnologia). Universidade Federal de Alagoas. Maceió. 2003.

## **6. CAPÍTULO 3**

**Spatial distribution of canine visceral leishmaniasis in the neighborhood of  
Muribeca in Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil.  
SHORT COMMUNICATION**

**Spatial distribution of canine visceral leishmaniasis in the neighborhood of Muribeca in Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil.**

**SHORT COMMUNICATION**

**Abstract**

Canine visceral leishmaniasis caused by *Leishmania infantum* is an endemic parasitic disease, in Brazil, particularly in the Northeast region. The goal of this study was to evaluate the spatial distribution of visceral leishmaniasis in dogs from the Muribeca neighborhood, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil, by using a global positioning system. Blood samples from 159 dogs were taken and analyzed by ELISA test. The positive and negative cases were analyzed using ArcGIS 9.2 and Moran's I analysis to determine the spatial distribution of Canine Visceral Leishmaniasis and the environment, specifically using hydrology and vegetation as the main variables. The results showed an autocorrelation between positive cases and sex only. No clustering patterns were present for the disease-environment autocorrelations, and it was assumed that these cases were dispersed due to random chance. It was concluded that further epidemiological studies should be carried out, to promote a better understanding of Canine Visceral Leishmaniasis in this neighborhood.

**Key words:** *Leishmania infantum*; Zoonotic; Epidemiology

**Distribuição espacial da leishmaniose visceral canina no bairro de Muribeca,  
em Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco, Brasil.**

**Nota de Pesquisa**

**RESUMO:**

A leishmaniose visceral canina (LVC) é causada pelo protozoário *Leishmania infantum*, uma doença parasitária e endêmica no Brasil, particularmente no Nordeste. O objetivo deste estudo foi avaliar a distribuição espacial da leishmaniose visceral nos cães do bairro de Muribeca, em Jaboatão dos Guararapes, estado de Pernambuco, Brasil usando o sistema de navegação mundial. Foram coletadas 159 amostras de sangue canino e analisados pelo teste de ELISA. Os casos positivos e negativos foram analisados usando o ArcGIS 9.2 e análise de Moran I para determinar a distribuição espacial da leishmaniose visceral canina e o meio ambiente, utilizando especificamente a hidrografia e vegetação nativa como as principais variáveis. Os resultados demonstraram uma correlação somente entre casos positivos e sexo. Nenhum padrão de agrupamento foi encontrado para as autocorrelações doença-ambiente e presumiu-se que esses casos foram dispersos devido ao acaso. Concluiu-se que estudos epidemiológicos adicionais devem ser realizados no bairro de Muribeca, para promover melhor compreensão da LVC nesta localidades.

**Palavras-chave:** *Leishmania infantum*; Zoonoses; Epidemiologia

## **Spatial distribution of canine visceral leishmaniasis in the neighborhood of Muribeca in Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil**

### **SHORT COMMUNICATION**

Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonotic disease of public health importance in which domestic dogs act as the major reservoir hosts in Brazil and the transmission of the parasite in northern Brazil is maintained by *Lutzomyia longipalpis* (LAINSON et al., 1990). Infected dogs can show clinical signs of the disease which include cutaneous alterations and onychogryphosis (CIARAMELLA et al., 1997; BANETH et al., 2008), visceral manifestations (NIETO et al., 1992; GARCIA-ALONSO et al., 1996) and some of them remained as asymptomatic animals. Canine disease usually precede the disease in human population (CARVALHO et al., 2009) and dog cases have been considered a risk factor for VL (DI LORENZO et al., 2000). In recent years, epidemiologic studies showed that the establishment of a control program for VL depends upon the understanding of the disease in urban areas. Thus, to reduce the frequency of transmission of *Leishmania* from dogs to humans, it is necessary to diagnose canine leishmaniasis as early as possible (MIRO et al., 2007). The objective of this paper is to study the spatial distribution of visceral leishmaniasis in dogs from Muribeca neighborhood, Jaboatão dos Guararapes, Pernambuco State, Brazil by using global positioning system (GPS).

On June 2008, blood samples from 159 dogs were taken and at the time of blood sampling, the dogs' owners were asked questions to ascertain the each dog's sex, age, breed, and residential address. The samples were analyzed by ELISA test. GPS points were collected using a Garmin GPS device at each residence of each canine sampled. The points were loaded into arcGIS 9.2 and split into three data categories: all, positives, and negatives. After displaying the points on a map, the local vegetation and hydrology was drawn as a feature class (Figure 1). The three data categories loaded into arcGIS 9.2 were joined with both the vegetation and hydrology feature classes separately. The "Moran's I Spatial Autocorrelation" was then run separately on all three categories with the variables: sex, age, vegetation, and hydrology. Both inverse distance and inverse distance squared were used for the spatial relationship with Euclidean distance and Manhattan distance as the distance methods. No standardization or weights were given for the spatial analysis.

Of the dogs sampled, 50,3% (80/159) were positive and 49,7% (70/159) were negative. For all cases, gender, positive cases and sex, there was a high probability of clustering. Negative cases and sex were probably due to random chance. There was no clustering correlation between age and any of the three categories, and they were assumed to be random. There was a positive correlation for clustering using inverse distance between all cases and hydrology; however, inverted distance squared revealed random dispersion among the same category and variable (Figure 1). The correlation between positive cases and hydrology and negative cases and hydrology was shown to be completely random or probably random. There was also a positive correlation for clustering using inverse distance between all cases and vegetation; however, inverted distance squared revealed random dispersion among this category and variable. The correlation between positive cases and vegetation and negative cases and vegetation showed to be completely random or probably random.



**Figure 1. ArcGIS 9.2 model of Muribeca with vegetation, hydrology and roads drawn. Red points indicate a positive case. Blue points indicate a negative case.**

The spatial and temporal patterns of leishmaniasis in Brazil and some associations or correlations on the space-time dynamics have been reported by using of Geographical Information Systems (GIS) and Remote Sensing (RS) technologies (FRANKE et al., 2002; WERNECK et al., 2006). Naveda et al. (2003) reported the spacial distribution of CVL is not homogeneous in Pedro Leopoldo, MG, but they did not mentioned the correlation between cases and any categories.

These results are in agreement with those obtained by Margonari et al. (2006) and Barbosa (2010) which they did not observed correlations between all points and environmental factors, such vegetation and hydrology. On the other hand the results in this study seem to disagree with those reported by Werneck and Maguire (2002) and Neto et al. (2009), who found correlation with the vegetation areas and VL.

It was concluded that further epidemiological studies should be carried out, to promote better understanding of Canine Visceral Leishmaniasis in this neighborhood.



## References

- BANETH, G. et al. Canine leishmaniosis—new concepts and insights on an expanding zoonosis: part one. **Trends Parasitol**, v.24, p.324-330, 2008.
- BARBOSA, M. A. G. Prevalência, avaliação clínica e imunológica de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) com infecção por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (Cunha & Chagas, 1937) provenientes do município Tamandaré, litoral sul do Estado de Pernambuco, Brasil. 2010. 122f. **Tese** (Doutorado). Universidade Federal Rural de Pernambuco, Pernambuco. 2010.
- CIARAMELLA, P. et al. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **Veterinary Record**, v.141, p.539-543, 1997.
- CARVALHO, D. et al. An enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the detection of IgM antibodies against *Leishmania chagasi* in dogs. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v.29, n.2, p.120-124, 2009.
- DI LORENZO, C.; PROIETTI, F. A.; ASSUNÇÃO, R. M. A urbanização da leishmaniose visceral no Brasil: uma breve revisão. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.33, p.316-317, 2000.
- FRANKE, C. R. et al. Trends in the temporal and spatial distribution of visceral and cutaneous leishmaniasis in the state of Bahia, Brazil, from 1985 to 1999. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v.96, p.236–241. 2002.
- GARCIA-ALONSO, M. et al. Presence of antibodies in the aqueous humour and cerebrospinal fluid during *Leishmania* infections in dogs. Pathological features at the central nervous system. **Parasite Immunology**, v.18, p.539-546. 1996.
- LAINSON, R. et al. Amazonian visceral leishmaniasis: distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as source of infection. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.85, p.135-7. 1990.
- MARGONARI, C. et al. Epidemiology of visceral leishmaniasis through spatial analysis, in Belo Horizonte municipality, state of Minas Gerais, Brazil. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v.101, n.1, p.31-38. 2006.
- MIRO, G. et al. 2007. A leishmaniosis surveillance system among stray dogs in the region of Madrid: ten years of serodiagnosis (1996-2006). **Parasitology Research**, v.101, p.253-257. 2007.
- NAVEDA, L. A. B. et al. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral canina no município de Pedro Leopoldo, Minas Gerais, 2003. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, v.58, n.6, p.988-993. 2006.

NETO, J. C., WERNECK, G. L., COSTA, C. H. N. Factors associated with the incidence of urban visceral leishmaniasis: an ecological study in Teresina, Piauí State, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**, v.25, n.7, p.1543-1551.2009.

NIETO, C. G. et al. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**. v.45, p.33-47. 1992.

WERNECK, G. L., MAGUIRE, J. H. Spatial modeling using mixed models: an ecologic study of visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí State, Brazil. **Caderno de Saúde Pública**. v.18, n.3, p.633-637. 2002.

WERNECK, G. L. et al. Multilevel modeling of the incidence of visceral leishmaniasis in Teresina, Brazil. **Epidemiologic and Infection**. v.135, p.1-7. 2006.

## 7. CAPÍTULO 4

**ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E IMUNOMARCAÇÃO DE FORMAS  
AMASTIGOTAS EM RINS E BEXIGA URINÁRIA DE CÃES (*Canis  
familiaris*) (Linnaeus, 1758) COM INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania  
infantum* (Nicolle, 1908)**

**ALTERAÇÕES ESTRUTURAIS E IMUNOMARCAÇÃO DE FORMAS  
AMASTIGOTAS EM RINS E BEXIGA URINÁRIA DE CÃES (*Canis  
familiaris*) (Linnaeus, 1758) COM INFECÇÃO NATURAL POR *Leishmania  
infantum* (Nicolle, 1908)**

**RESUMO**

As principais alterações estruturais em cães infectados por *Leishmania* sp. são caracterizadas pela hipertrofia e pela hiperplasia do sistema monocítico-mononuclear, especialmente em órgãos linfóide. O objetivo deste trabalho foi avaliar as mudanças estruturais e a imunomarcação pela técnica imuno-histoquímica de forma dos amastigotas de *Leishmania* sp. no rim e na bexiga dos cães infectados naturalmente pela *L. infantum*. Analisou-se 25 amostras de rim e de bexiga urinária de cães positivos pelo teste de ELISA para *L. infantum*. Os resultados mostraram cistite em 36% (16/25) das amostras de bexiga urinária e glomerulonefrite membranoproliferativa em 92% (23/25) das amostras de rim. A imunomarcação pela técnica imuno-histoquímica revelou 32% e 8% de animais positivos na bexiga e no rim respectivamente. Conclui-se que a técnica de imuno-histoquímica detecta formas amastigotas de *Leishmania* sp. em cães infectados, sendo este o primeiro relato de *Leishmania* sp. na bexiga de cães com infecção natural por *L. infantum*.

**Palavra-chaves:** Leishmaniose Visceral Canina, Imuno-histoquímica, Nefropatia, Cistite,

**STRUCTURAL CHANGES AND IMMUNOHISTOCHEMICAL STAINING OF  
AMASTIGOTES FORMS OF *Leishmania* sp IN KIDNEY AND BLADDER FROM  
DOGS(*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) NATURALLY INFECTED BY *Leishmania*  
*infantum* (Nicolle, 1908)**

**ABSTRACT**

The major structural changes in *Leishmania*-infected dogs are characterized by hypertrophy and hyperplasia of the monocyte-mononuclear system especially in lymphoid organs. The goal of this study was to evaluate the structural changes and immunohistochemical staining of amastigotes forms of *Leishmania* sp in kidney and bladder from dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. Kidney and gall bladder samples from 25 positive dogs by ELISA test were analyzed. The results showed cystitis in 36% (16/25) of gall bladder samples and membranous nephropathy in 92% (23/25) of kidney samples. immunohistochemical staining revealed 32% and 12% of positivity in bladder and kidney respectively. In conclusion the immunohistochemical staining enhances the detection of amastigotes forms of *Leishmania* sp in infected dogs and this was the first report of *Leishmania* sp in bladder from dogs with natural infection of *L. infantum*.

**Key words:** Canine Visceral Leishmaniasis; Immunohistochemical; Nephropathy; Cystitis

## **Alterações estruturais e imunomarcção de formas amastigotas em rins e bexiga urinária de cães (*Canis familiaris*) (Linnaeus, 1758) com infecção natural por *Leishmania infantum* (Nicolle, 1908)**

### **INTRODUÇÃO**

A LVC é uma doença crônica e sistêmica, considerada como uma enfermidade imunomediada, cuja resposta celular Th1 está associada a cães assintomáticos, exibindo assim uma aparente resistência à leishmaniose visceral, enquanto a doença clínica está representada pela resposta humoral (MORENO et al., 1999).

Sendo assim, em função da atividade exagerada de linfócitos B, ocorre formação de imunocomplexos (ALVES e FAUSTINO, 2005; GOTO e LINDOSO, 2004), que se depositam nas paredes de vasos sanguíneos e órgãos (LOPEZ et al., 1996; NOLI, 1999), favorecendo o desenvolvimento de vasculites, uveítes e artrites (SLAPPENDEL e FERRER, 1990; LOPEZ et al., 1996).

Nos rins, a deposição de imunocomplexos nos glomérulos pode acarretar em glomerulonefrite membranoproliferativa (NIETO et al., 1992) e nefrite intersticial com comprometimento da função renal (LOPEZ et al., 1996), podendo estar presente em cães sintomáticos (POLI et al., 1991) ou assintomáticos (CIARAMELLA et al., 1997), sendo muitas vezes a principal causa da morte de cães com leishmaniose visceral (SLAPPENDEL e FERRER, 1990; PUMAROLA et al., 1991; NIETO et al., 1992; FERRER et al., 1995; LOPEZ et al., 1996; POCAI et al., 1998).

Tendo em vista a escassez sobre patogênese da insuficiência renal em animais com LVC, este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações estruturais e imunomarcção de formas amastigotas em rins e bexiga urinária de cães com infecção natural por *Leishmania infantum*.

### **MATERIAL E MÉTODOS**

#### **Animais**

Foram utilizados 25 cães de raças e idades variadas, de ambos os sexos, provenientes da região metropolitana do Recife – PE, com sorologia positiva no teste ELISA e/ou exame parasitológico positivo para *L. infantum* e com sinais clínicos. Esses animais foram capturados

pela prefeitura municipal de Jaboatão dos Guararapes após inquérito sorológico ou trazidos por proprietários ao Laboratório de Doenças Parasitárias da UFRPE.

Todos os animais foram submetidos à eutanásia segundo normas e técnica estabelecida pela resolução número 714 de 2002, do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV), sendo utilizado anestesia geral com aplicação intravenosa (IV) de Tiopental Sódico na concentração de 2,5% na dose de 50 mg/Kg de peso corporal, seguida da aplicação IV de Cloreto de Potássio a 19% dose dependente. Iniciadas as necropsias, foram realizadas as remoções dos rins e da bexiga urinária que foram analisados macroscopicamente.

Após a necropsia, de cada animal foram retirados fragmentos de rins e bexiga urinária para exame histopatológico. As amostras foram acondicionadas em formalina tamponada 10%, e processadas de acordo com as técnicas de rotina para inclusão em blocos de parafina, cortadas em micrótomo com espessura de quatro a cinco micrômetros ( $\mu\text{m}$ ) e corados pela técnica da Hematoxilina-Eosina (HE) (BEHMER et al., 1976). Em todos os fragmentos de órgãos coletados foram observados os aspectos macroscópicos e microscópicos, sendo este último realizado através da leitura de lâminas em microscópio óptico.

### **Imuno-histoquímica pela estreptoavidina-peroxidase para detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp.**

A imunomarcagem das formas amastigotas de *Leishmania* sp. foi realizada mediante a técnica de imuno-histoquímica pela estreptoavidina-peroxidase em material biológico embebido em parafina, no laboratório de Doenças Parasitárias do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE) através de metodologia padronizada por Tafuri et al. (2004).

Para cada bateria de 20 lâminas utilizou-se um controle negativo e um positivo. Como controle negativo, utilizou-se Solução Salina Tamponada (SST), em substituição aos anticorpos primários. Como controle positivo foi utilizada uma lâmina com corte histológico de pele de orelha de um cão naturalmente infectado com *Leishmania* sp. com parasitismo cutâneo intenso.

Para análise dos dados foram utilizadas técnicas de estatística descritiva, obtendo-se as distribuições absolutas e percentuais dos parâmetros avaliados.

## Resultados e discussão

A avaliação macroscópica dos rins e da bexiga urinária não revelou alterações.

Na análise histopatológica, 36% (9/25) dos fragmentos de bexiga urinária apresentaram infiltrados celulares (Figura 1A). As alterações histopatológicas encontradas nas amostras de bexiga urinária dos cães sorologicamente positivos para LVC estão descritas na tabela 1.

Entre os fragmentos de bexiga urinária analisados 64% (16/25) não demonstraram alterações histopatológicas, mas vale salientar que dentre essas amostras sem alterações histopatológicas 43,75% (7/16) tiveram imunomarcção de formas amastigotas de *Leishmania infantum*. Este resultado confirma que a técnica imuno-histoquímica (IHQ) é um procedimento importante no diagnóstico da *Leishmania* sp. em fragmentos de diferentes órgãos, como em rins (COSTA et al., 2003), córnea, limbo e esclera com imunomarcção de 24% (6/25) das amostras (BRITO, 2004), coração e pulmão com imunomarcção em 13,95% (06/43) (PIMENTEL, 2009); baço com 54,5% (18/33) (TASCA et al., 2009). Desta forma, a IHQ propicia a identificação precisa do agente etiológico, além de auxiliar na avaliação da resposta tecidual desenvolvida pelo hospedeiro (GARCIA, 2005).

Nas amostras de bexiga analisadas não foram detectadas formas amastigotas de *Leishmania* sp. ao exame histopatológico.

Tabela 1. Frequência das alterações histopatológicas nas amostras de bexiga urinária de animais sorologicamente positivos para *Leishmania infantum*

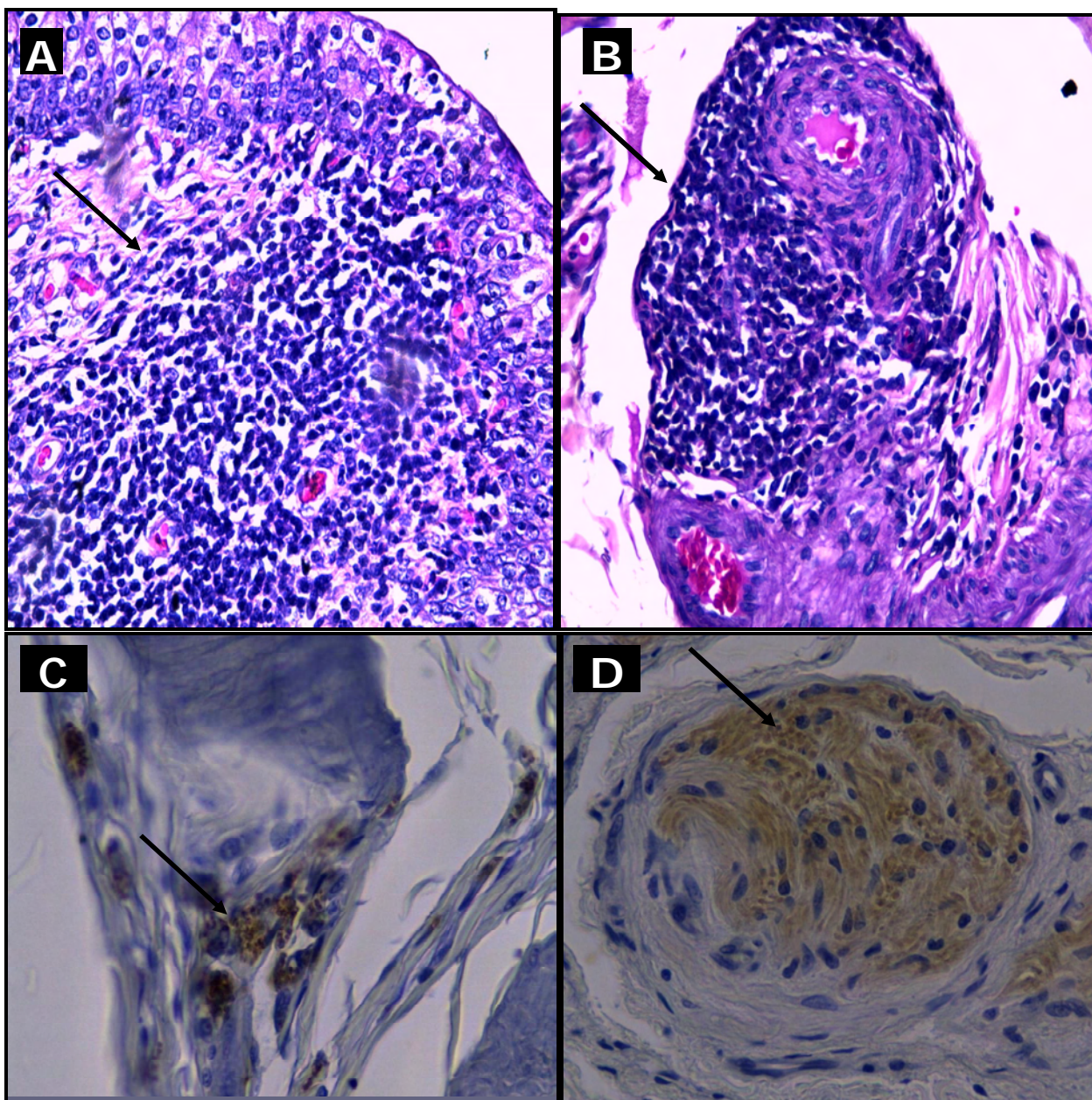
Alterações	Frequência	
	Absoluta	Relativa (%)
Infiltrado linfocitoplasmocitário	7	28
Infiltrado linfoplasmocitário	2	8
Infiltrado de macrófagos ativados	1	4

n = 25

Por outro lado, quando analisou-se todas as amostras do estudo na técnica de imuno-histoquímica 32% (8/25) evidenciaram a imunomarcção de formas amastigotas de *L. infantum* na bexiga urinária (Figura 1B e 1D).

Apenas uma amostra de bexiga urinária teve imunomarcção de formas amastigotas de *L. infantum* na técnica de imuno-histoquímica e apresentou alterações estruturais ao exame histopatológico, uma reação inflamatória na camada adventícia, caracterizada pela presença de infiltrado linfocitoplasmocitário moderado e focal perivascular (Figura 1C).



**Figura 1**

A. Fotomicrografia de infiltrado linfohistioplasmocitário na camada submucosa da bexiga urinária. Seta. HE 400X.

B. Fotomicrografia de infiltrado linfohistioplasmocitário moderado e focal perivascular na camada adventícia da bexiga urinária. Seta. HE 400X.

C. Fotomicrografia de imunomarcção pela imunohistoquímica através da estreptoavidina-peroxidase das formas amastigotas de *L. infantum* na camada adventícia da bexiga urinária. Seta. IHQ 400X.

D. Fotomicrografia de imunomarcção pela imunohistoquímica através da estreptoavidina-peroxidase das formas amastigotas de *L. infantum* na camada muscular da bexiga urinária. Seta. IHQ 400X.

Segundo Wroclawski et al. (2009) a presença de infiltrado inflamatório mononuclear, composto por linfócitos, histiócitos e plasmócitos, caracteriza cistite crônica inespecífica.

Embora a cistite já tenha sido relatada em cães com LV como uma doença oportunista (FEITOSA, 2001; CAVALCANTI et al., 2005; NOVAES, 2005; LUVIZOTTO, 2006), é provável que a raridade atribuída ao comprometimento vesical na LVC se deva ao fato de ser uma doença sistêmica, na qual existem manifestações clínicas mais relevantes e graves, sendo pouco valorizados os sinais urinários. Este fato também tem sido observado em outras doenças sistêmicas como no caso de Lúpus Eritematoso Sistêmico (BOYE et al., 1979).

Todas as amostras de tecido renal apresentaram pelo menos uma alteração no exame histopatológico (Tabela 2), mas vários animais apresentaram várias alterações concomitantes. As alterações glomerulares, caracterizadas por espessamento da membrana basal e/ou aumento da celularidade foram um aspecto marcante. Por vezes observou-se células com aspecto apoptótico. O espessamento da cápsula de Bowmann foi frequente nas lesões crônicas e avançadas, geralmente associado à presença de conteúdo protéico no espaço glomerular. A distribuição das lesões glomerulares variou de focal, ou seja, envolvendo apenas um segmento do glomérulo, a difusa, que envolveram vários segmentos glomerulares. O padrão de glomerulonefrite foi membrano-proliferativo (Figura 2A).

Tabela 2. Frequência das alterações histopatológicas nas amostras de rim de animais sorologicamente positivos para *Leishmania infantum*.

<b>Alterações</b>	<b>FA</b>	<b>FR (%)</b>
Glomerulonefrite membrano-proliferativa	23	92
Infiltrado linfohistioplasmocitário	15	60
Degeneração glomerular	10	40
Atrofia glomerular	5	20
Infiltrado linfoplasmocitário	5	20
infiltrado linfohistiocitário	2	08
Presença de formas amstigota de <i>L. infantum</i>	2	08
Lesão granulomatosa crônica	1	04

FA.- Frequência absoluta; FR- Frequência relativa; n = 25.

O padrão variado de glomerulonefrite foi concordante com os achados de COSTA et al. (2003) e Novaes (2005) em cães com LV. Segundo Ayala (1973) e Mancianti et al. (1989), alterações nos glomérulos renais variam desde o espessamento difuso do mesângio, sem

hipercelularidade, até uma glomerulonefrite proliferativa progressiva com duas formas, focal e difusa.

O aumento de celularidade dos glomérulos com proliferação endotelial e mesangial e deposição de imunocomplexos na membrana basal, têm sido responsáveis nos processos inflamatórios no tecido renal (JONES et al., 2000). Nestas circunstâncias, o mesângio assume papel importante na evolução da glomerulonefrite, limitando sua repercussão e duração através da degradação dos imunocomplexos depositados.

Por outro lado, a liberação de aminas vasoativas aumenta a permeabilidade vascular, fazendo com que os complexos imunes deixem a microcirculação e se depositem no glomérulo, não obstante a ativação da via alternativa do sistema complemento resulta a geração de fatores quimiotáticos importantes na atração de neutrófilos para os glomérulos (CARLTON e MCGAVIN, 1998).

MacDougall et al. (1986) e Dibartola e Benson (1989) também destacaram que, nas glomerulopatias, a permeabilidade seletiva do mecanismo de filtração glomerular é perdida, de forma que é filtrada grande quantidade de proteínas séricas. Sendo assim, a lesão glomerular pode ser causada pelo acúmulo de imunocomplexos ou amilóide no glomérulo.

Desta forma, a liberação de substâncias que participam da reação inflamatória, decorrente da lesão glomerular, particularmente das células mesangiais, e a deposição de fibrina (CARLTON e MCGAVIN, 1998), podem ser responsabilizadas pela proliferação celular aqui observada.

O infiltrado inflamatório intersticial variou de discreto a intenso (Figura 2B). Na maioria dos cães, o infiltrado foi composto basicamente de plasmócitos, de histiócito, de linfócitos e macrófagos (Tabela 2). Entre as amostras estudadas, cinco não apresentaram alterações inflamatórias no interstício renal, porém em uma amostra foi visibilizado um granuloma no parênquima renal (Figura 2C).

A nefrite intersticial aqui encontrada, do ponto de vista fisiopatológico, é uma lesão importante (OLSEN et al., 1986), pois a alteração da função renal está mais relacionada com alterações intersticiais, do que com alterações glomerulares (BOHLE et al., 1987).

O quadro renal visualizado neste estudo, particularmente a glomerulonefrite membrano-proliferativa difusa e nefrite intersticial podem levar à insuficiência renal, a qual tem sido considerada como a principal causa de morte em animais com LVC (SLAPPENDEL e FERRER,

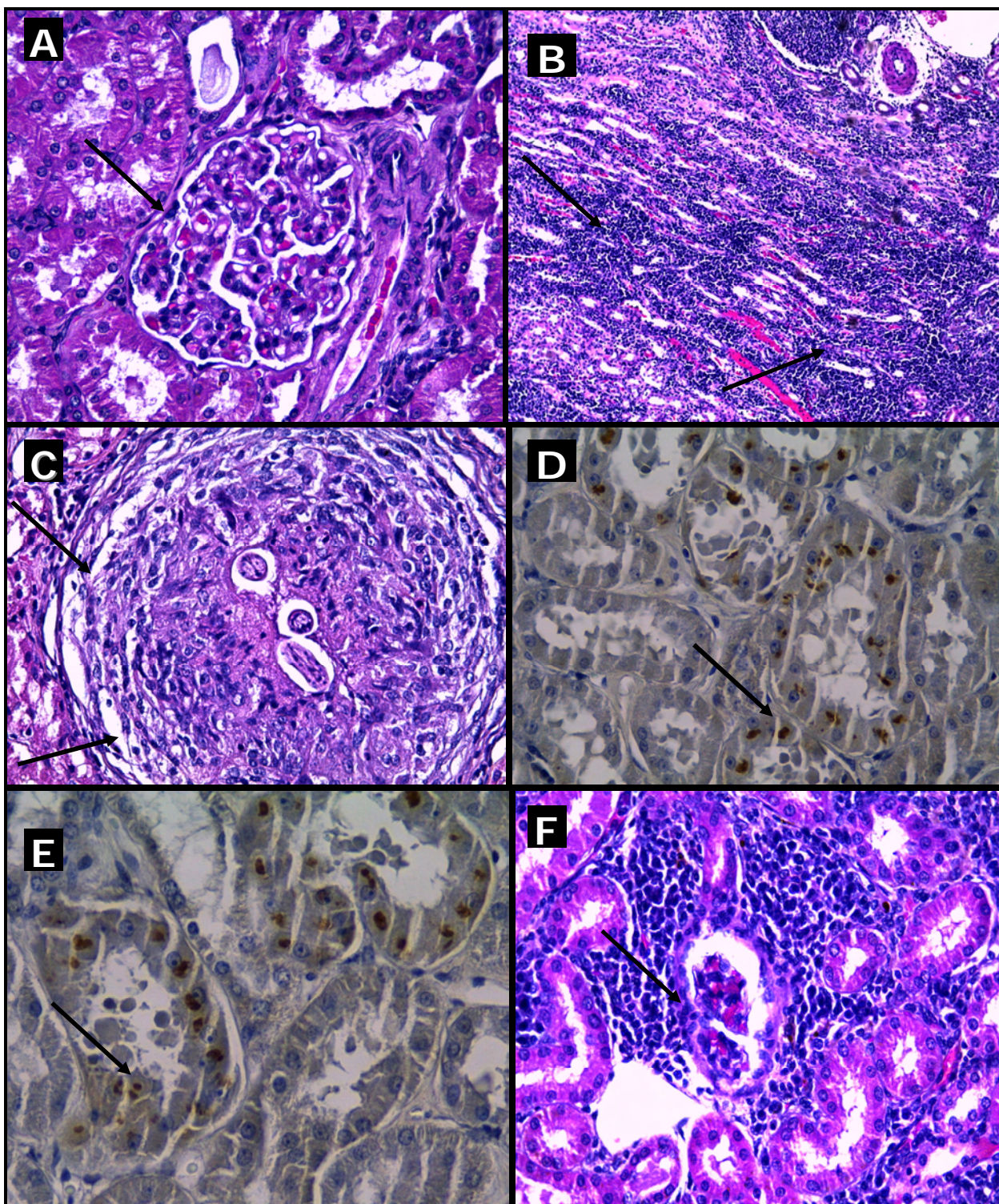
1990; PUMAROLA et al., 1991; NIETO et al., 1992; FERRER et al., 1995; LOPEZ et al., 1996; POCAI et al., 1998).

Das amostras de tecido renal, 8% (2/25) tiveram imunomarcção de formas amastigotas de *L. infantum* na técnica de imuno-histoquímica (Figura 2D e 2E) e apresentaram ao exame histopatológico glomerulonefrite membrano-proliferativa, diferentes graus de infiltrados linfoplasmocitário, caracterizando a nefrite intersticial e degeneração de glomérulos (Figura 2F).

Este resultado é superior àquele observado por Soares (2007) que encontrou 4% dos animais com formas amastigotas de *L. infantum* no tecido renal e ao citado por Costa et al., (2003) que não identificaram nenhum animal com formas amastigotas de *L. infantum* no tecido renal de cães no exame imuno-histoquímica. Porém difere do encontrado por Gomes et al., (2008) que não detectaram formas amastigotas no exame histopatológico e imuno-histoquímica em rins dos cães.

## **Conclusão**

A análise imuno-histoquímica permite a detecção de formas amastigotas na bexiga urinária de cães positivos para a leishmaniose visceral canina, sintomáticos ou assintomáticos, sendo superior ao exame histopatológico para a detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp. tanto em amostras de rins e como de bexiga urinária de cães.



**Figura 2**

A. Fotomicrografia da glomerulonefrite membrano-proliferativa. Seta. HE 400X.

B. Fotomicrografia do infiltrado linfohistioplasmocitário intenso e difuso no parênquima renal. Seta. HE 100X.

C. Fotomicrografia de granuloma no parênquima renal. Seta. IHQ 400X

D e E. Fotomicrografia da imunomarcagem pela imunohistoquímica através da estreptovidina-peroxidase das formas amastigotas de *L. infantum* túbulos renais .Seta. IHQ 400X.

F. Fotomicrografia de atrofia glomerular. Seta. HE. 400X.

## Referências

ALVES, L.C.; FAUSTINO, M.A.G. **Leishmaniose visceral canina** Manual da Schering-Plough, São Paulo, 2005. 14 p.

AYALA, M. P. A. R. Alterações renais no calazar canino espontâneo. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v.8, n.6, p.353-358, 1973.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C. de.; FREITAS NETO, A. G. de. **Manual de técnicas para histologia normal e patologia**. Editora da Universidade de São Paulo, São Paulo – SP, 1976.

BOHLE A, MACKENSEN-HAEN S, GISE HV (1987). Significance of tubulointerstitial changes in the renal cortex for the excretory function and concentration ability of the kidney: a morphometric contribution. **American Journal Nephrology**, v.7, p.33-421.

BOYE E., et al. Immune complex-mediated interstitial cystitis as a major manifestation of systemic lupus erythematosus. **Clinical Immunology and Immunopathology**, v.13, n.1, p.67-76, 1979

BRITO, F. L. C. Alterações oculares e análise do humor aquoso de cães (*Canis familiaris Linnaeus*, 1758) infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* (Cunha & Chagas, 1937). 2004. 53 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2004.

CAVALCANTI, M.P.; FAUSTINO, M.A.G.; DA-SILVA, L.B.G.; ALVES, L.C. Aspectos clínicos das dermatopatias infecciosas e parasitárias em cães com diagnóstico presuntivo de Leishmaniose Visceral. **Clínica Veterinária**, v. 58, p. 36-42, 2005.

CARLTON, W. W.; MCGAVIN, M.D. **Patologia Veterinária Especial**. 2.ed. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1998. p.226-265.

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

DIBARTOLA, S.P.; BENSON, M.D. The pathogenesis of reactive systemic amyloidosis. **Journal Veterinary Medicine**, v.3,n.1, p.31-41, 1989.

FEITOSA, M.M. Leishmaniose visceral: um desafio crescente. **Intervet Pet**, São Paulo, 2001. 14p.

FERRER, L. et al. Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v. 136, n.20, p.514-516, 1995.

GARCIA, F. C. B. Métodos subsidiários para o diagnóstico da LTA: comparação dos resultados do sequenciamento de DNA e da PCR-RFLP para a determinação da espécie de *Leishmania* em amostras cutâneo-mucosas (janeiro de 1993 a junho de 2004). 2005. 90 f. Dissertação (Mestrado

em Clínica Médica) - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

GOTO, H.; LINDOSO, J.A.L. Immunity and immunosuppression in experimental visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.37, n.4, p.615-623, 2004.

GOMES, L. A. et al. Lesões renais intersticiais e tubulares na leishmaniose visceral. **Revista Portuguesa de Ciências Veterinária**. v.103, p.567-568, 2008.

JONES, T.C.; HUNT, R.D.; KING, N.W. **Patologia Veterinária**. 6.ed. São Paulo: Manole, 2000. p.1131-1168.

LOPEZ, R. et al. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal of Veterinary Medicine**, v.43,469-474, 1996.

LUVIZOTTO, M. C. R. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina. **Manual Técnico Leishmaniose Visceral Canina**. Fort Dodge. p.28-29, 2006.

MAcDOUGALL DF, et al. Canine chronic renal disease: prevalence and types of glomerulonephritis in the dog. **Kidney international**, v.29, n.6, p1144-51, 1986.

MANCIANTI, F.; POLI, A., BIONDA, A. Analysis of renal immunodeposits in canine leishmaniasis. Preliminary results. **Parasitology**, v.31, p.213-230, 1989.

MORENO, J.; NIETO, J.; CHAMIZO, C. The immune response and PBMC subsets in canine visceral leishmaniasis before and after chemotherapy. **Veterinary Immunology Immunopathology**, v.71, n.3/4, p.181-195, 1999.

NIETO, C. G. et al. Pathological changes in kidneys of dogs with natural *Leishmania* infection. **Veterinary Parasitology**, v.45, n.1/2, p.33-47, 1992.

NOLI, C. La leishmaniosis del cane. **Waltham Focus**, London, v.9, n.2, p.16-24, 1999.

NOVAES, B.C.B. Avaliação das alterações estruturais em rins de cães (*Canis familiaris*) (LINNAEUS, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* (CUNHA E CHAGAS, 1937) e sua associação com a urinálise, e os níveis séricos de uréia e creatinina. 2005. 51f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) - Programa de Pósgraduação em Ciência Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco.

OLSEN, T. S. et al. Ultrastructure of the kidney in acute interstitial nephritis. **Ultrastruct Pathology**, v.10, p.1-16, 1986.

PIMENTEL, D. S. Alterações estruturais e análise imuno-histoquímica do coração e pulmões de cães (*Canis familiares*, Linnaeus, 1758) naturalmente infectados por *Leishmania (Leishmania)*

*chagasi* (Cunha e Chagas, 1937). 2009. 89 f. **Dissertação** (Mestrado em Ciência Veterinária) Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. 2009

POCAI, E. A. et al. Leishmaniose visceral (Calazar): cinco casos em cães de Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural [online]**. v.28, n.3, p.501-505, 1998.

POLI, A. et al. Renal involvement in canine leishmaniasis: a light- microscopic, immunohistochemical and electron-microscopic study. **Nephron**, v.57, n.4, p.444-452, 1991.

PUMAROLA, M. et al. Canine leishmaniasis associated with systemic vasculitis in two dogs. **Journal of Comparative Pathology**, v.105, n.3, p.279-286, 1991.

SLAPPENDEL, R.J.; FERRER, L. Leishmaniasis. *In*: GREENE, C.E. **Clinical Microbiology and Infectious Diseases of the Dog and Cat**. Philadelphia: W.B. Saunders, 1990. p.450-458.

SOARES, MARIA DE JESUS VELOSO. Seqüenciamento de DNA e imunoistoquímica renal para a detecção de *Leishmania sp.* em cães / Maria de Jesus Veloso Soares. Jaboticabal, 2007 xix, 67 f.: il.; 28 cm. **Tese** (doutorado) - Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, 2007.

TAFURI,W.L., et al. An alternative immunohistochemical method for detecting *Leishmania* amastigotes in paraffin-embedded canine tissues. **Journal of Immunologic Methods**, v.292, p. 17– 23, 2004.

TASCA, K.I. et al. Exames parasitológicos, imunoistoquímicos e histopatológicos para detecção de *Leishmania chagasi*. **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 18, n. 1, p.27-33, 2009.

WROCLAWSKI, E.R. et al. Aspectos histopatológicos da bexiga no lúpus eritematoso sistêmico. **Einstein**. n.7, p.452-61, 2009.



## 8. Conclusões finais

Ao avaliar os resultados deste estudo concluí-se que:

- a frequência de anticorpos anti-*Leishmania infantum* nos cães provenientes da zona urbana do município de Bom Jesus é alta;
- os casos caninos de LVC no bairro de Muribeca, no Município de Jaboatão dos Guararapes, Região Metropolitana de Recife – PE, não apresentam relação com a área de mata nativa e nem com a bacia hidrográfica local, no entanto a detecção dos casos positivos principalmente em animais assintomáticos, demonstra que o monitoramento da população canina quanto à presença de anticorpos anti-*Leishmania* sp., deve ser instituído e que estudos epidemiológicos adicionais devem ser realizados no bairro de Muribeca, para promover uma melhor compreensão da LVC nesta localidade;
- a análise imuno-histoquímica permite a detecção de formas amastigotas na bexiga urinária de cães positivos para a leishmaniose visceral canina, sintomáticos ou assintomáticos, sendo superior ao exame histopatológico para a detecção de formas amastigotas *Leishmania* sp. tanto em amostras de rins e como de bexiga urinária de cães.

## **9. ANEXOS**

## ANEXO 1

### FICHAS DO LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO DE LEISHMANIOSE

**Data:** \_\_\_\_\_ **Responsável:** \_\_\_\_\_

#### 1. FICHA DE IDENTIFICAÇÃO

Número da ficha: \_\_\_\_\_

Nome do proprietário: \_\_\_\_\_

Nome do animal: \_\_\_\_\_ Idade: \_\_\_\_\_ Sexo: F( ) M( )

Raça: \_\_\_\_\_ Pelagem: ( ) curta ( ) média ( ) longa

Porte: ( ) pequeno ( ) médio ( ) grande Cor: ( ) branca ( ) preta ( ) marrom ( ) dourada ( ) cinza

Procedência: \_\_\_\_\_ Viagens: ( ) sim ( ) não \_\_\_\_\_

Endereço: \_\_\_\_\_

Bairro: \_\_\_\_\_ Fone: \_\_\_\_\_

Ponto de referência: \_\_\_\_\_

#### 2. AVALIAÇÃO DO ANIMAL

Início da sintomatologia: \_\_\_\_\_

Vermifugado: ( ) sim ( ) não

Apetite normal: ( ) sim ( ) não

Perda de peso: ( ) sim ( ) não

Oftalmologia presente: ( ) sim ( ) não

Micção normal: ( ) sim ( ) não

Epistaxe: ( ) sim ( ) não

Claudicação: ( ) sim ( ) não

Aumento de linfonodo: ( ) sim ( ) não

Grifose: ( ) sim ( ) não

Úlcera cutânea: ( ) sim ( ) não

#### 3. MATERIAL COLETADO

Punção de medula: ( ) sim ( ) não  
( ) Ectal ( ) Iliaca

Raspado/pele íntegra: ( ) sim ( ) não

Raspado/pele lesionada: ( ) sim ( ) não

Soro: ( ) sim ( ) não

Plasma: ( ) sim ( ) não

#### 5. RESULTADO

Parasitológico de medula: ( )

Parasitológico/pele íntegra: ( )

Parasitológico/pele lesionada: ( )

Sorologia/ELISA: ( )

IHQ: ( )

#### 7. OBSERVAÇÕES:

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

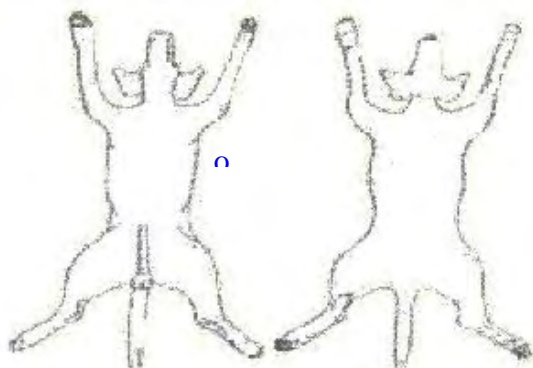
\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

#### 4. DADOS SOBRE O VETOR

Presença de mosquito: ( ) sim ( ) não

#### 6. LOCALIZAÇÃO DAS LESÕES



## ANEXO 2

**TERMO DE RESPONSABILIDADE**

Eu: \_\_\_\_\_, residente  
em \_\_\_\_\_

Portador do RG nº \_\_\_\_\_ abaixo assinado atesto que entendi o conteúdo deste consentimento informado e concordo de livre e espontânea vontade de participar do estudo de leishmaniose visceral canina (LVC) na UFRPE através da doação do meu animal de nome \_\_\_\_\_ para eutanásia, por este ser portador de LVC. Declaro, ainda, que esclareci todas as minhas dúvidas com os profissionais pela pesquisa e autorizo à publicação dos dados e/ou as fotos.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Proprietário

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Testemunha

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Assinatura de um dos responsáveis pela pesquisa

\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_