

LEISHMANIOSE VICERAL CANINA: MÉTODOS DE DIAGNÓSTICO

AUTOR

SOUZA, Jhone Adegas

PEREIRA, Wancleia Soares

KAWANO, Michely Nicizak

Discentes do curso de Medicina Veterinária – UNILAGO

BLANKENHEIM, Thalita Masoti

Docente do curso de Medicina Veterinária – UNILAGO

RESUMO

A Leishmaniose Visceral Canina é uma doença de caráter zoonótico, ou seja, acomete animais podendo ser transmitida á seres humanos, sendo considerado um problema de saúde publica. A LVC acomete cães na forma visceral e tegumentar, trazendo prejuízos significativos à saúde do animal. Para que a hipótese diagnóstica da Leishmaniose Visceral Canina seja confirmada ou descartada, torna-se necessário a realização de testes confiáveis, assim, compreendendo a importância do diagnóstico preciso para fins de controle e tratamento da doença, o presente artigo teve por objetivo revisar métodos de avaliação diagnóstica, destacando a importância da associação de diferentes métodos, como: avaliação clínica, testes parasitológicos, bioquímicos, sorológicos e moleculares. Abordando a especificidade e sensibilidade dos principais testes utilizados no diagnóstico de LVC. Fora destacando ações de prevenção, compreendendo a importância do controle do vetor flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, para a diminuição da transmissão do protozoário *Leishmania spp*. Concluiu-se, com este trabalho, que a Leishmaniose Visceral Canina é uma zoonose importante, tratando-se de um grande problema de saúde pública, sendo necessário a intervenção do município para o diagnostico correto, controle e tratamento.

PALAVRAS - CHAVE

Amastigota, Análise, Calazar, Promastigota, Zoonose.

1. INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina é uma doença de caráter zoonótico, ou seja, acomete animais podendo ser transmitida á seres humanos, sendo caracterizada como um problema significativo de saúde publica, uma vez que podem atingir esta população com formas viscerais e cutâneas de leishmaniose em humanos. Os protozoários causadores desta enfermidade pertencem ao gênero *Leishmania* spp. Os cães domésticos são considerados os principais reservatórios peridoméstico de infecção humano, pois apresentam livre acesso as residências, porém outros animais, como: roedores, marsupiais e gatos também são reservatórios peridoméstico (OLIVEIRA, 2018).

A Leishmaniose é considerada uma doença endêmica em diversos países, principalmente na região do Mediterrâneo, África, Ásia Meridional e América Latina, afetando milhares de pessoas por ano. No Brasil, esta doença afetou grandes cidades, antigamente a Leishmaniose era considerada uma doença de áreas rurais, porém com o processo de urbanização tornou-se endêmicas em regiões metropolitanas, fatores como: baixas condições socioeconômicas e saneamento precário favorecem a disseminação da doença (OLIVEIRA, 2018).

O agente transmissor da Leishmaniose é o vetor flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, conhecido popularmente como mosquito palha (Figura 1). As fêmeas são hematófagas, ou seja, alimentam-se de sangue após o acasalamento para obtenção de nutrientes necessários para o desenvolvimento de seus ovos. Os machos alimentam-se especialmente de seiva de plantas. Seu habitat natural são lugares úmidos e escuros onde existem plantas e oferta de matéria orgânica como resto de folhas e dejetos, pois esse material é importante no ciclo de desenvolvimento das larvas, as quais dependem de alimentação proveniente de matéria orgânica depositada no solo (ISABEL, 2010).



Figura 1. Imagem demonstrativa de um flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* vetor transmissor da leishmaniose visceral canina (Fonte: ministério da saúde, 2014).

Compreendendo o impacto à saúde pública, o presente estudo tem como objetivo descrever os métodos diagnósticos da Leishmaniose visceral canina, embasados em revisão da literatura, a fim de apresentar métodos precisos na prevenção e intervenção de casos positivos da infecção pelo protozoário *Leishmania* spp.

2. CICLO BIOLÓGICO E TRANSMISSÃO

A transmissão (Figura 2) ocorre por meio da picada de fêmea, a qual é infectada por meio de sua alimentação em reservatórios que podem ser animais domésticos ou silvestres que estejam infectados com os protozoários que possuem a forma amastigota (CHAGAS, 2017).

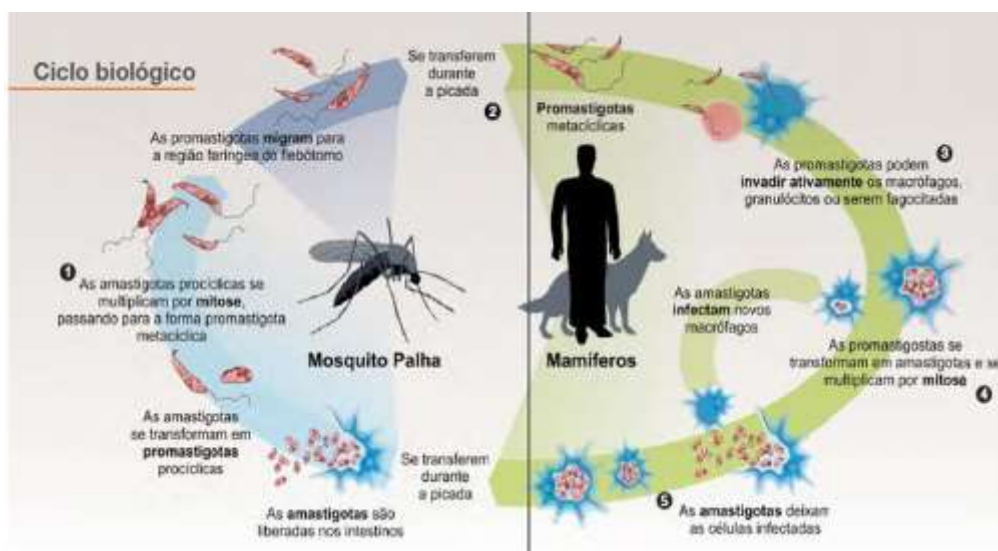


Figura 2. Imagem demonstrativa do ciclo de transmissão da leishmaniose visceral canina, demonstrando o as formas de transmissão e os hospedeiros susceptíveis e acidentais (Fonte: FREZARD, 2015).

As Leishmanias apresentam comportamentos dimórficos, ou seja, apresenta duas formas distintas dependendo da fase de vida que se encontra o parasita. Na figura 3A, o protozoário encontra-se na forma amastigota da Leishmania, a qual está presente no interior dos macrófagos, ou seja, é intracelular e não móvel, enquanto na figura 3B, o protozoário encontra-se na forma promastigota, qual está presente no trato gastrointestinal do vetor, apresentando uma forma móvel, extracelular e flagelada (CHAGAS, 2017).

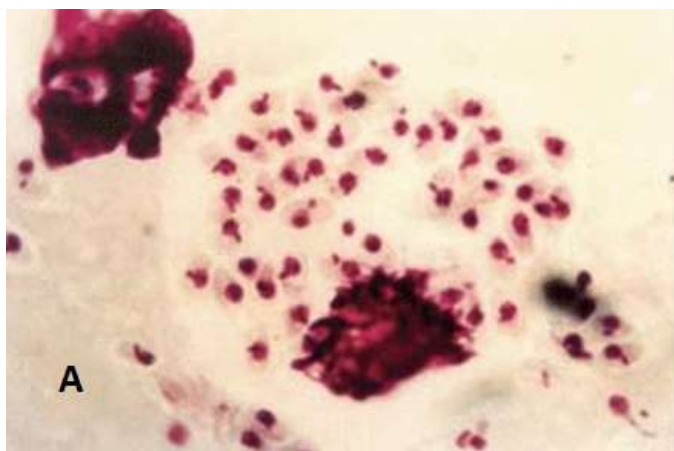


Figura 3A. Imagem demonstrativa da forma amastigota (Fonte: Ministério da saúde, 2014).

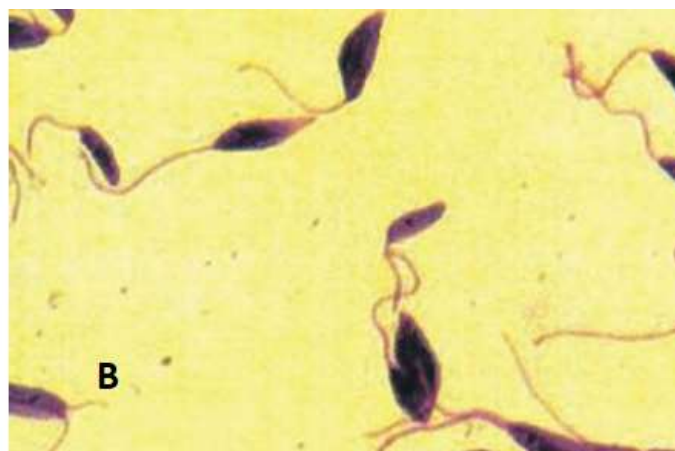


Figura 3B. Imagem demonstrativa da forma promastigota (Fonte: Ministério da saúde, 2014).

Existem outras vias de transmissão, as quais são denominadas: transmissão transplacentária cuja transmissão ocorre durante a vida intrauterina entre mãe e feto, transmissão venérea onde a transmissão ocorre durante relação sexual e transmissão iatrogênica que pode ocorrer durante a transfusão sanguínea (CHAGAS, 2017).

3. SINAIS CLÍNICOS

A Leishmaniose Visceral Canina poderá ser manifestada por meio de sinais clínicos, os quais são semelhantes em cães e seres humanos. Nos cães pode-se destacar, além do acometimento das vísceras, como: hepatoesplenomegalia, outros sinais como: febre intermitente, perda de peso, linfadenopatia, lesões na pele, anemia, caquexia, onicogrifose, hipergamaglobulinemia e lesões de pele como alopecia multifocal e úlceras crostosas, principalmente na região da orelha, focinho e periórbital (ALVES, 2023).



Figura 4A e B. Imagens demonstrativas da sintomatologia de onicogrifose em cães (Fonte: Prefeitura de Belo Horizonte, 2023).



Figura 5A e B. Imagens demonstrativas da descamação, queda de pelos e feridas na pele de cães acometidos por leishmaniose visceral (Fonte: Prefeitura de Belo Horizonte, 2023).

Após a infecção, os sinais clínicos poderão se manifestar entre dois a doze meses, posterior a inoculação do parasita, porém torna-se relevante ressaltar que alguns cães acometidos pela leishmaniose

apresentam-se assintomáticos, permanecendo como reservatórios da doença com a capacidade de infectar o vetor dando continuidade ao ciclo (ALVES, 2023).

4. DIAGNÓTICO

São diversos os métodos de avaliação diagnóstica da Leishmaniose Visceral Canina. Em se tratando dos testes, atualmente nenhum demonstra 100% de sensibilidade e especificidade, diante disto torna-se relevante a associação entre diferentes métodos, como: avaliação clínica, testes parasitológicos, bioquímicos, sorológicos e moleculares (FARIA, 2012).

A avaliação clínica é composta por meio da observação, embasada nos sinais clínicos do paciente, histórico do animal, mediante a entrevista anamnese com os tutores e avaliação física (ALVES, 2023).

Os testes parasitológicos são realizados por meio da observação de formas amastigotas de *Leishmania*, podendo se apresentar no interior ou exterior dos macrófagos, onde a visualização é possível por meio da análise microscópica de aspirado e/ou punção de linfonodos, medula óssea ou baço. Estes testes, apresentam alta sensibilidade, podendo variar de 93 a 99% para o baço, 53 a 86% para a medula óssea e 53 a 65% para os linfonodos. Existem fatores que influenciam a sensibilidade dos testes, como: grau de parasitismo do animal, o tipo de material biológico coletado para o exame, período entre a coleta e leitura da lâmina, assim como, a experiência e dedicação do profissional responsável pela avaliação da lâmina. O teste imunohistoquímico é outro método parasitológico, onde são utilizados fragmentos de tecidos retirados de biópsias. A face interna do pavilhão auricular de cães é considerada a região de maior concentração de parasita, sendo portanto frequentemente utilizada na biópsia. De sensibilidade este teste possui porcentagem de 70 a 80, no que tange a especificidade alcança 100%. A função dos testes parasitológicos consistem no reconhecimento do antígeno de *Leishmania* spp, onde o antígeno irá associar-se ao anticorpo primário. A visualização será possível após o segundo anticorpo se unir ao primeiro, pois o antígeno ficará fluorescente (LIMA, 2013).

Ainda de acordo com Lima (2013), os exames laboratoriais bioquímicos são realizados por meio da coleta de sangue do animal, com a finalidade de avaliar possíveis alterações hematológicas, hiperglobulinemia, hipoalbuminemia, hiperproteinemia, trombocitopenia, leucopenia associada à linfopenia ou leucocitose. Esses exames complementares poderão incluir hemograma, avaliação da função renal, hepática, dosagem de eletrólitos e fração albumina/globulina. Portanto os testes bioquímicos são de importância significativa para o acompanhamento dos estágios clínicos da doença, as alterações anteriormente citadas poderão se manifestar em outras patologias, mediante isto os recustados são sugestivos, sendo necessária a utilização de outros testes para a confirmação da hipótese diagnóstica. Na avaliação diagnóstica também poderá ser utilizados exames de imagem, como radiografia e ultrassonografia, os quais permitem identificar lesões e possíveis alterações desencadeadas pela infecção causada pelo protozoário *Leishmania* spp.

Os testes sorológicos são considerados de baixo custo, alta confiabilidade e pouco invasivos sendo frequentemente utilizados no diagnóstico LVC, com a produção significativa de anticorpos devido à intensa estimulação policlonal de linfócitos B, desencadeada pela infecção pelo protozoário *Leishmania* spp, o diagnóstico por meio de provas sorológicas é facilitado. Em laboratório, a amostra do material é coletada através da retirada de sangue, onde o mesmo será inserido em tubo sem anticoagulante, onde irá ocorrer a coagulação do sangue, posteriormente o tubo é colocado na centrífuga, com o sororo em sua forma refrigerada, onde será separado o plasma e o soro, por meio do processamento, permitindo que o soro fique livre das hemácias e sedimentos de líquidos biológicos (MERGEN, 2023).

Como exemplos de testes sorológicos podemos citar: Ensaio Imunoenzimático (ELISA), que apresenta 98% de sensibilidade e 96,5% de especificidade e a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) com 98,8% de sensibilidade e 94,7% de especificidade, frequentemente ambos são utilizados concomitantemente para uma maior confiabilidade no diagnóstico. No teste Elisa, ocorre a busca por antígenos ou anticorpos por indução do processo de reação entre os mesmos, com a adição da enzima peroxidase. Caso o anticorpo esteja presente ocorrerá a reação, sendo possível identificar por meio da coloração. A procura do antígeno é realizada por meio da utilização de anticorpos anti-Leishmania encontrados na placa de poliestireno. Mediante ao resultado positivo, torna-se relevante a realização da contraprova, através de exame parasitológico, pois existe a possibilidade de reações cruzadas oriundas de anticorpos produzidos por outras infecções. Já o teste RIFI é realizado por meio da diluição do soro em solução salina tamponada, colocada em lâminas que contêm antígenos específicos de *Leishmania major*, posteriormente é inserido anticorpos anti-IgG para *Leishmania* spp, marcados com fluorocromo, sendo possível a visualização de fluorescência na lâmina. A ligação entre os anticorpos conjugados indicam que o material coletado possui IgG contra o antígeno. A diluição de 1/40 é o padrão considerado reagente, porém os casos LVC demonstram títulos elevados, mediante a elevada carga parasitária nessa enfermidade (MERGEN, 2023).

Desde 2012 o protocolo de diagnóstico oficial para Leishmaniose Visceral Canina, corresponde ao uso do teste rápido DPP®, com a finalidade de triagem e a utilização do teste ELISA como confirmatório. Diferentemente do teste Elisa, o DPP® Dual Path Platform corresponde a um imunoensaio de dupla plataforma com partículas de ouro coloidal e proteína recombinante rK28 (fragmentos K26, K39 e K9) como antígeno, tornando-se possível a identificação de anticorpos específicos anti-Leishmania. O resultado do teste rápido poderá ser obtido entre quinze e vinte minutos, não sendo necessário laboratório, é de simples interpretação e leitura. Apresenta fácil execução em campo, com pouca quantidade de amostra (5µL), podendo ser realizado através do soro, plasma ou sangue total venoso. Quando comparado com outros testes, como ELISA e RIFI, o teste DPP®, revela maior especificidade e menor sensibilidade (BARBOSA, 2015).

Outros testes como os moleculares também poderão ser utilizados no diagnóstico de LVC, como exemplo podemos citar: o teste de Reação em Cadeia Polimerase (PCR), no qual é possível identificar e ampliar seletivamente sequências de DNA do parasito. O teste é realizado por meio da amplificação do DNA do protozoário de 120 pares de bases nitrogenadas, onde a detecção poderá ser obtida por meio de amostras retiradas de diversos tecidos, como: medula óssea, pele, aspirados de linfonodos, sangue e cortes histológicos de tecidos parafinados, utilizando o par de oligonucleotídeos para *Leishmania* sp: 13A 5'-dGTG GGG GAG GGG CGT TCT3' e 13B 5'-dATT TTA CAC CAA CCC CCA GTT-3. Torna-se relevante ressaltar, que a amostra de sangue apresenta baixa sensibilidade, diante disto é pouco recomendada para a realização do teste (MOTTA, 2021).

No PCR é realizada a desnaturação da fita de DNA molde, sendo seguido da adição dos segmentos de ácidos nucleicos (primers). A polimerase irá adicionar as bases nitrogenadas complementares à fita molde para verificação e análise da fita de DNA, sendo possível a visualização do genoma páreo ao dos protozoários da leishmaniose. O PCR apresenta entre 38% e 76% de sensibilidade e 100% de especificidade. Entretanto, poderá ocorrer falso negativo, pois dependendo da carga parasitária do animal, o DNA do parasito não poderá ser encontrado (MOTTA, 2021).

5. PREVENÇÃO E TRATAMENTO

O vetor responsável pela transmissão de Leishmaniose Visceral Canina (LVC), é o flebotomíneo, conhecido popularmente como mosquito-palha. Diante disto, visando o controle da disseminação da doença medidas preventivas são utilizadas, manejos ambientais e químicos. No que tange as ações ambientais, podemos destacar a eliminação de criadouros do flebotomíneo, que correspondem a restos de matéria orgânica, assim como, a utilização de telas mosquiteiras em portas janelas, a fim de evitar a entrada do vetor em ambientes fechados. Ações de saneamento básico, reduzindo a quantidade de lixo e entulhos nas ruas, agem como fator de prevenção a LVC (OLIVEIRA, 2018).

Já as medidas químicas envolvem o uso de inseticidas em ambientes com alta infestação de mosquitos, assim como, o uso de repelentes e coleiras impregnadas com inseticidas em cães que estão em tratamento de LVC, atua na diminuição da transmissão da doença. A conscientização da população age como fator de prevenção, com a finalidade de informar a respeito de controle do vetor, por meio da limpeza de ambientes, identificação de sinais e sintomas da infecção, bem como, a importância do tratamento. Como medida de controle da população de cães infectados, em situações específicas, envolvendo áreas endêmicas, visando evitar a transmissão do parasita de cães para humanos, recomenda-se a eutanásia de cães infectados (MERGEN, 2023).

O tratamento de cães diagnosticados com Leishmaniose Visceral Canina envolve a administração do fármaco Milteforan®, princípio ativo: Miltefosina, sendo este o único fármaco de uso veterinário registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA). A finalidade do tratamento envolve a redução da carga parasitária e consequentemente a remissão dos sinais clínicos (ROSAR, 2022).

6. CONCLUSÃO

Conclui-se que a Leishmaniose Visceral Canina é uma doença de caráter zoonótico, tratando-se de um problema de saúde pública, sendo de extrema necessidade a intervenção do município para controle e tratamento.

Com a finalidade de diagnosticar a infecção causada pelo protozoário *Leishmania* spp, os testes apresentam importância significativa, podendo dar início a ações de controle e tratamento da doença, Testes como: DPP® e ELISA, atualmente apresentam alta sensibilidade e especificidade, atuando por meio da detecção e confirmação, sendo frequentemente indicados para investigação.

Foi possível identificar que atualmente nenhum teste demonstra 100% de sensibilidade e especificidade, sendo necessária e de extrema importância a associação de diferentes métodos de avaliação diagnóstica, incluindo avaliação clínica, testes parasitológicos, bioquímicos, sorológicos e moleculares.

Torna-se relevante ressaltar a importância das medidas preventivas, para fins de controle de vetores e consequentemente diminuição da transmissão da doença LVC. Compreendendo a gravidade da doença e os prejuízos a saúde física do animal, podendo levar este a morte, torna-se extremamente relevante um diagnóstico preciso e tratamento adequado.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

ALVES, Guilherme Guerra et al. Leishmaniose visceral canina. **Revista de Trabalhos Acadêmicos**, Belo Horizonte, v. 1, n. 8, 2023.

BARBOSA, Camila Oliveira Silva et al. **Desempenho do teste imunocromatográfico rápido DPP®-Dual Path Platform para diagnóstico da leishmaniose visceral canina e reação cruzada com hemoparasitos**. 2015.

CHAGAS, Rebecca Lunière De Abreu. **Leishmaniose visceral canina: PERFIL EPIDEMIOLÓGICO DO DISTRITO FEDERAL, 2013 a 2017**.

FARIA, Angélica Rosa; DE ANDRADE, Hélida Monteiro. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v. 3, n. 2, p. 11-11, 2012.

FREZARD, Frederic Jean Georges. A caminho da cura da leishmaniose visceral canina. **Canal ciência**, 2015. Disponível em <https://canalciencia.ibict.br/ciencia-em-sintese/artigo/?item_id=26081> acesso em 08/09/2023 às 07h00min.

ISABEL, Thais Ferreira. **Leishmaniose Visceral canina: CLONAGEM E EXPRESSÃO DAS PROTEÍNAS LC24 E LC36 DE L. CHAGASI COM POTENCIAL APLICAÇÃO NO DIAGNÓSTICO E DESENVOLVIMENTO DE VACINA**. Araraquara, 2010.

LIMA, Camila de Aguiar et al. Diagnóstico da leishmaniose visceral canina: uma revisão. **Pubvet**, v. 7, p. 2565-2677, 2013.

MERGEN, Maria Eduarda; SOUZA, Marília Mascarenhas. Leishmaniose Visceral canina, métodos diagnósticos e tratamento na atualidade—Revisão de literatura. **Revista JRG de Estudos Acadêmicos**, v. 6, n. 13, p. 1024-1036, 2023.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. SÉRIE A. NORMAS E MANUAIS TÉCNICOS, 2014.

MOTTA, Leonardo Marchetti; EBERT, Kaio Gutieres; BATISTA, Keila Zaniboni Siqueira. Diagnóstico imunológico e molecular da leishmaniose visceral canina: revisão. **Pubvet**, v. 15, p. 176, 2021.

OLIVEIRA, Carolina Sbaraini. **Leishmaniose Visceral Canina: REVISÃO DE LITERATURA**. Porto Alegre, 2018/2.

OLIVEIRA, R. C.; BORGES, F. A.; FERREIRA, F. L. Prevalência e fatores associados à infecção por *Leishmania* spp. Em cães no estado de Minas Gerais, Brasil. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 1, p. 49-54, 2018.

PREFEITURA DE BELO HORIZONTE. **Leishmaniose Visceral Canina**. Criado em 24/05/2019 - atualizado em 10/07/2023. Disponível em <<https://prefeitura.pbh.gov.br/saude/leishmaniose-visceral-canina>> acesso em 08/09/2023 às 09h15min.

ROSAR, Amábili de Souza et al. **Estudo da eficácia do Milteforan® no tratamento da leishmaniose visceral canina na região da grande Florianópolis, SC**. 2022.