

## Quadro clínico de cães infectados naturalmente por *Leishmania chagasi* em uma área endêmica do estado da Bahia, Brasil

*Clinical profile of naturally infected dogs from an endemic area for "Leishmania chagasi" (infantum) in Bahia State, Brazil*

AGUIAR, Paulo Henrique Palis<sup>1</sup>; SANTOS, Silvana Ornelas<sup>2</sup>; PINHEIRO, Alisson Azevedo<sup>2</sup>; BITTENCOURT, Diana Velloso Vianna<sup>2</sup>; COSTA, Rafael Lyra Gaspar<sup>2</sup>; JULIÃO, Fred da Silva<sup>2</sup>; SANTOS, Washington Luis Conrado<sup>3</sup>; BARROUIN-MELO, Stella Maria<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Patologia e Clínicas, Escola de Medicina Veterinária, UFBA, Brasil.

<sup>2</sup>Laboratório de Infectologia Veterinária, Escola de Medicina Veterinária, UFBA, Brasil.

<sup>3</sup>Laboratório de Engenharia Tecidual e Imunofarmacologia, FIOCRUZ, Brasil.

\*Endereço para correspondência: sicavet@yahoo.com.br

### RESUMO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose de importância em Saúde Pública, causada no Novo Mundo pela *Leishmania chagasi* e é associada a uma doença sistêmica crônica à qual se atribui uma gama variada de sinais clínicos. Foram examinados 61 cães, identificados como soropositivos pelo teste ELISA indireto para anticorpos anti-*Leishmania*, provenientes do município de Jequié, área endêmica para LVC na Bahia, tendo-se como o objetivo delinear o perfil clínico dos animais infectados. Os caninos foram submetidos ao exame físico e estudo parasitológico por cultivo do parasito em amostras de aspirado esplênico. Todos os cães foram classificados como sintomáticos, sendo 13 positivos ao exame parasitológico. Foi encontrada correlação entre os resultados positivos de cultura esplênica e a densidade óptica obtida no ELISA dos cães estudados ( $r=0,8555$ ;  $p=0,00327$ ) e entre os resultados de ELISA e a presença de alterações cutâneas ( $p=0,0402$ ), conjuntivite ( $p=0,050$ ), esplenomegalia ( $p=0,0272$ ) e dificuldade de locomoção ( $p=0,0256$ ), além de tendência à redução no número de hemácias nos animais. Observaram-se positividade na cultura e alterações das mucosas ( $p=0,0106$ ), apatia ( $p=0,0469$ ), aumento de bastonetes ( $p=0,0224$ ) e leucocitose com desvio à esquerda. O conjunto de sinais clínicos encontrados mostrou-se equivalente aos sinais descritos na literatura em cães infectados por *L. infantum* e *L. donovani* nos países do velho mundo.

Palavras-chave: cão, *Leishmania chagasi*, perfil clínico

### SUMMARY

The purpose of this study was to report a description of the clinical profile of naturally infected dogs from an endemic area for *Leishmania chagasi (infantum)*-caused visceral leishmaniasis in Brazil, where a wide range of clinical signs are attributed to the infection in dogs. Sixty one dogs, seropositives for anti-*L. chagasi* antibodies by ELISA, from the urban and peri urban areas of Jequié, in Bahia State were studied. Each clinical sign of disease was recorded. Parasitological diagnosis of *Leishmania* infection was positive by culture of spleen aspirated samples in 21.3 % (13/61) seropositive dogs, although all of them (100%) were defined as symptomatic by physical examination. A positive statistical correlation was found between seropositivity with high levels of optical density (above 1.0) in ELISA and presence of parasites in culture of spleen aspirates ( $r=0.8555$ ;  $p=0.00327$ ), cutaneous disease ( $p=0.0402$ ), conjunctivitis ( $p=0.050$ ), enlargement of spleen ( $p=0.0272$ ) and lameness ( $p=0.0256$ ). A tendency of lowered red blood cell counts was also found among animals with higher seropositivity. The group of animals with positive parasitological tests presented more mucosal lesions ( $p=0.0106$ ), apathy ( $p=0.0469$ ), and leucocytosis with left deviation ( $p=0.0224$ ). The conjunct of clinical alterations associated to positive serological or parasitological diagnosis for *Leishmania chagasi* infection were similar to the reported signs of disease caused by *L. infantum* and *L. donovani* in Old World countries.

Key words: dog, clinical profile, *Leishmania infantum/chaga*,

## INTRODUÇÃO

Atualmente, a leishmaniose encontra-se entre as seis endemias consideradas prioritárias no mundo (BRASIL, 2003). No Brasil, onde ocorrem cerca de 90% dos casos de leishmaniose visceral (LV) humana relatados nas Américas Central e do Sul, cães domésticos e raposas (*Cerdocyon thous* e *Dusycion vetulus*) são considerados os principais reservatórios naturais do parasito (DEANE et al., 1955; COURTENAY et al., 1996). A doença é causada pela *Leishmania infantum*, na Europa, e pela *Leishmania chagasi*, nas Américas, sendo ambas pertencentes ao complexo *Leishmania donovani* (WHO, 1990). Alguns estudos indicam que a introdução do parasito nas Américas deveu-se à colonização européia, uma vez que há evidências de que *L. chagasi* e *L. infantum* pertençam à mesma espécie (MAURÍCIO et al., 2001). O parasito é transmitido para o homem e para os animais através da picada de mosquitos do gênero *Lutzomyia* no Novo Mundo e *Phlebotomus* no Velho Mundo (CIARAMELLA et al., 1997).

A infecção canina no Brasil coexiste com a doença humana em todos os focos conhecidos. Do ponto de vista epidemiológico, a doença canina é considerada de grande importância, pois há um grande contingente de animais assintomáticos albergando parasitos na derme (MARZOCHI et al., 1985). Casos de LV humana e LV canina já foram notificados em 19 estados brasileiros, sendo as principais áreas endêmicas localizadas no Nordeste (MOURA et al., 2002). Medidas profiláticas de controle vêm sendo aplicadas nas áreas de risco, observando-se o declínio da LVC em alguns anos, porém, desde 1988, a doença encontra-se em franca expansão, principalmente em áreas suburbanas dos municípios localizados nas regiões sudoeste, centro-oeste e norte do estado da Bahia (BRASIL, 2003).

A LVC é considerada uma doença imunomediada, devido à capacidade do parasito de modificar o sistema imunológico do hospedeiro (PINELLI et al., 1994). O parasito multiplica-se dentro dos macrófagos, causando uma inflamação crônica associada à intensa resposta policlonal de células B. A hipergamaglobulinemia resultante leva à deposição de imunocomplexos e à ativação do sistema complemento nos tecidos, que culmina com vasculite, uveíte, artrite, dermatite e, especialmente glomerulonefrite e falha renal (LOPEZ et al., 1993; IKEDA et al., 2003).

O quadro clínico que se segue é grave, comprometendo a sobrevivência do cão e o tratamento com antimoniais e outros fármacos frequentemente resulta em falha (AMUSATEGUI et al., 1998). O período de incubação da infecção até o aparecimento dos sinais pode levar de poucos meses a anos (PARANHOS-SILVA et al., 1996). Os cães infectados pela *Leishmania chagasi* apresentam um espectro de características clínicas, que varia do aparente estado sadio à caquexia no estágio final. A infecção evolui para os estados latente ou patente que, por sua vez, em períodos variáveis de semanas, meses ou anos, podem evoluir para a forma aguda, subaguda, crônica ou regressiva (MARZOCHI et al., 1985).

Os estudos clínicos reportados em vários países na Europa e nas Américas não identificam predisposição racial, apesar de haver aparente predominância de raças de grande porte, utilizadas com certa frequência em atividades realizadas no ambiente externo, como caça ou guarda, estando esses animais naturalmente mais expostos aos vetores da infecção. Nesse contexto, não foi verificada predisposição associada à idade ou gênero (ABRANCHES et al., 1991; KOUTINAS et al., 1995; FRANÇA-SILVA et al., 2003).

O diagnóstico clínico da leishmaniose canina pode ser difícil devido à grande variedade de sintomas clínicos. Alguns

sinais podem ocorrer de forma semelhante ou concomitante com outras doenças infecciosas ou linfoproliferativas (SLAPPENDEL & GREENE, 1990; ABRANCHES et al., 1991; KONTOS e KOUTINAS, 1993). De modo geral, os animais desenvolvem um processo debilitante, crônico, com linfadenomegalia generalizada, anemia, lesões cutâneas ulcerativas ou descamativas e glomerulonefrite com proteinúria. Blefarite, úlcera e edema de córnea, conjuntivite e uveíte são comuns. Sinais inespecíficos como perda de peso progressiva, apesar de apetite normal, e distúrbios locomotores associados à fraqueza muscular são também comumente relatados. A suspeita clínica da infecção é mais facilmente levantada e confirmada quando o animal apresenta simultaneamente vários sinais, mas quando há envolvimento de apenas um sistema ou quando ocorrem lesões atípicas ou incomuns, o diagnóstico torna-se bastante difícil. A presença de proteinúria e alterações nas proporções de proteínas plasmáticas pela eletroforese, como a hiperproteinemia com hipoalbuminemia e elevação das frações alfa-2, beta e gamaglobulinas são dados que orientam, mas não definem o diagnóstico.

Testes sorológicos têm sido utilizados para detecção de anticorpos específicos, entre eles, a imunofluorescência indireta (IFI) (ABRANCHES et al., 1991; PARANHOS-SILVA et al., 1996), o ensaio imunoenzimático (ELISA) (DYE et al., 1993; BADARÓ et al., 1996) e a aglutinação direta (DAT) (DYE et al., 1993; FERRER et al., 1995). A experiência clínica, em países onde a doença é endêmica, demonstra que alguns animais infectados apresentam respostas negativas à sorologia (FERRER et al., 1995; Paranhos-Silva et al., 1996). Reações cruzadas com outras infecções nos testes sorológicos, comumente, tornam necessária a confirmação da infecção com outros métodos, como o cultivo, a

imunohistoquímica ou a reação em cadeia da polimerase (PCR).

Não há sinais clínicos marcadores de risco que permitam determinar se um indivíduo infectado poderá evoluir para a doença, permitindo assim uma intervenção. Neste estudo, foram classificados uma série de achados clínicos em cães de uma área endêmica no estado da Bahia, segundo parasitismo esplênico e soropositividade para anticorpos anti-*Leishmania*, sendo traçados perfis clínicos equivalentes a marcadores clínicos, utilizados no diagnóstico precoce da doença.

## MATERIAL E MÉTODOS

O município de Jequié apresenta uma série de aspectos que caracterizam o caráter endêmo-epidêmico da LVC na região. São observados: crescente número de casos da doença em áreas de ocupação recente pelo estabelecimento de aglomerados habitacionais, a interferência no equilíbrio ecológico pelo deslocamento e/ou extinção da fauna pela destruição dos *habitats* naturais. A área localiza-se no sudoeste do Estado da Bahia, sendo seu principal município Jequié, que dista 189 km da capital situada a 13° 52' S e 40° 04' W. Com população total de 147.115 habitantes em 2000, sendo que 130.207 (88,51%) vivem em áreas urbanas e 16.908 (11,49%) em áreas rurais. A região é entremeada por pequenas serras e morros, recobertos de vegetação do tipo higrófilo-megatérmico, representada por caatingas e capoeiras, com poucas áreas cobertas por floresta tropical ou mata. A região apresenta clima tropical semi-árido, com temperatura média anual de 24 °C e pluviosidade anual de 500 mm. Além da precipitação de chuva ser muito baixa, a zona é periodicamente assolada pelas secas. Este estudo foi realizado em parceria com o Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva, o CERDEPS/PIEJ – SESAB (Secretaria da Saúde do Estado da Bahia) onde desenvolvem-se atividades de

prevenção e controle da leishmaniose tegumentar e visceral. A partir do estudo epidemiológico realizado por Paranhos-Silva et al. (1996), na cidade de Jequié, a prevalência estimada da doença situa-se em torno de 20%. O município foi subdividido em áreas urbanas e periurbanas habitadas em 140 clusters de 0,25 km<sup>2</sup>. Neste trabalho foi estudado o bairro de Vera Cruz, sendo realizadas duas intervenções com intervalo de um ano, em que os cães foram selecionados aleatoriamente, incluindo-se animais domiciliados e errantes.

Foi realizado um censo completo na área escolhida, em um estudo de coorte transversal pelo método ELISA indireto para anticorpos anti-*Leishmania* voltado à identificação dos grupos soropositivos e soronegativos provenientes do município de Jequié (PARANHOS-SILVA et al., 1996). Os animais soropositivos foram submetidos à punção esplênica para realização do diagnóstico parasitológico e subdivididos em dois novos grupos: animais parasitologicamente positivos e negativos em cultura. Os animais de cada grupo foram avaliados e os achados clínicos catalogados em fichas clínicas individuais. De acordo com as normas da Vigilância Sanitária do município, os cães soropositivos foram sacrificados e os soronegativos mantidos em domicílios e acompanhados por um período de um ano, sendo realizada posteriormente uma nova triagem sorológica e parasitológica. Todos os procedimentos descritos, envolvendo animais, estão de acordo com as normas definidas pelo comitê de Ética em Experimentação Animal da Fundação Oswaldo Cruz, Bahia, Brasil.

Todos os cães foram examinados para verificação e catalogação quantitativa e qualitativa de alterações clínicas. Alterações cutâneas, na cor e integridade das mucosas, crescimento anormal das unhas, alterações oculares e palpebrais, presença de secreções anormais, perda de peso, alterações comportamentais e do estado geral, alteração no tamanho dos

linfonodos e do baço, além de histórico e evidências clínicas de outras infecções foram detalhadamente pesquisados. Amostras de sangue com EDTA foram obtidas para realização de hemograma de todos os animais estudados por punção na veia cefálica (5,0 mL de cada animal). Amostras foram também coletadas sem anti-coagulante para separação de soro para teste sorológico.

O sorodiagnóstico da infecção para pesquisa de anticorpos anti-*Leishmania* por meio de ELISA indireto, utilizando-se antígenos solúveis de *L. chagasi*, em método descrito previamente (Paranhos-Silva et al., 1996) foi realizado no Laboratório de Infectologia Veterinária (LIVE – Escola de Medicina Veterinária – UFBA). Para obtenção do antígeno, foi utilizado um cultivo obtido a partir de isolado local de *Leishmania*, caracterizado como *L. chagasi* por técnica de identificação isoenzimática e comparação com uma cepa de referência (LTCC - *Leishmania* Typing Culture Collection - WDCM731). O antígeno se consistiu na fração solúvel (sobrenadante resultante de centrifugação a 10.000 g durante 30 minutos) de um lisado total de formas promastigotas do parasito. Todos os testes foram feitos em triplicata e os valores médios de densidade óptica (DO) acima do ponto de corte foram considerados resultados positivos. A determinação dos valores de DO para ponto de corte foi feita utilizando-se a curva ROC (Receiver Operating Characteristics), desenhada com os valores de absorvância obtidos com os soros de 30 cães comprovadamente positivos para infecção por *L. chagasi*, em testes sorológico e parasitológico, e de 71 cães sadios, não infectados provenientes de áreas não-endêmicas segundo Griner et al.(1981).

Os animais foram tranqüilizados por meio de uma injeção intravenosa com 0,5 mg/kg de acepromazina e posicionados em decúbito lateral direito. A epilação foi realizada no local da punção e a anti-sepsia com solução a 0,5 % álcool-iodado. A

punção esplênica foi realizada no flanco esquerdo dos animais, um pouco abaixo da última costela, utilizando-se agulha 40 x 12 mm e seringa de 10 mL (Barrouin-Melo et al., 2006). As amostras (100 a 200 µL) foram colocadas, em cultivo, em um meio bifásico contendo 1,5 mL de meio sólido (ágar-sangue) acrescido com 2 mL de meio Schneider's (Sigma, USA) e suplementado com 20 % de soro bovino fetal (Sigma, USA). As amostras foram mantidas em cultivo a 23°C e examinadas semanalmente sob microscopia óptica durante um mês.

Foi analisada a correlação entre os sinais clínicos apresentados e a técnica ELISA e cultura de parasitos, sendo os dados obtidos avaliados estatisticamente pelo método Qui-quadrado, através do programa SPSS (versão 10), considerando-se um intervalo de confiança de 95% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 61 cães identificados como soropositivos pelo teste ELISA, indireto para anticorpos anti-*Leishmania*, foram examinados clínica e parasitologicamente, sendo 24 cães selecionados no primeiro inquérito sorológico e 37 no segundo. O teste ELISA indireto identificou cães que apresentaram resposta humoral específica contra os antígenos de *Leishmania* presentes na fração solúvel, estando de acordo com a prevalência estimada de 23,5% para a área estudada, como citado anteriormente por Paranhos-Silva et al. (1996).

Os exames parasitológicos por cultivo de aspirados esplênicos dos animais soropositivos identificaram parasitos em 13 cães (13/61, 21,3%). Observou-se uma correlação significativa entre os resultados

positivos de cultura esplênica e a densidade óptica obtida no ELISA dos cães estudados ( $r=0,8555$ ;  $p=0,00327$ ).

Os animais foram divididos em dois grupos, de acordo com os resultados do teste sorológico e parasitológico em: grupo 1 (13 cães ELISA positivo e parasitológico positivo) e grupo 2 (48 cães ELISA positivo e parasitológico negativo).

Todos os animais estudados foram classificados como sintomáticos por meio da avaliação clínico-patológica para estabelecimento dos padrões de resposta orgânica à infecção e alterações clínicas. Os animais estudados apresentaram condições clínicas que variaram de oligossintomático (39/61, 65% cães - aqueles com três sinais clínicos no máximo, incluindo pêlos opacos e/ou alopecia localizada e/ou perda de peso moderada) a polissintomáticos (21/61, 35% cães - aqueles com sinais clínicos característicos da leishmaniose visceral, tais como pêlos opacos, perda de peso severa, onicogribose, lesões cutâneas, apatia e ceratoconjuntivite).

O conjunto de sinais clínicos encontrados mostrou-se equivalente aos sinais descritos na literatura relativa a cães infectados por *L. infantum* e *L. donovani* em países do velho mundo. A distribuição de cães com parasitismo comprovado entre os grupos de cães soropositivos com diferentes condições clínicas está demonstrada na Tabela 1.

Os principais sinais clínicos observados nos animais com positividade aos resultados de ELISA foram alterações cutâneas ( $p=0,0402$ ), conjuntivite ( $p=0,050$ ), esplenomegalia ( $p=0,0272$ ) e dificuldade locomoção ( $p=0,0256$ ). Observou-se também uma tendência à redução no número de hemácias nos animais.

Tabela 1. Achados clínicos observados em animais soropositivos para anticorpos anti-*L. chagasi* em relação a positividade no teste parasitológico

Sinais clínicos observados	Grupo 1 (13 cães) ELISA	Grupo 2 (48 cães) ELISA
	positivo /Cultura positiva	positivo/Cultura negativa
% Animais		
Emaciação	61,6	27,1
Febre	69,2	39,6
Apatia	46,2	16,7
Anemia	46,2	20,8
Linfoadenomegalia	38,5	62,5
Esplenomegalia	23,1	14,6
Alterações Cutâneas	100,0	100,0
Alterações Oculares	53,9	41,7
Alterações Locomotoras	23,1	8,3
Alterações Neurológicas	30,8	8,3
Alterações Digestivas	38,5	45,8

Nos animais positivos para o exame parasitológico, constatou-se a ocorrência dos seguintes sinais clínicos: alterações de mucosas (anemia) ( $p=0,0106$ ), apatia ( $p=0,0469$ ) e aumento de bastonetes ( $p=0,0224$ ). Com base nos resultados de hemograma, foi observada uma correlação entre leucocitose ( $r=0,4873$ ,  $p < 0,0362$ ) e os achados de cultura positiva.

Nos animais com sorologia e parasitologia positivas, observaram-se anemia (46,2% dos animais), linfoadenomegalia (38,5%), esplenomegalia (23,1%), alterações oculares (caracterizadas por conjuntivite, ceratite, ceratoconjuntivite seca, blefarite e uveíte em 53,9%), alterações locomotoras (23,1%) e alterações cutâneas (100%) (Tabela 1). A presença de uma ou mais alterações cutâneas caracterizadas por alopecia, despigmentação, descamação, lesões ulcerativas, formação de nódulos ou pústulas particularmente no focinho e lábios foram observadas em todos os animais dos dois grupos estudados.

Um percentual de 30,8% dos cães apresentou onicogrifose, no presente estudo. A maioria dos animais (50,1%) que apresentaram crescimento exagerado das unhas demonstraram também emaciação, apatia e problemas locomotores. O crescimento anormal das unhas é explicado

pelo estímulo da matriz ungueal pelo parasito, ou pela apatia do cão, que leva a uma diminuição do desgaste natural das unhas (SILVA et al., 2001).

De fato, o perfil dos cães examinados no presente estudo caracteriza uma população de área endêmica para leishmaniose visceral canina. Os achados clínicos obtidos assemelham-se aos achados reportados por outros autores em outras áreas endêmicas (ABRANCHES et al., 1991; BLAVIER et al., 2001; FRANÇA-SILVA et al., 2003; BORJA-CABRERA et al., 2004). A maior parte dos animais infectados apresentou sinais clínicos cutâneos, em mucosas, oculares e perioculares, assim como evidências de anemia que os animais soropositivos sem achados positivos em cultivos.

Alguns sinais clínicos observados como problemas locomotores caracterizados por dificuldade de locomoção, claudicação, atrofia muscular e intolerância ao exercício, assim como as alterações oculares, conjuntivite, edema de córnea e opacidade da córnea, além das alterações cutâneas foram comuns nos animais examinados no presente estudo, descritos também por outros autores (KONTOS e KOUTINAS, 1993; LOPEZ et al., 1993).

No presente estudo, os linfonodos mais comumente afetados foram os poplíteos e mandibulares. Outros autores citaram predominância de linfadenomegalia pré-escapular (GÓMEZ NIETO et al., 1992). Provavelmente esses sinais decorrem de um maior número de lesões cutâneas na região cranial dos animais.

Palidez de mucosas e redução nas contagens de eritrócitos no hemograma, consistentemente encontrados nos animais infectados no nosso estudo podem refletir o comprometimento da capacidade de reposição celular da medula óssea, já demonstrada na infecção canina por *Leishmania* pela maioria dos autores (KONTOS e KOUTINAS, 1993; LOPEZ et al., 1993; FONT, 1996). Achados hematológicos quantitativos, obtidos pelo hemograma fornecem subsídios importantes quanto à resposta orgânica do cão portador de leishmaniose (IKEDA et al., 2003).

Um problema significativo para o diagnóstico clínico de leishmaniose canina é o fato de que alguns sinais clínicos podem surgir em inúmeras outras doenças infecciosas e em casos de desordens linfoproliferativas. Clinicamente a leishmaniose canina se confunde com distúrbios auto-imunes sistêmicos e dermatológicos (lúpus eritematoso sistêmico) e com doenças como a cinomose, babesiose, hepatozoonose, dirofilariose, trichuriase e ancilostomoses (KONTOS & KOUTINAS, 1993), leptospirose e brucelose (LOPEZ et al., 1993) e erlichiose (FONT, 1996). Existem relatos de casos demonstrando o envolvimento da leishmania em quadros patológicos como poliartrite (SPRENG, 1993; WOLSCHRIJN et al., 1996), trombose vascular da aorta, artérias ilíacas, veia cava e veias femurais (FONT et al., 1993), pênfigo foliáceo (GINEL et al., 1993), coagulação intravascular disseminada (FONT et al., 1994), colite crônica (FERRER et al., 1991), hemangiosarcoma (MARGARITO et al.,

1994) e pneumonite intersticial (DUARTE et al., 1986).

Na literatura, as alterações clínicas mais comuns são: a diminuição da atividade física, lesões de pele, perda de peso progressiva apesar de apetite normal, sinais de falha renal, epistaxe intermitente ou severa, lesões oculares e distúrbios locomotores (SLAPPENDEL e GREENE, 1990; ABRANCHES et al., 1991; KONTOS e KOUTINAS, 1993). Entretanto, nossos resultados indicam a ausência de sinais clínicos característicos para a leishmaniose canina que possam ser usados como um marcador clínico específico para infecção, útil na elaboração do diagnóstico clínico. A enorme variedade de sinais clínicos não específicos torna as técnicas laboratoriais indispensáveis para a obtenção de um diagnóstico preciso. Os sinais clínicos podem ser influenciados por inúmeros fatores tais como, raça dos animais, estado nutricional e doenças concomitantes que podem afetar o curso da infecção nos animais (SOLANO-GALLEGO et al., 2000; MORENO & ALVAR et al 1997).

Os resultados de soropositividade sem confirmação parasitológica em animais sintomáticos no presente estudo são equivalentes aos achados de outras áreas geográficas (DYE et al., 1993; PINELLI, et al., 1994; INIESTA et al, 2002; REITHINGER et al., 2003 e RIERAA et al, 2004). De fato os testes sorológicos utilizados para diagnóstico da infecção podem apresentar tanto resultados falso-positivos, como em cães saudáveis que entraram em contato com o parasito quanto falso-negativos, como em cães afetados que não produziram anticorpos (BONATES, 2003). Reações cruzadas podem dever-se à existência de determinantes antigênicos e de proteínas comuns a parasitos como *Tripanossoma cruzi*, *Leishmania chagasi* e *Leishmania brasiliensis* (ALVES et al., 1998).

A partir de dados fornecidos pelo Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva (PIEJ), no município de

Jequié-BA, foi possível observar que as ocorrências do número de casos de leishmaniose caninas e humanas apresentaram oscilações durante o período de 1998 a 2005. Essas oscilações podem ser atribuídas a mudanças nos fatores ecológicos, como o desmatamento da cobertura vegetal original, interferência no equilíbrio ecológico causando deslocamento e/ou extinção da fauna pela destruição dos habitats naturais, as transformações do ambiente provocadas pelo processo migratório, à urbanização crescente e o esvaziamento rural. Além de mudanças nos fatores climáticos como, as secas periódicas e o efeito do El Niño, o qual comprovadamente tem efeito sobre o ciclo de incidência anual da LVC no Brasil, promovendo a redução da mesma. O El Niño provoca impactos sobre a dinâmica das populações humana, animal (canídeos, roedores, entre outros) e dos vetores. Para diminuir o impacto provocado medidas preventivas são tomadas, como melhoria da infra-estrutura, controle de doenças e de vetores, reduzindo dessa forma ainda mais o risco epidêmico (FRANKE et al., 2002). A disseminação e a manutenção da leishmaniose humana têm sido atribuídas ao reservatório canino, e o controle da LVC no Brasil enfatiza a eliminação de cães soropositivos. Segundo Ribeiro e Michalick (2001), em estudos controlados, a propagação da leishmaniose não foi significativamente afetada pela eliminação dos cães soropositivos, o que foi confirmado no nosso trabalho. Em outras áreas endêmicas do estado da Bahia, casos humanos de LV nunca foram observados em locais com alta soroprevalência canina (PARANHOS-SILVA et al., 1996). No Ceará, evidenciaram parasitismo na pele de 40% dos pacientes infectados, provando que o dermatotropismo ocorre em *L. chagasi* e pode ser freqüente na LV humana tropical, pois os parasitos na pele podem agir como fonte de infecção, permitindo a

transmissão de homem para homem (ALVES et al., 1998; SILVA et al., 2001). Vários estudos clínicos, descrevendo aspectos clínicos de cães portadores de infecção natural por leishmania foram produzidos na Europa, onde a *L. infantum* é o agente etiológico da doença (MATHIS & DEPLAZES, 1995; REALE et al., 1999). Há evidências de que *L. chagasi* e *L. infantum* sejam a mesma espécie de *Leishmania* (MAURICIO et al., 2001), provavelmente introduzida no Continente Americano durante a colonização por países da Europa. De fato, a maioria dos achados clínicos reportados em estudos clínicos realizados com cães em países da América se sobrepõem aos achados em estudos europeus. Entretanto, pode haver variações na patogenicidade de isolados de *Leishmania*, associados à LVC, em diferentes áreas geográficas, como sugerem alguns trabalhos, que demonstraram que potenciais de disseminação e lesão em diferentes áreas corporais podem ser devidos a diferentes zymodemas expressos por isolados de *L. infantum* (ALVAR et al., 1997; SULAHIAN et al., 1997). Da mesma forma, algumas diferenças foram verificadas na distribuição de parasitos em infecções por isolados variados de *L. chagasi* (NOYES et al., 1997).

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos ao suporte do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq); FAPESB ao Programa de Iniciação Científica (PIBIC)-UFBA; ao CPqGM - FIOCRUZ (Fundação Oswaldo Cruz) e a Eliane Góes Nascimento do Centro de Referência em Doenças Endêmicas Pirajá da Silva, CERDEPS / PIEJ, SESAB – Jequié-BA.

## REFERÊNCIAS

ABRANCHES, P.; SILVA-PEREIRA, M. C.; CONCEICAO-SILVA, F. M.;

SANTOS-GOMES, G. M.; JANZ, J. G.. Canine leishmaniasis: pathological and ecological factors influencing transmission of infection. **The Journal of Parasitology**, n.77, p.557-561, 1991.

ALVAR, J.; CANAVATE, C.; GUTIERREZ-SOLAR, B.; JIMENEZ, M.; LAGUNA, F.; LOPEZ-VELEZ, R.; MOLINA, R.; MORENO, J. Leishmania and human immunodeficiency virus coinfection: the first 10 years. **Clinical microbiology reviews**, n.10, p.298-319, 1997.

ALVES, A. L.; BEVILAQUA, C. M. L.; MORAES, N. B.; FRANCO, S. O. Levantamento epidemiológico da leishmaniose visceral em cães vadios da cidade de Fortaleza, Ceará. **Ciência Animal**, v.8, n.2, p.63-68, 1998.

AMUSATEGUI, I.; SAINZ, A.; TESOURO, M. A. Effects of antimonial therapy for canine leishmaniasis on antibody titer. **Annals of the New York Academy of Sciences**, n.29, p.44-46, 1998.

BADARÓ, R.; BENSON D.; EULALIO, M.C.; FREIRE, M.; CUNHA, S.; MARTINS NETTO, E. M.; PEDRAL-SAMPAIO, D.; MADUREIRA, C.; BURNS, J. M.; HOUGHTON, R. L.; DAVID, J. R.; REED, S. G. rK39: A cloned antigen of leishmania chagasi that predicts active visceral leishmaniasis. **The Journal of Infectious Diseases**, n.173, p.758-761, 1996.

BARROUIN-MELO, S. M.; LARANJEIRA, D. F.; ANDRADE FILHO, F. A.; TRIGO, J.; JULIAO, F. S.; FRANKE, C. R.; AGUIAR, P. H. P.; DOS-SANTOS, W. L. C.; PONTES-DE-CARVALHO, L. Can spleen aspirations be safely used for the parasitological diagnosis of canine visceral leishmaniasis? A study on asymptomatic and

polysymptomatic animals. **The Veterinary Journal**, n.171, p.331-339, 2006.

BLAVIER, A.; KEROACK, S.; DENEROLLE, P.; GOY-THOLLOT, I.; CHABANNE, L.; CADORE, J. L.; BOURDOISEAU, G. Atypical forms of canine leishmaniasis. **The Veterinary Journal**, n. 62, p.108-20, 2001.

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

BORJA-CABRERA, G. P.; MENDES A. C.; SOUZA, E. P.; OKADA L. Y. H.; TRIVELLATO F. A. A.; KAWASAKI, J. K.; COSTA, A. C.; REIS, A. B.; GENARO, O.; BATISTA, L. M.; PALATNIK, M.; PALATNIK-DE-SOUSA, C. B. Effective immunotherapy against canine visceral leishmaniasis with the FML-vaccine. **Vaccine**, n.2, p.2234-43, 2004.

BRASIL. Ministério da Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**, Brasília: Ministério da Saúde, 2003.

CIARAMELLA, P.; OLIVA, G.; LUNA, R. D.; GRADONI, L.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.; SCALONE, A.; PERSECHINO, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **The Veterinary record**, n.41, p.539-543, 1997.

COURTENAY, O.; SANTANA, E. W.; JOHNSON, P. J.; VASCONCELOS, I. A.; VASCONCELOS, A. W. Visceral leishmaniasis in the hoary zorro *Dusicyon vetulus*: a case of mistaken identity. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, n.90, p.498-502, 1996.

DEANE, L. M.; DEANE, M. P.; ALENCAR, J. E. Control of *Phlebotomus*

longipalpis by DDT house spraying  
endemic foci of kala-azar in Ceara.

**Revista brasileira de malariologia e  
doenças tropicais**, n.7, p.131-41, 1955.

DUARTE, M. I.; LAURENTI, M. D.;  
NUNES, V. L. B.; REGO JUNIOR, A. F.;  
OSHIRO, E. T.; CORBETT, C. E.

Interstitial pneumonitis in canine visceral  
leishmaniasis. **Revista do Instituto de  
Medicina Tropical de São Paulo**, v.28,  
n.6, p.431-436, 1986.

DYE, C., VIDOR, E.; DEREURE, J.  
Serological diagnosis of leishmaniasis: on  
detecting as well as disease. **Epidemiology  
and infection**, n.103, p.647-656, 1993.

FERRER, L.; AISA, M. J.; ROURA, X.;  
PORTUS, M. Serological diagnosis and  
treatment of canine leishmaniasis. **The  
Veterinary Record**, n.136, p.514-516,  
1995.

FERRER, L.; JUANOLA, B.; RAMOS, J.  
A.; RAMIS, A. Chronic colitis due to  
leishmania infection in two dogs.  
**Veterinary Pathology**, v.28, p.342-343,  
1991.

FONT, A. Consider leishmaniasis in  
diferential for monoclonal gammopathies  
in dogs. **Journal of the American  
Veterinary Medical Association**, n.208,  
p.184, 1996.

FONT, A.; GINES, C.; CLOSA, J. M.;  
MASCORT, J. Visceral leishmaniasis and  
disseminated intravascular coagulation in a  
dog. **Journal of the American Veterinary  
Medical Association**, v.204, n.7, p.1043-  
1044, 1994.

FONT, A.; CLOSA, J. M.; MOLINA, A.;  
MASCORT, J. Trombosis and nephrotic  
syndrome in a dog with visceral  
leishmaniasis. **The Journal of Small  
Animal practice**, v.34, p.446-470, 1993.

FRANÇA-SILVA, J. C.; COSTA, R. T.;  
SIQUEIRA, A. M.; MACHADO-  
COELHO, G. L.; COSTA, C. A.;  
MAYRINK, W. VIEIRA, E. P.; COSTA,  
J. S.; GENARO, O.; NASCIMENTO, E.  
Epidemiology of canine visceral  
leishmaniasis in the endemic area of  
Montes Claros Municipality, Minas Gerais  
State, Brazil. **Veterinary Parasitology**,  
n.13, p.161-73, 2003.

FRANKE, C. R.; ZILLER, M.;  
STAUBACH, C.; LATIF, M. Impacto of  
the El Niño/Southern Oscillation on  
Visceral Leishmaniasis, Brazil. **Emerging  
infectious diseases**, n.8, p.914-917, 2002.

GINEL, P. J.; MOZOS, E.; FERNANDEZ,  
A.; MARTINEZ, A.; MOLLEDA, J. M.  
Canine pemphigus foliaceus associated  
with leishmaniasis. **The Veterinary  
Record**, n.133, p.526-527, 1993.

GÓMEZ NIETO, C.; NAVARRETE, I.;  
HABELA, M. A. Phatological changes in  
Kidneys of dogs whit natural Leishmania  
infection. **Veterinary Parasitology**, n.5,  
p.33-47, 1992.

GRINER, P. F.; MAYEWSKI, R. J.;  
MUSHLIN, A. I. Selection and  
interpretation of diagnostic tests and  
procedures: principles and applications.  
**Annals of Internal Medicine**, n.94, p.557-  
92, 1981.

IKEDA, F. A.; CIARLINI, P. C.;  
FEITOSA, M. M. Perfil hematológico de  
cães naturalmente infectados por  
Leishmania chagasi no município de  
Araçatuba- SP: um estudo retrospectivo de  
191 casos. **Revista clinica veterinária**,  
n.8, p.42-48, 2003.

INIESTA, L.; FERNANDEZ-BARREDO,  
S.; BULLE, B.; GOMEZ, M. T.;  
PIARROUX, R.; GALLEGRO, M.;  
ALUNDA, J. M.; PORTUS, M. Diagnostic  
techniques to detect cryptic leishmaniasis  
in dogs. **Clinical and Diagnostic**

**Laboratory Immunology**, n.9, p.1137-1141, 2002.

KONTOS, V. J.; KOUTINAS, A. F. Old world canine leishmaniasis. **Continuing Education Articles**, n.15, p.949-959, 1993.

KOUTINAS, A. F.; KONTOS, V.; KALDRIMIDOU, H. Canine leishmaniasis- associated nephropathy: a clinical, clinicopathologic and pathologic study in 14 spontaneous cases with proteinuria. **European Journal of Companion Animal Practice**, n.5, p.31-38, 1995.

LOPEZ, M.; INGA, R.; CANGALAYA, M.; ECHEVARRIA, J.; LLANOS-CUENTAS, A.; ORREGO, C.; AREVALO, J. Diagnosis of leishmania using the polimerase chain reaction; a simplified procedure for field. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, n.49, p.348-356, 1993.

MARGARITO, J. M.; GINEL, P. J.; MOLLEDA, J. M.; MORENO, P.; NOVALES, M.; LOPEZ, R. Haemangiosarcoma associated with leishmaniasis in three dogs. **The Veterinary record**, n.134, p.66-67, 1994.

MARZOCHI, M. C.; COUTINHO, S. G.; SOUZA, W. J.; TOLEDO, L. M.; GRIMALDI JUNIOR, G.; MOMEN, H.; PACHECO, R. D. A. S.; SABROZA, P. C.; SOUZA, M. A.; RANGEL JUNIOR, F. B. Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro- Brasil. **Caderno de Saúde Pública**, n.1, p.432-446, 1985.

MATHIS, A.; DEPLAZES, P. PCR and in vitro cultivation for detection of Leishmania spp. in diagnostic samples from humans and dogs. **Journal of clinical microbiology**, n.33, p.1145-9, 1995.

MAURICIO, I. L.; GAUNT, M. W.; STOTHARD, J. R.; MILES, M. A. Genetic

typing and phylogeny of the Leishmania donovani complex by restriction analysis of PCR amplified gp63 intergenic regions. **Parasitology**, n.122, p.393-403, 2001.

MORENO, J.; ALVAR, J. Canine leishmaniasis: epidemiological risk and the experimental model. **Trends in Parasitology**, n.18, p.399-405, 2002.

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.

NOYES, H.; CHANCE, M.; PONCE, C.; PONCE, E.; MAINGON, R. Leishmania chagasi: genotypically similar parasites from Honduras cause both visceral and cutaneous leishmaniasis in humans. **Experimental Parasitology**, n.85, p.264-73, 1997.

PARANHOS-SILVA, M.; FREITAS, L. A.; SANTOS, W. C.; G. JUNIOR, G.; PONTES-DE-CARVALHO, L. C.; OLIVEIRA-DOS-SANTOS, A. J. A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to L. Chagasi. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, n.55, p.39-44, 1996.

PINELLI, E.; KILLICK-KENDRICK, R.; WAGENAAR, J.; BERNADINA, W.; REAL, G.; RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with Leishmania infantum. **Infection and Immunity**, n.62, p.229-35, 1994.

REALE, S.; MAXIA, L.; VITALE, F.; GLORIOSO, N. S.; CARACAPPA, S.; VESCO, G. Detection of Leishmania infantum in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. **Journal of Clinical Microbiology**, n.37, p.2931-5, 1999.

REITHINGER, R.; ESPINOZA, J. C.; COURTENAY, O.; DAVIES, C. R. Evaluation of PCR as a Diagnostic Mass-Screening Tool to Detect Leishmania (Viannia) spp. in Domestic Dogs (Canis Familiaris). **Journal of Clinical Microbiology**, p.1486–1493, 2003.

RIBEIRO, V. M.; MICHALICK, M. S. M.. Protocolos terapêuticos e controle da leishmaniose visceral canina. **Revista Nosso Clínico**, n.4, p.10-20, 2001.

RIERA, C.; FISA, R.; UDINA, M.; GALLEGO, M.; PORTUS, M.. Detection of Leishmania infantum cryptic infection in asymptomatic blood donors living in an endemic area (Eivissa, Balearic Islands, Spain) by different diagnostic methods. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, n.98, p.102-110, 2004.

SILVA, E. S.; ROSCOE, E. H.; ARRUDA, L. Q. Leishmaniose visceral canina: estudo clínico-epidemiológico e diagnóstico. **Revista Brasileira de Medicina Veterinária**, n.23, p.111-116, 2001.

SLAPPENDEL, R. J.; GREENE, C. E. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E.: **Infectious diseases of the dog and cat**, Philadelphia: WB Saunders, 1990. p.769-777, 1990.

SOLANO-GALLEGO, L.; LLULL, J.; RAMOS, G.; RIERA, C.; ARBOIX, M.; ALBEROLA, J.; FERRER, L. The Ibizaian hound presents a predominantly cellular immune response against natural Leishmania infection. **Veterinary parasitology**, n.90, p.37–45, 2000.

SPRENG, D. Leishmanial polyarthritis in two dogs. **The Journal of small animal practice**, n.4, p.559-563, 1993.

SULAHIAN, A.; GARIN, Y. J.; PRATLONG, F.; DEDET, J. P.; DEROUIN, F. Experimental pathogenicity

of viscerotropic and dermatropic isolates of Leishmania infantum from immunocompromised and immunocompetent patients in a murine model. **FEMS Immunology and medical Microbiology**, n.17, p.131-8, 1997.

WHO. World Health Organization: **Control of the Leishmaniasis**. Geneva:, World Health Organization, 1990.

WOLSCHRIJN, C. F.; MEYER, H. P.; HAZEWINKEL, H. A.; WOLVEKAMP, W. T. Destructive polyarthritis in a dog with leishmaniasis . **The Journal of small animal practice**, n.37, p.601-603, 1996.

Data de recebimento: 25/05/2007

Data de aprovação: 09/07/2007