

EXAMES PARASITOLÓGICOS E HISTOPATOLÓGICOS REALIZADOS EM BAÇO DE CÃES INFECTADOS COM LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA DE ILHA SOLTEIRA.

Karen Ingrid Tasca, Silvana de Cássia Paulan, Wilma Aparecida Starke Buzetti – Sub-área: Imunoparasitologia - Departamento de Biologia e Zootecnia - FEIS – UNESP – Campus de Ilha Solteira.

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) ou calazar, é uma doença crônica grave, potencialmente fatal para o homem, cuja letalidade pode alcançar 10% quando não se institui o tratamento adequado. No Brasil é causada pela espécie *Leishmania Chagasi* e a principal forma de transmissão do parasita para o homem e outros hospedeiros mamíferos, como raposas, marsupiais e cães, é através da picada de fêmeas de dípteros da família Psychodidae, sub-família Phebotominae (Gontijo&Melo2004), gênero *Lutzomia*, conhecidos popularmente como palha, birigui ou tatuquiras, sendo a espécie mais importante a *Lutzomia longipalpis*. Este mosquito tem hábitos peridomésticos e domésticos e picam à noite, principalmente durante o crepúsculo. (Alencar et. Al, 1991).

Pode ser considerada uma doença imunomediata pois dependendo da susceptibilidade do hospedeiro, após ser contaminado, há uma modificação do sistema imunológico deste e assim os sinais clínicos se tornam presentes (Ferrer, 1995; Noli,1999). Segundo Genaro (1993), as manifestações dermatológicas são bastante freqüentes e incluem uma descamação cutânea excessiva principalmente na região periocular e borda da pila, prurido, queda de pêlos e áreas de hiperqueratose e lignificação em áreas correspondentes a saliências ósseas. Devido à ampla variedade de sinais clínicos e sua pouca especificidade, associada a presença de animais assintomáticos, o diagnóstico só pode ser confirmado através de exames laboratoriais (Ferrer et. Al 1999).

Dessa forma, o presente trabalho teve como objetivo avaliar a Leishmaniose Visceral Canina em tecidos de baço de 34 cães autanaziados pelo Centro de Controle de Zoonoses de Ilha Solteira. De acordo com os sinais clínicos, os cães foram divididos em três grupos: Assintomáticos, Oligossintomáticos (até três sinais clínicos característicos) e Sintomáticos. Foram coletados tecidos de baço destes 34 cães, que foram fixados parte em solução de Bouin e parte em solução de Formalina neutra temperada a 10Y, dos quais foram montados blocos para cortes histológicos (espessura de 5µm) em parafina. Além disso, durante a coleta dos tecidos, parte foi utilizada para a realização da impressão do baço (“imprint”) corado com Giensa. Os exames parasitológicos foram realizados através da visualização direta das formas amastigotas no interior dos macrófagos sob microscopia óptica na objetiva de aumento de 100X, tanto no “imprint” como nos tecidos corados pela Hematoxilina/Eosina (H&E). A histopatologia das lesões observadas no baço também foram avaliadas.

Foram contadas e classificadas em graus parasitários as formas amastigotas observadas em lâminas de “imprint” e em cada lâmina determinou-se 200 campos do microscópio de luz branca sob a objetiva de imersão de 100X. Dessa forma, os animais que apresentaram amastigotas presentes em até 20 campos microscópicos (até 10%) foram registrados com uma + e considerados suspeitos, os que tiveram entre 20 e 100 campos positivos (11-50%) foram classificados com ++, ou seja, fracamente positivos. Os cães que possuíam de 100 a 160 (51-80%) foram marcados como +++ sendo mediantemente positivos e finalmente, os que apresentaram entre 160 a 200 campos (81-100%) forma receberam ++++ e avaliados como animais fortemente positivos. Os animais que não apresentaram amastigotas em nenhum dos campos microscópicos foram classificados como negativos. O exame histológico teve avaliação do grau parasitário semelhante ao que foi realizado pelo “imprint”, exceto em relação aos campos microscópicos que não foram contados, mas avaliados de acordo com a extensão das lesões e pela presença das células parasitadas pelo tecido examinado.

Sendo assim, pelos exames parasitológicos no grupo dos Assintomáticos (8 cães), um cão (12%) estava negativo e sete cães infectados com graus variando de + (75%) e ++++ (12%). Os Oligossintomáticos (17 cães) apresentaram um cão (6%) negativo e 16 cães infectados com graus variando de + (47%), ++ (23%), +++ (18%) e ++++ (6%). Os Sintomáticos (9 cães) não apresentaram cães negativos, e os demais estavam infectados com graus variando de ++ (33%), +++ (22%) e ++++ (44%).

Pela histopatologia, nos tecidos do grupo dos cães Assintomáticos, observou-se (62%) hemorragia, 4 (50%) hiperplasia da polpa branca, 3 (37%) com babésias em hemácias, 2 (25%) com alta concentração de plasmócitos, alta concentração de polimorfonucleares, corpúsculos linfogranulares, granulomas e células gigantes e 1 (12%) com alta concentração de macrófagos, eosinófilos, neutrófilos, depósitos castanho-amarelados (podendo ser hemácias com hemociderina), e linfócitos com núcleos picnóticos.

Nos Oligossintomáticos (até 3 sinais clínicos constatados), 9 (53%) tiveram hemorragia, 7 (41%) constatou-se alta concentração de macrófagos, 5 (29%) apresentaram hiperplasia da polpa branca, 4 (24%) com concentração de células gigantes e granulações 3 (18%) com alta concentração de polimorfonucleares, 2 (12%) possuíam babésia em hemácias, alta concentração de eosinófilos, partes necrosadas e depósitos castanho-amarelados (podendo ser hemácias com hemociderina), e 1 (6%) apresentou vasos dilatados, granulomas, e alta concentração de neutrófilos e linfoblastos, além de corpúsculos linfogranulares.

Nos Sintomáticos foi verificado 9 (100%) com hiperplasia da polpa branca, 6 (67%) apresentaram células-gigantes, 5 (56%) tinham hemorragia, 4 (44%) com presença de polimorfonucleares, 3 (33%) com alta concentração de macrófagos, 2 (22%) possuíam edemas e tecido fibrosado, 1 (11%) apresentou granulomas, granulações e alta concentração de linfoblastos.

Foram realizados também exames sorológicos de Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), em 13 cães, pelo Instituto Adolfo Lutz, através do Kit Bio-Manguinhos, e em 25 cães, pelo Laboratório de Imunologia da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias da UNESP – Campus de Jaboticabal, o qual realizou também os testes imunoenzimáticos diretos (ELISA). Esses exames mostraram que, 23,53% dos cães Oligossintomáticos, 37,5% dos cães Assintomáticos e 11,11% dos cães Sintomáticos, eram negativos. Pelo Kit Bio-Manguinhos, houve 6% de discordância no grupo dos animais Oligossintomáticos, pois um animal apresentou-se negativo para o exame parasitológico e positivo para a RIFI, vale ressaltar que este mesmo animal foi classificado como suspeito pelo “imprint”, já nos outros grupos não houve discordância entre os resultados.

Pelos testes feitos em Jaboticabal, a RIFI também mostrou não concordância em 6% dos casos, ou seja, um cão foi tido como negativo no exame histológico, suspeito pelo “imprint”, mas positivo com título 1/640 pelo sorológico. Teve discordância em 12% no grupos dos cães Sintomáticos, onde um animal apresentou grau fraco de parasitismo (++) e outro apresentou um grau forte (++++), sendo ambos negativos pela RIFI. O teste ELISA mostrou a mesma porcentagem de discordância que a RIFI, ou seja, um cão (6%) do grupo dos Oligossintomáticos foi avaliado como negativo no exame histológico e positivo com nível N=4 para o ELISA e dois cães (12%) do grupo dos Sintomáticos foram classificados com forte grau de parasitismo (++++), pelo histológico e ambos negativos para este exame sorológico.

Os testes parasitológicos foram mais demorados de serem realizados, porém, mostraram-se bastante específicos para os cães no grupo dos Sintomáticos e para alguns dos Oligossintomáticos, ou seja, quando os sinais clínicos e as amastigotas presentes nos “imprints” e nos tecidos eram bastante evidentes. Já para os animais do grupo dos Sintomáticos, a visualização dos parasitas era muito difícil. Os exames sorológicos, embora mais rápidos de serem realizados e mais sensíveis, o resultado mostrou-se, em alguns casos, discordantes do parasitológico. Desta forma conclui-se que outros métodos como os imunoistoquímicos e a PCR, por exemplo, além do desenvolvimento de novas técnicas para o diagnóstico da LVC, são de suma importância para a confirmação do diagnóstico definitivo, principalmente dos animais assintomáticos.

Referências Bibliográficas

- www.scielo.com.br
ALENCAR, J. E.; NEVES, J.; DIETZE, R. Leishmaniose visceral (Calazar). In: VERONESE, R. Doenças Infecciosas e Parasitárias. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 8.ed., p.706-717. 1991.

FERRER, L. Clinical aspects of canine leishmaniasis. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. Barcelona, Spain, 1999. P.6-10.

GENARO, O. Leishmaniose visceral canina experimental. Belo Horizonte, 1993. 202p. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais.

NOLI, C. Leishmaniosis canina. Waltham Focus. V.9, n.2, p.16-24, 1999.

Alves, W.A.; Bevilacqua, P.D. Reflexões sobre a qualidade do diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina em inquéritos epidemiológicos: o caso da epidemia de Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil, 1993-1997. Cad. Saúde Pública, Rio de Janeiro, 20(1):259-265, jan-fev, 2004.