SOUTHERN BRAZILIAN JOURNAL OF CHEMISTRY 2021 VIRTUAL CONFERENCE

SEROPREVALENCE AND CLINICAL MANIFESTATIONS OF DOMICILED DOGS (*CANIS LUPUS FAMILIARIS*) CLOSE TO A HUMAN CASE OF VISCERAL LEISHMANIASIS

FERREIRA, Lucas Leal ^{1*}; BELEGOTE, Amanda Alfeld ¹; SILVA, Laís Freire ¹; CABRAL, Steffany Souza ¹; DOS SANTOS Priscilla Nunes ¹

¹Universidade de Vassouras, Medicina Veterinária

* Correspondence author

e-mail: lucasferreira98@gmail.com

Received 02 February 2022; received in revised form 16 February 2022; accepted 24 February 2022

ABSTRACT

Canine visceral leishmaniasis (CVL) is a disease with a great impact on public health in Brazil due to its zoonotic potential. One of the biggest challenges in controlling the disease is the fact that its main reservoir in urban areas is the domestic dog, and thus, it is a source of infection that lives very close to the human being. This study aimed to determine the seroprevalence of *L. chagasi* and the symptoms of CVL present in dogs living near a human case confirmed by the Municipal Health Department of the municipality of Vassouras. Blood samples were collected from the cephalic vein of 14 resident dogs within a radius of 150 meters from a confirmed human case. This collected material was submitted to the DPP screening test, and the positive samples were submitted to the ELISA confirmatory test. Information was also obtained through questionnaires about the presence of the disease's clinical signs. Of the 14 animals tested in the DPP, only 4 were positive in the screening test, and all presented negative results in the ELISA confirmatory test. Of the 14 dogs, 4 had symptoms. Of these, 2 presented skin lesions, and 1 animal showed cough, while the last one exhibited vomiting. It is concluded that the DPP screening test for CVL is a practical and easy to handle method, although it requires attention due to the possibility of cross-reaction with other etiological agents in dogs. The human case is probably a result of a non-autochthonous infection. Therefore, asymptomatic dogs should be under disease surveillance since these hosts also act as a source of infection for vector insects.

Keywords: *Leishmania chagasi*. DPP. Seroprevalence.

1. INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral canina (LVC) é uma zoonose de grande importância na saúde pública. No Brasil, seu principal agente etiológico é o protozoário *Leishmania chagasi*, transmitido principalmente através da picada do flebotômio *Lutzomyia longipalpis* (Ministério da Saúde, 2014). Na área urbana, o cão doméstico (*Canis familiaris*) é o principal reservatório animal (Romero; Boelaert, 2010) e principal fonte de infecção por estar em contato direto com o ser humano, tornando-se assim, presente entre as seis endemias de prioridade mundial (Ministério da Saúde, 2014). Animais infectados podem ser classificados de acordo com os sinais clínicos, como: assintomáticos, oligossintomáticos e sintomáticos. Os sintomas da LVC são variados e inespecíficos, porém, os mais característicos

quando plenamente apresentados são: alterações cutâneas, onicogribose, emagrecimento, ceratoconjuntivite e paresia dos membros posteriores (Ministério da Saúde, 2014). Já foi demonstrado que cães infectados por *L. chagasi*, ainda que assintomáticos, são fontes de infecção para os flebotômios, tendo papel ativo no ciclo de *Leishmania* (Gontijo; Melo, 2004), ressaltando a importância da testagem e identificação destes animais infectados, para o controle da doença.

De acordo com o Ministério da Saúde (2011), o protocolo de testagem se dá pelo Teste rápido de triagem *Dual Path Platform* (TR-DPP®-Bio-Manguinhos) e o ELISA – (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*-Bio-Manguinhos) como teste confirmatório.

O objetivo do presente estudo, foi realizar uma avaliação da soroprevalência de *L. chagasi* e

avaliar a presença de sintomas de LVC em cães domiciliados em uma área de 150 metros a partir de um caso humano confirmado no município de Vassouras, Rio de Janeiro.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo ocorreu nos meses de outubro e novembro de 2021 no bairro Itakamosi, no município de Vassouras, RJ em conjunto com a Secretaria Municipal de Saúde. Devido à ocorrência de confirmação de um caso positivo para leishmaniose em um ser humano, foram realizadas coletas de sangue e testes sorológicos de 14 cães domiciliados em um raio de até 150 metros do caso humano notificado.

Para a coleta de sangue, foram utilizados escalpes 21G e 23G ou agulhas 25x7 mm, acoplados a seringas descartáveis de 5mL com prévia antisepsia, utilizando algodão embebido em álcool etílico 70% para acessar a veia cefálica. A partir do sangue coletado, uma pequena amostra foi utilizada no teste rápido de triagem *Dual Path Platform* (TR-DPP®-Bio-Manguinhos), enquanto o restante foi reservado em um tubo de coleta com ativador de coágulo para posterior centrifugação e obtenção de soro. Nos casos positivos para o teste rápido, as respectivas amostras de soro foram encaminhadas para a FIOCRUZ, onde foram submetidas ao teste sorológico confirmatório ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*-Bio-Manguinhos).

Foram coletadas informações dos animais testados a partir de questionários, a respeito da presença de manifestações clínicas. Utilizou-se a estatística descritiva básica, para a avaliação de resultados dos testes sorológicos e dos dados obtidos por meio dos questionários, determinando-se as frequências relativas e os percentuais de cada variável.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

No inquérito sorológico foram testados 14 animais, sendo que 28,50% (4/14) obtiveram resultado positivo (Figura 1), e 71,4% (10/14) dos animais apresentaram resultado negativo.

Figura 1. Resultado positivo, obtido através do teste rápido (DPP). A linha representada pela letra “C” indica o controle, e a linha representada pela letra “T”, a amostra teste (que ao aparecer representa um resultado positivo).

Os animais que apresentaram resultado positivo para a doença no teste de triagem (DPP) e foram submetidos ao teste confirmatório ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*-Bio-Manguinhos), apresentaram um resultado negativo para leishmaniose visceral canina em 100% (4/4) dos animais (Figura 2).

Figura 2. Resultados obtidos no teste rápido (DPP), e no teste sorológico confirmatório (ELISA).

Embora o teste DPP tenha vantagens como fácil manipulação, transporte, resultado rápido e uma pequena quantidade de amostra requerida, ele apresenta uma baixa especificidade em comparação aos testes sorológicos convencionais, ocorrendo reações cruzadas com agentes como *Babesia canis*, *Ehrlichia canis*, *Anaplasma spp.* e produzindo um resultado falso-positivo para LVC (Lima et al., 2010; Maia;

Campino, 2008). Considerando que todos os animais do presente estudo apresentaram resultados negativos no teste confirmatório, pode-se afirmar que todos os resultados positivos no DPP se configuravam como resultados falsos-positivos, possivelmente em decorrência de uma reação cruzada com hemoparasitos. Os resultados negativos encontrados em cães, apesar do caso humano positivo previamente notificado, indicam que a infecção no ser humano não foi autóctone, pois em regra geral os casos em cães são mais prevalentes e precedem a ocorrência de casos em humanos (Dantas-Torres, 2007).

Dos 14 animais testados, apenas 28,50% (4/14) apresentaram sintomas. Observou-se que 2 destes 4 animais, apresentaram lesões de pele. Também foi observado que outros 2 apresentaram sintomas inespecíficos, com a manifestação de tosse em um animal e vômito no outro. Um animal infectado pode manifestar sinais clínicos graves ou permanecer assintomático por muito tempo (Brandonisio *et al.*, 1992; Dantas-Torres *et al.* 2006; Lanotte *et al.*, 1979). A manifestação de sinais clínicos pode ser variada, dentre eles os mais comuns que correspondem a linfadenomegalia, alopecia, atrofia muscular, anorexia, alterações oftalmológicas e neurológicas (Contreras, *et al.*, 2019). Os sinais clínicos no cão são variáveis, dependendo do órgão que for atingido. Um dos principais sinais clínicos são apatia, anorexia, emagrecimento, lesões cutâneas (especialmente no focinho e nas orelhas), crescimento exacerbado das unhas (onicogrifose), linfadenomegalia e febre (Crivellenti, 2015). Outros sintomas e sinais são hepatite, epistaxe, anemia não-regenerativa, diarreia, hepatoesplenomegalia, problemas articulares, conjuntivite, lesões oculares e lesões dermatológicas (Dantas-Torres *et al.*, 2012; Feitosa *et al.*, 2000; Wilson *et al.*, 2012). Houve uma predominância de animais assintomáticos, representando 71% (10/14) dos animais avaliados. Embora neste estudo os animais fossem negativos, animais assintomáticos também representam potenciais reservatórios da doença (Michalsky *et al.*, 2007). Em áreas endêmicas a LVC gera problemas no âmbito de saúde pública, devido principalmente ao alto percentual (até 85%) de animais assintomáticos (Dantas, *et al.*, 2006). Os animais assintomáticos, assim como os sintomáticos, podem servir como reservatórios para a transmissão vetorial de *Leishmania* spp. para animais e humanos suscetíveis (Michalsky *et al.*, 2007; Molina *et al.*, 1994). Solano-Galego *et al.* (2009) observaram em seu estudo que 50% dos animais não

apresentavam sintomas clássicos ou comuns da doença e, portanto, é de suma importância instituir inquéritos sorológicos em animais que não tenham apresentado sintomas. Desta maneira, a identificação precoce dos reservatórios (cães) é crucial para qualquer estratégia de controle bem-sucedida da doença. (Otranto *et al.*, 2009).

4. CONCLUSÃO:

Conclui-se que, o teste de triagem DPP é uma ferramenta de estudo valiosa a campo devido a ser um teste prático, de fácil manuseio e exigir pouco material para manipulação. Apesar disto, há a possibilidade de reação cruzada com agentes etiológicos comumente encontrados em cães. Os resultados negativos em cães apontam para a possibilidade de a infecção humana não ser autóctone. A vigilância epidemiológica e os inquéritos sorológicos são muito importantes, haja vista que cães que habitam no domicílio e peridomicílio servem como reservatórios da doença e podem apresentar-se assintomáticos, contribuindo com a dispersão da doença e trazendo mais agravos e impactos à saúde pública.

5. AGRADECIMENTOS:

Agradecemos a Secretaria Municipal de Saúde do município de Vassouras pelo apoio logístico para a obtenção das informações.

6. REFERÊNCIAS:

1. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral, *Ministério da Saúde*, **2014**, 1ª Edição.
2. Romero, G. A. S., Boelaert, M. Control of Visceral Leishmaniasis in Latin America-A Systematic Review. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, **2010**, 4, e584.
3. Gontijo, C.M.F., Melo, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. *Revista brasileira de epidemiologia*, **2004**, 7, 338-349.
4. Lima, V.M.F., Fattori, K.R., Michelin, A.F., Net, L.S., Vasconcelos, R. Comparison between Elisa using total antigen and immunochromatography with antigen rk39 in the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Veterinary parasitology*,

- 2010**, 173, 330-333.
5. Contreras, I. K., Machado, M. A., Rocha, C.O.J.M., Oliveira, G. R., Carvalho, F.C.G. Sinais clínicos apresentados por cães positivos para leishmaniose visceral no município de Vassouras, Rio de Janeiro. *PUBVE*, **2019**, 13, 1982-1263.
 6. Dantas-Torres, F., Solano-Gallego, L., Baneth, G., Ribeiro, V. M., Paiva-Cavalcanti, M. & Otranto, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. *Trends in Parasitology*, **2012**, 28, 531-538.
 7. Dantas-Torres, F. & Brandão-Filho, S. P. Expansão geográfica da leishmaniose visceral no Estado de Pernambuco. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, **2006**, 39, 352-356.
 8. Feitosa, M. M., Ikeda, F. A., Luvizotto, M. C. R. & Pirre, S. H. V. Clinical aspects of dogs with visceral leishmaniasis from Araçatuba-São Paulo State (Brazil). *Clínica Veterinária*, **2000**, 5, 36-44.
 9. Wilson, T. M., Magalhães, L. F., Medeiros, A. A. & Furquim, M. E. C. Alterações macroscópicas em cães sororreagentes para *Leishmania chagasi* e sua correlação com teste parasitológico. *Veterinária Notícias Veterinary News*, **2012**, 18, 20-25.
 10. Solano-Gallego, L., Koutinas, A. Miro, G. Cardoso, L., Pennisi, M.G.; Ferrer, L.; Bourdeau, P., Oliva, G., Baneth, G. Directions for the diagnosis, clinical staging, treatment and prevention of canine leishmaniosis. *Veterinary parasitology*, **2009**, 65, 1-18.
 11. Brandonisio, O., G. Carelli, L. Ceci, B. Consenti, A. Fasanella e V. Puccini. Leishmaniose canina no promontório de Gargano (Apúlia, sul da Itália). *EUR. J. Epidemiol.* **1992**, 8, 273-276.
 12. Lanotte, G., JA Rioux, J. Periers e Y. Vollhardt. Ecologie des leishmanioses dans le sud de la France. 10. Les formes evolutives de la leishmaniose viscérale canine. *Ana Parasitol. Zumbir. Comum.* **1979**, 54, 277-295.
 13. Michalsky, EM, MF Rocha, AC da Rocha Lima, JC França-Silva, MQ Pires, FS Oliveira, RS Pacheco, SL dos Santos, RA Barata, AJ Romanha, CL Fortes-Dias e ES Dias. *Infecciosidade de soropositivos.* **2007**.
 14. Molina, R., C. Amela, J. Nieto, M. San-Andrés, F. González, JA Castillo, J. Lucientes e J. Alvar. Infecciosidade de cães naturalmente infectados com *Leishmania infantum* coloniz *Phlebotomus perniciosus*. *Trans. R. Soc. Tropa Med. Hyg.* **1994**, 88, 491-493.
 15. Otranto, D., Paradies, P., Caprariis de D., Stanneck, D., Testini, G., Grimm, F., Deplazes, P., Capelli, G. Toward diagnosing *Leishmania infantum* infection in asymptomatic dogs in an area where leishmaniasis is endemic. *Clinical and Vaccine Immunology*, **2009**, 16, 337-343.
 16. Crivellenti. L.Z, Crivellenti, S.B. Casos de Rotina em Medicina Veterinária de Pequenos Animais. São Paulo-SP: editora MedVet, **2015**, 2ª edi. 166-167.
 17. Dantas-Torres F. The role of dogs as reservoirs of *Leishmania* parasites, with emphasis on *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* and *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*. *Vet Parasitol.* **2007**, 149, 139-146.
 18. Ministério da Saúde, Departamento de Vigilância das doenças transmissíveis, Esclarecimento sobre substituição do protocolo de diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC), *Ministério da Saúde*, Brasília, **2011**.
 19. Maia, C; Campino, L. Methods for diagnosis of canine leishmaniasis and immune response to infection. *Veterinary parasitology*, **2008**, 158, 274-87.