

## LEISHMANIOSE VISCERAL (calazar). CINCO CASOS EM CÃES DE SANTA MARIA, RIO GRANDE DO SUL, BRASIL

### VISCERAL LEISHMANIASIS (kala-azar). FIVE CASES IN DOGS IN SANTA MARIA, RIO GRANDE DO SUL, SOUTH BRAZIL

#### - RELATO DE CASO -

Emersson Augusto Poci<sup>1</sup> Luciano Frozza<sup>1</sup> Selwyn Arlington Headley<sup>2</sup>  
Dominguita Lühers Graça<sup>3</sup>

#### RESUMO

*Leishmaniose visceral foi diagnosticada no exame pós-morte de cinco cães da região de Santa Maria, RS. Todos os animais mostraram sinais de doença crônica com icterícia, anorexia, vômito, febre intermitente e emaciação. Os achados macroscópicos à necropsia foram de gastrenterite hemorrágica, pneumonia intersticial e esplenomegalia. Histologicamente foram detectadas formas livres e intracelulares de *Leishmania* spp em macrófagos e células endoteliais em todos os tecidos investigados. Estudos epidemiológicos, realizados na região onde a maioria dos casos ocorreu, foram negativos para a detecção do agente e do vetor biológico.*

**Palavras-chave:** leishmaniose visceral, cães, *Leishmania* spp, calazar.

#### SUMMARY

*Five canine cases of visceral leishmaniasis were diagnosed. All five dogs presented with icterus, intermitent fever, vomition, anorexia and emaciation. The most prominent gross lesions were hemorrhagic gastroenteritis, interstitial pneumonia and splenomegaly. In tissue sections, free and intracellular forms of *Leishmania* spp were depicted in macrophages and endothelial cells of all organs scanned. Epidemiological survey to detect either the agent or the sandfly was negative.*

**Key words:** visceral leishmaniasis, kala-azar, dogs, *Leishmania* spp.

#### INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral é uma doença causada por um protozoário dimórfico Trypanosomatidae do complexo *Leishmania donovani*, que, nas formas amastigotas, parasita o sistema fagocítico-mononuclear de mamíferos, incluindo o homem (ANTOINE, 1995, MEREDITH *et al.*, 1995), e células APCs (apresentadoras de antígenos) potenciadas como células de Langerhans, dendríticas e granulócitos (ANTOINE, 1995). É uma zoonose transmitida por vetores artrópodes dos gêneros *Lutzomia* e *Phlebotomum* (GARDINER *et al.*, 1988). A doença, também conhecida como calazar, é transmitida pela picada do mosquito, sendo o cão o principal reservatório doméstico do protozoário, juntamente com roedores domésticos e canídeos silvestres. Outros meios de transmissão, como transfusão de sangue, não têm importância epidemiológica.

A enfermidade está confinada às áreas endêmicas que incluem regiões da Europa, países do Mediterrâneo, Oriente Médio, África, América Central e do Sul. No Brasil, são relatados casos, frequentemente, em cães e humanos no Sudeste

<sup>1</sup>Acadêmico de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM), Bolsista PIBIC.

<sup>2</sup>Mestrando do PPG em Medicina Veterinária, UFSM, Bolsista CAPES.

<sup>3</sup>Professora Titular de Patologia Animal do Departamento de Patologia, UFSM, 97105-900, Santa Maria, RS. Pesquisadora do CNPq. DLGRACA@lince.hcv.ufsm.br. Autor para correspondência.

(SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997, VARGAS, 1995). Nos últimos anos, a doença vem aumentando de prevalência em número de casos e dispersão geográfica (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997). Pode, ainda, ser encontrada em cães em todas as partes do mundo, desde que esses animais tenham transitado por áreas endêmicas.

A partir da ingestão da forma amastigota pelo mosquito, o protozoário prolifera por fissão binária no intestino do inseto e se transforma em flagelado-promastigote metacíclico, que é introduzido no hospedeiro pela picada (BINHAZIM, 1992). No hospedeiro, a forma promastigota é englobada por histiócitos: dentro destes, os protozoários perdem o flagelo e sofrem fissão binária, originando formas amastigotas nos fagolisossomos da célula hospedeira, onde alguns são liberados para infectar outras células; outros, juntamente com os histiócitos, são ingeridos por insetos através da picada (GARDINER, 1988).

A leishmaniose visceral começa como uma lesão de pele primária, não ulcerante, que pode não ser detectada. As lesões estabelecidas consistem de áreas alopecicas com descamação, principalmente sobre articulações e dobras da pele. Nos casos em que há ulcerações, elas são vistas na pele do focinho, orelhas e mucosas oral e nasal. Após um período de incubação, que varia de 3 a 5 meses em média, como relatado por MICHALIK & RIBEIRO (1997 - Informação pessoal), os parasitas podem ser encontrados no fígado, baço, medula óssea e linfonodos, onde os macrófagos abrigam grandes números de formas amastigotas, resultando no alargamento e mal funcionamento dos órgãos o que, geralmente, deixa seqüelas. Os estágios iniciais da doença podem não ser reconhecidos em cães, mas casos avançados apresentam quase sempre alterações nos principais órgãos. Diferenças nos achados clínicos podem variar, dependendo da ocorrência geográfica e dos órgãos mais afetados. Normalmente, o cão é apresentado com sinais de doença crônica, com perda de peso, linfadenopatia e anemia; pode apresentar anorexia e letargia, mostrar epistaxe e dor ou fraqueza em um ou mais membros (CHAPMAN & HANSON, 1984).

HUSS & ETTINGER (1992) afirmam que 90% dos pacientes não tratados morrem como resultado de enfraquecimento progressivo, sendo a morte decorrente de transtornos hemorrágicos ou infecções secundárias. Existe um relato de taponamento cardíaco causado pela colonização do pericárdio em um cão com leishmaniose visceral, que manifestava sinais clínicos de doença crônica, com perda de apetite, dispnéia e dermatose alopecica (FONT *et al.*, 1993).

No homem, o período de incubação varia de 2 a 6 meses, mas pode chegar a vários anos. A doença pode permanecer oculta por longos períodos até que ocorra imunossupressão (endógena ou exógena), o que resulta na multiplicação e ampla disseminação do parasita (SWENSON *et al.*, 1988). Em alguns pacientes pode se observar uma lesão primária (leishmanioma), meses antes do aparecimento dos sinais clínicos. A doença apresenta curso crônico nas áreas endêmicas, mas pessoas provenientes de lugares indenes, que se infectam, podem manifestar uma instalação aguda. A febre é prolongada e irregular. Alguns pacientes apresentam tosse, diarreia e quadro de infecções recorrentes. A enfermidade se caracteriza por esplenomegalia e, posteriormente, hepatomegalia. Em algumas regiões, a linfadenopatia é comum (África, Mediterrâneo). Também são detectados anemia com leucopenia, edema, aumento de pigmentação da pele e emagrecimento. Petéquias e hemorragias de mucosas são freqüentes. Infecções secundárias são comuns. Em pacientes não tratados a mortalidade é bastante alta. A intensidade da sintomatologia varia de acordo com o grau de resistência do hospedeiro (ACHA & SZYFRES, 1986). Na atualidade, a infecção em humanos adquire nova dimensão como oportunista, devido à sua associação com infecção pelo HIV (DEDET *et al.*, 1995).

Na leishmaniose visceral, o melhor método diagnóstico é a identificação microscópica dos parasitas por aspirados de baço, medula óssea, linfonodos e esfregaços de sangue (MEREDITH *et al.*, 1995), ou sua detecção por PCR nos mesmos tecidos (LASKAY *et al.*, 1995; MEREDITH *et al.*, 1995). Nos cortes histológicos, as formas amastigotas são reconhecidas pela sua forma esférica a ovóide, medindo 2-5µm e contendo um núcleo arredondado, e um quinoplasto alongado (GARDINER *et al.*, 1988). Pode-se, também, utilizar cultivo em meios específicos (MEREDITH *et al.*, 1995). Existem várias provas sorológicas, como Imunofluorescência e ELISA (FERRER *et al.*, 1995; MEREDITH *et al.*, 1995). Os meios usados como diagnóstico para a leishmaniose humana podem ser empregados para o diagnóstico em animais.

Não há tratamento específico para a espécie canina e um número significativo dos animais tratados não respondem adequadamente ao tratamento. Por se tratar de doença com potencial zoonótico, a melhor política é o sacrifício dos animais doentes para evitar que veiculem a doença. Apesar disso, para cães tem sido sugerido o uso de antimônio de meglumina como droga de eleição (FONT *et al.*, 1993) ou ainda o estibogluconato de sódio (CHAPMAN & HANSON, 1984; SHERDING,

1994). Atualmente, é recomendado o uso de alopurinol oral (LESTER & KENYON, 1996). Existem várias considerações quanto ao tratamento dos cães. Uma delas é que as drogas são muito tóxicas, mas, mesmo assim, várias aplicações são necessárias. Os efeitos colaterais incluem cardiotoxicidade e nefrotoxicidade.

O tratamento utilizado em humanos são os antimoniais pentavalentes ou compostos de diamidina pentamidina (ACHA & SZYFRES, 1986) e estibogluconato de sódio (FAHAL *et al.*, 1995). No Brasil, os antimoniais pentavalentes (Glucantime e Pentostan) são distribuídos gratuitamente pelo Ministério da Saúde (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997).

Controle de vetores, através do uso de inseticidas com efeito residual nas casas e arredores, tem sido de valor na profilaxia da doença humana em regiões urbanas. Nas regiões onde a infecção é de origem zoonótica, uma medida importante é a eliminação de reservatórios domésticos e, se possível, silvestres. A proteção individual é obtida com o uso de repelentes nas partes expostas do corpo, principalmente ao entardecer (ACHA & SZYFRES, 1986).

## RELATO DOS CASOS

O primeiro diagnóstico de leishmaniose visceral canina, em Santa Maria, data de 1985. Houve mais casos esporádicos, a maioria na região de Itaara, na serra, ao norte da cidade de Santa Maria (FROZZA, *et al.*, 1994). Dados de identificação dos cães afetados e de necropsia são apresentados nas Tabelas 1 e 2. Os sinais clínicos mais marcantes foram icterícia, anorexia, vômito, emaciação, febre intermitente, linfadenopatia, esplenomegalia e hematúria.

Histologicamente, as lesões mais frequentes foram gastrerite hemorrágica aguda, pneumonia intersticial, miocardite não supurativa aguda, às vezes acompanhada de pericardite, nefrite intersticial linfoplasmocitária, num caso com ocorrência concomitante de pielonefrite e cistite crônicas. Foi observada hiperplasia linforreticular dos órgãos linfóides, que, muitas vezes, também mostraram áreas de hemorragia de extensão variável. Formas livres e intracelulares em macrófagos e células endoteliais de protozoário, morfologicamente compatível com *Leishmania donovani*, foram detectadas em todos os tecidos pesquisados (Figura 1). A confirmação do diagnóstico foi feita pelo Dr. J.P. Dubey do United States Department of Agriculture, USA,

Tabela 1 - Leishmaniose visceral em cães. Identificação dos animais, 1985/1997\*.

| Idade   | Sexo | Raça      | Procedência      | Protocolo |
|---------|------|-----------|------------------|-----------|
| 7 meses | masc | SRD       | Itaara           | Vn 105-85 |
| 10 anos | masc | Pointer   | Itaara           | Vn 76-90  |
| 1 ano   | fem  | Fila      | 1ºDist. J. Cast. | Vn 230-90 |
| 2 anos  | masc | Poodle    | Santa Maria      | Vn 291-91 |
| 9 meses | masc | Dobermann | Santa Maria      | Vn 220-93 |

Levantamento até 31/07/97. \*Fonte: Centro de diagnóstico veterinário (CDV), Universidade Federal de Santa Maria (UFSM).

Tabela 2 - Dados de necropsia dos cães com calazar, 1985/1997\*.

| Órgãos afetados | Vn 105-85 | Vn 76-90 | Vn 230-90 | Vn 291-91 | Vn 220-93 |
|-----------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|
| Encéfalo        | X         | X        | X         |           |           |
| Tonsilas        |           |          | X         |           |           |
| Traquéia        |           |          | X         |           |           |
| Coração         | X         | X        | X         |           | X         |
| Pulmão          |           | X        | X         | X         | X         |
| Fígado          | X         | X        | X         | X         | X         |
| Ves. biliar     |           | X        | X         | X         |           |
| Estômago        | X         |          | X         |           |           |
| Intestino       |           | X        | X         | X         |           |
| Rim             | X         | X        | X         | X         | X         |
| Baço            | X         | X        |           |           | X         |
| LN              | X         | X        | X         |           | X         |
| Med.óssea       | X         | X        | X         |           |           |

\*Fonte: CDV/UFSM.

através de técnicas imuno-histoquímicas. Estudos histoquímicos (metenamina-prata e tricrômico de Masson) em tecidos renais incluídos em parafina revelaram discreto espessamento das membranas glomerulares e tubulares (FROZZA *et al.*, 1995).

Levantamento epidemiológico, na região de Itaara, revelou a presença de mini-zoos. Animais silvestres e cães do maior dos mini-zoos foram amostrados (sangue, medula óssea e linfonodo poplíteo) para pesquisa do protozoário com resultados negativos. A procura do vetor flebótomo também teve resultados negativos.

## DISCUSSÃO

O diagnóstico de leishmaniose visceral na região sul do país é raro e sugere extensão a partir de focos endêmicos de outras regiões do país, de cães (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997) ou humanos (VARGAS, 1995). Os casos relatados foram

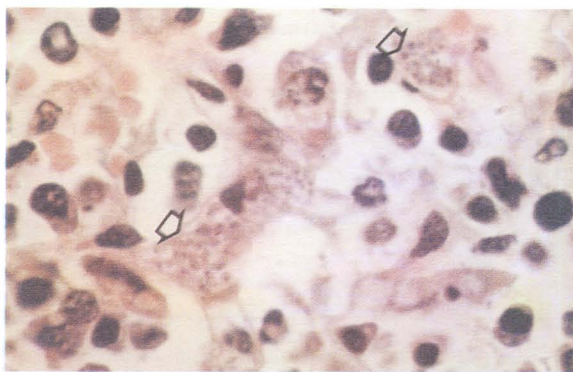


Figura 1 - Presença de formas amastigotas de *Leishmania donovani* intracelulares em macrófagos (setas). Linfonodo do cão Vn 105-85. H & E. 40X.

diagnosticados através de histopatologia e imunohistoquímica realizadas após necropsia dos animais no Centro de Diagnóstico Veterinário da Universidade Federal de Santa Maria. A detecção do parasita foi feita em células da linhagem macrófágica, embora ele também possa parasitar fibroblastos em lesões cutâneas (HERVÁS-RODRÍGUEZ *et al.*, 1996), que não ocorreram nos casos aqui relatados. A ocorrência de depósitos imunes em membranas glomerulares é sinal adicional sugestivo da doença (BENDERITTER *et al.*, 1988) e foram detectados nos animais positivos, através da metenemina-prata e do tricrômico de Masson.

O diagnóstico nas regiões endêmicas é feito por testes sorológicos. A experiência mostra, contudo, que muitos animais, apesar de infectados, permanecem soronegativos (FERRER *et al.*, 1995). Nos casos aqui descritos, o diagnóstico foi pós-morte e baseado nas lesões encontradas em muitos tecidos e órgãos. O diagnóstico clínico preconiza testes parasitológicos e imunológicos (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997), mas, nestes casos, não foram realizados por não ter sido suspeitada a doença, numa área, até então, indene.

Sabe-se que, embora existam medicamentos em uso para tratamento da doença em cães, a cura completa não é usual (FERRER *et al.*, 1995), motivo pelo qual, uma vez feito diagnóstico clínico, muitos autores recomendam a eutanásia dos animais. A medida, embora drástica, visa a evitar que tratamentos empíricos nos cães soropositivos possam selecionar cepas resistentes de *Leishmania* spp. (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997).

A ocorrência de casos esporádicos de leishmaniose visceral canina sugere a existência de reservatório do parasita e do vetor artrópode na região de Santa Maria, tanto na cidade quanto na serra, ao norte da mesma. A detecção do reservatório não foi possível, apesar das colheitas de sangue,

medula óssea e linfonodo poplíteo feitas de cães e animais silvestres na região da serra, onde três dos casos ocorreram (POCAI & GRAÇA, 1996). Embora o isolamento do patógeno seja difícil, recuperação de amastigotes de *Leishmania donovani* tem sido relatada de um caso humano e de macacos esquilos em Brasília (MARDSEN, 1994). Assim, a doença ocorre em áreas urbanas e áreas rurais. No surto relatado aqui, três dos cães eram provenientes da serra e dois do centro da cidade; diferente de casos relatados na Bahia, onde a leishmaniose visceral é doença eminentemente urbana (SANTOS *et al.*, 1993).

Tem sido observado que os casos caninos, geralmente, precedem os casos humanos, já que os cães são os principais reservatórios domésticos e fundamentais para a manutenção do ciclo da doença (SANTA ROSA & OLIVEIRA, 1997). Isso não significa que, obrigatoriamente, a doença em humanos e cães obedeça a uma distribuição espacial paralela (PARANHOS-SILVA *et al.*, 1996). Na região de Santa Maria não têm havido, até o momento, relatos de casos de leishmaniose visceral humana, fato que sugere interrupção do ciclo do parasita ou da doença em ponto crítico para sua sobrevivência/continuidade.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à FAPERGS e aos Técnicos Sérgio Perez da Silva e Sérgio Augusto Ribeiro do Setor de Patologia Veterinária do Departamento de Patologia da UFSM.

**Informe pessoal:** MICHALIK, M.S.M., RIBEIRO, V.M. Departamento de Parasitologia. ICB da UFMG.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ACHA, P.N., SZYFRES, B. **Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales**. 2 ed. Washington: OPS/WHO Publicación Científica n. 503. p. 615-634, 1986.
- ANTOINE J.C. Co-stimulatory activity of *Leishmania* infected macrophages. **Parasitology Today**. v. 11, n. 7, p. 242-243, 1995.
- BENDERITTER, T. H., CASANOVA, P., NASHKIDACHVILI, L. *et al.* Glomerulonephritis in dogs with canine leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine and Parasitology**, v. 82, n. 4, p. 335-341, 1988.
- BINHAZIM, A.A., CHAPMAN, Jr. W.L., LATIMER, K.S. *et al.* Canine leishmaniasis caused by *Leishmania leishmania infantum* in two labrador retrievers. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation** v. 4, p. 299-305, 1992.
- CHAPMAN, Jr. W.L., HANSON, W.L. Leishmaniasis. In: GREENE, C.E. **Clinical microbiology and infectious diseases of the dog and cat**. Philadelphia: Saunders, cap. 51, p. 764 - 770, 1984.
- DEDET, J.P., LAMBERT, M., PRATLONG, F. Leishmanioses et infection par le virus de l'immunodéficience humaine. **Presse Médicale**, v. 24, n. 22, p. 1036-1040, 1995.

- FAHAL, A.H., EL-HAG, I.A., EL HASSAN, A.M. *et al.* Leishmanial cholecystitis and colitis in a patient with visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 284, 1955.
- FERRER, L., AISA, M.J., ROMA, X. *et al.* Serological diagnosis and treatment of canine leishmaniasis. **Veterinary Record**, v. 136, p. 514-516, 1995.
- FONT, A., DURALL, N., DOMINGO, M., *et al.* Cardiac tamponade in a dog with visceral leishmaniasis. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 29, n. 2, p. 95-100, 1993.
- FROZZA, L., GRAÇA, D.L., IRIGOYEN, L.F. **Leishmaníase visceral (Kala-azar) em cães da região de Santa Maria**. In: JIPEE, I. Universidade Federal de Santa Maria, RS. 1994. **Anais...** p 367.
- FROZZA, L., POCAI, E.A., BRUM, F.C. *et al.* **Leishmaníase visceral canina em Santa Maria, RS**. In: JIPEE, 2. Universidade Federal de Santa Maria, RS. 1995. **Anais...** p.438.
- GARDINER, C.H., FAYER, R., DUBEY, J.P. **An atlas of protozoan parasites in animal tissues**. United States Department of Agriculture, 1988, 83 p.
- HERVÁS-RODRÍGUEZ, J., MOZOS, E., MÉNDEZ A. *et al.* Leishmania infection of canine skin fibroblasts in vivo. **Veterinary Pathology**, v. 33, n. 4, p. 469-473, 1996.
- HUSS, B.T., ETTINGER, S.J. Visceral Leishmaniasis, Rocky Mountain spotted fever, and von Willebrand's disease in a Giant Schnauzer. **Journal of the American Animal Hospital Association** v. 28, n. 3, p. 221-225, May/June 1992.
- LASKAY, T., MIKÓ, T.L., NEGESSE, Y. *et al.* Detection of cutaneous *Leishmania* infection in paraffin-embedded skin biopsies using the polymerase chain reaction. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 89, p. 273-275, 1995.
- LESTER, A.J., KENYON, J.E. Use of allopurinol to treat visceral leishmaniosis in a dog. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 209, n. 3, p. 615-617, 1996.
- MARDSEN, P.D. Endemic leishmaniasis in Brazil: Future implications. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, v. 89, n. 3, p. 425-426, 1994.
- MEREDITH, S.E.O., KROON, N.C.M. *et al.* **Leish-KIT**, a stable direct agglutination test based on freeze-dried antigen for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 33, n. 7, p. 1742-1745, 1995.
- PARANHOS-SILVA, M., FREITAS, L.A.R., SANTOS, J.C. *et al.* A cross-sectional serodiagnostic survey of canine leishmaniasis due to *Leishmania chagasi*. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 55, n. 1, p. 39-44, 1996.
- POCAI, E.A., GRAÇA, D.L. **Ocorrência de leishmaníase visceral (kala-azar) em cães da região de Santa Maria, Rio Grande do Sul**. In: JIPEE, 3. Santa Maria, RS. 8-9 de outubro de 1996. **Anais...** p. 717.
- SANTA ROSA, I.C.A., OLIVEIRA, I.C.S. Leishmaniose visceral: breve revisão sobre uma zoonose reemergente. **Clínica Veterinária**, v. 2, n. 11, p. 24-28, 1997.
- SANTOS, A.J.O. dos, NASCIMENTO, E.G., SILVA, M.P. *et al.* Report on a visceral and cutaneous leishmaniasis focus in the town of Jequié, state of Bahia, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical São Paulo**, v. 35, n. 6, p. 583-583, 1993.
- SHERDING, R.G. Toxoplasmosis, neosporosis and other multisystemic protozoal infections. In: BIRCHARD, S.J. e SHERDING, R.G. **Saunders manual of small animal practice**. Philadelphia: Saunders. Sec. 2. Cap. 13, p. 141-146, 1994.
- SWENSON, C.L., SILVERMAN, J., STROMBERG, P.C. Visceral leishmaniasis in an English Foxhound from an Ohio research colony. **Journal of the American Veterinary Medical Association**, v. 193, n. 9, p. 1089-1092, 1988.
- VARGAS, H. Leishmaniose. Casos em Campinas crescem mais de 100%. **Folha de São Paulo**, caderno 3, p. 2. 01/02/1995.