

Patologia e patogênese da leishmaniose visceral canina

Francinaldo S. Silva¹

Resumo

A leishmaniose visceral (LC) ou calazar é uma doença crônica e fatal. A transmissão do agente etiológico *Leishmania chagasi* ao homem, no Brasil, ocorre pela picada do inseto hematófago flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis*, abundantemente encontrado em diversas áreas onde se faz inquéritos entomológicos no Brasil. O cão exerce importância epidemiológica em áreas endêmicas devido ser o reservatório doméstico da leishmaniose visceral. A doença canina é clinicamente semelhante à infecção humana, diferindo no que concerne às lesões dérmicas, frequentemente encontradas nos animais infectados e sintomáticos. A infecção no cão resulta em sintomatologia variada e está associada a um aumento nos níveis de anticorpos específicos e ausência de resposta mediada por células. As leishmânias são intracelulares e, sem uma resposta imune eficiente, multiplicam-se e migram, a partir de órgãos linfóides, para outros órgãos, acarretando em um espectro de alterações clínicas e patológicas que pode causar a morte do animal. O diagnóstico clínico é complexo e deve ser feito em combinação com testes parasitológicos, sorológicos e moleculares. Esta revisão aborda os principais aspectos clínicos, patológicos e imunológicos da LVC contribuindo para o diagnóstico clínico e diferencial da doença.

Palavras Chave: leishmaniose visceral canina, calazar, infecção.

Pathology and pathogenesis of canine visceral leishmaniasis

Abstract

Visceral leishmaniasis, also known as kala-azar, is a chronic and fatal disease. The etiologic agent, *Leishmania chagasi*, is transmitted by the bite of the blood-sucking female sand fly *Lutzomyia longipalpis*, commonly found in Brazilian areas where entomological surveys are performed. The household dog is epidemiologically important in endemic areas due to its role as a domestic reservoir of the disease. The canine leishmaniasis is clinically alike to human infection, but with dermal lesions normally found in infected-symptomatic dogs. The infection in dogs carries a wide-ranging clinical signs related to high antileishmanial antibody levels and lack of a cell-mediated response. *Leishmania* are intracellular parasites and, under immunodeficiency conditions, they multiply and migrate from lymphoid tissue to other organs, displaying severe clinical and pathological changes which could lead to animal death. The clinical diagnosis is complex and must be performed combined to parasitological, immunological and molecular tests. This review depicts the main clinical, pathological and immunological aspects of the canine visceral leishmaniasis, contributing to the safe clinical and differential diagnosis of the disease.

Keywords: canine visceral leishmaniasis, kala-azar, infection.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral (LV) ou calazar é uma zoonose primariamente de canídeos silvestres e domésticos, causada por parasitas do gênero *Leishmania* (Rey, 2001; Dietze & Carvalho, 2003; Michalick & Genaro, 2005). A LV apresenta distribuição mundial, sendo causada por distintas espécies de *Leishmania* no Velho e no Novo Mundo. É uma doença infecciosa grave que acomete as vísceras e que pode ser fatal se não tratada, pois o hospedeiro falha em montar uma resposta protetora eficiente contra o parasita.

Os primeiros casos de leishmaniose visceral aconteceram na Índia no ano de 1885

e, somente alguns anos mais tarde, em 1903, é que o agente causador desta enfermidade foi descoberto e descrito por William Boog Leishman e Charles Donovan. William B. Leishman descreveu o parasita, mas associando-o às formas de *Trypanosoma* (Leishman, 1903). Charles Donovan encontrou o parasita em baço de uma criança hindu com febre irregular, mas o confundiu com outro protozoário, o *Trypanosoma brucei*. Após algumas descrições equivocadas, Ronald Ross criou o gênero *Leishmania* e batizou o agente causador do calazar de *Leishmania donovani*, em homenagem a William Boog Leishman e Charles Donovan (Pessoa & Martins, 1988;

Recebido e aceito

¹ Centro de Ciências Agrárias e Ambientais (CCAA/UFMA), BR 222, Km04, S/Nº, Boa Vista, CEP 65.500-000, Chapadinha - MA. E-mail: sandflybr@yahoo.com.br

Rey, 2001).

A possível participação dos cães no ciclo epidemiológico do calazar começou a ser aventada por Nicolle e Comte em 1908, na Tunísia, a partir da detecção, nos animais, do agente etiológico do calazar (Nicolle & Comte, 1908).

A primeira demonstração de infecção natural de hamsters por picada de flebotomíneo ocorreu em 1931, após observação de que a distribuição do vetor *Phlebotomus argentipes* era coincidente com a distribuição da doença (Adler, & Theodor, 1931).

O primeiro caso humano autóctone brasileiro foi descrito no Paraguai proveniente do estado do Mato Grosso (Migone, 1913). Penna em 1934 encontrou pela primeira vez o parasita em lâminas histológicas de fígado de pacientes com febre amarela oriundos da região norte e nordeste (Penna, 1934).

No Brasil, uma das primeiras observações da infecção canina por *Leishmania* foi realizada por Evandro Chagas quando demonstrou a existência da doença no homem e no cão e a infecção do flebotomo *Lutzomyia longipalpis*. O parasita foi classificado como *Leishmania chagasi* (Chagas, 1936; Chagas et al., 1938).

Em 1956, Deane incrimina o cão e a raposa como reservatórios naturais nas áreas de maior expressão da endemia, definindo a doença como uma zoonose (Deane, 1956). Em 1958, outros animais foram encontrados infectados com o parasita em florestas do sul do Brasil (Deane & Deane, 1962), dando início às primeiras campanhas governamentais sobre as áreas de ocorrência da doença e o controle da LV no Brasil.

Atualmente a leishmaniose visceral está presente em todos os continentes, com exceção à Antártida e a Oceania, sendo a estimativa global do número de casos humanos de LV ficando em torno de 500.000 por ano e de mortalidade é de 50.000 a 200.000 mortes anualmente, especialmente em épocas de epidemia (WHO, 1990). 90% dos casos estão restritos à Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil. O Brasil é responsável

por 90% dos casos de leishmaniose visceral nas Américas.

A doença começou a ter notificação obrigatória no Brasil em 1978 e, ultimamente, cerca de 70% dos estados da federação brasileira já registraram casos autóctones do calazar (FUNASA, 1999). A região Nordeste representa o principal foco da doença, com 90% dos casos, sendo os estados da Bahia, Piauí, Ceará e Maranhão, responsáveis por estes valores (FUNASA, 1999). Geralmente a LV está associada às áreas xéricas, semi-áridas, sendo originalmente uma doença típica de áreas rurais e periurbanas (Gontijo & Melo, 2004).

O que se observa normalmente é que a leishmaniose visceral canina (LVC) antecede a doença humana. Cães de áreas indenes podem apresentar aspecto clínico compatível com a LVC, sendo importante o diagnóstico seguro visto a expansão ininterrupta da doença. Nenhum teste de diagnóstico da LVC apresenta 100% de sensibilidade e de especificidade. Detectar o cão soropositivo, removê-lo e sacrificá-lo são medidas ainda duvidosas enquanto estratégia de controle.

O diagnóstico clínico da leishmaniose visceral canina é precário e complexo, pois os sinais clínicos da doença são variáveis e inespecíficos, comuns a outras enfermidades que acometem o cão. A imunossupressão causada por *Leishmania* pode gerar infecções oportunistas, dificultando do mesmo modo o diagnóstico da leishmaniose visceral. O presente artigo compreende uma breve revisão sobre os principais aspectos clínicos, imunológicos e patológicos da LVC, no intuito de reunir conhecimento sobre a sintomatologia do calazar no cão e contribuir com o diagnóstico clínico e diferencial da doença canina.

AGENTE ETIOLÓGICO E INSETOS VETORES

Os protozoários do gênero *Leishmania* pertencem à ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae, e possuem ciclo biológico heteroxênico, necessitando assim de dois hospedeiros, um vertebrado, representado por canídeos silvestres e domésticos, além de roedores e humanos, e

de um invertebrado, representado pelo inseto vetor (Schlein, 1993). *Leishmania donovani* e *L. infantum* são exemplos de espécies causadoras da LV na África, Europa e Ásia e *L. chagasi* é o agente etiológico encontrado nas Américas. A *L. donovani* é responsável pela infecção em humanos, enquanto que a *L. infantum* e *L. chagasi* causam LV tanto em humanos quanto em cães (Michalick & Genaro, 2005). *L. infantum* e *L. chagasi* são consideradas por muitos autores como espécies indistintas, baseado em análises bioquímicas e moleculares, mas ainda existem controvérsias quanto à origem de *L. chagasi* nas Américas e sua real classificação (Lainson & Rangel, 2005; Dantas-Torres, 2006). Aqui a espécie causadora da leishmaniose visceral no continente americano será tratada como *L. chagasi* (= *L. infantum*), acatando a maioria dos trabalhos concernente a este tema.

Estes parasitas são transmitidos aos animais e ao homem pela picada de insetos pertencentes à ordem Diptera e família Psychodidae, denominados flebótomos na linguagem vulgar (Lewis, 1971; 1974). Assim como existem diferentes espécies de *Leishmania* causadoras da LV distribuídas no globo, as espécies de psicodídeos também segregam papéis distintos de transmissão da LV em diferentes regiões geográficas. No Velho Mundo os transmissores da LV e LVC pertencem ao gênero *Phlebotomus* (*P. perniciosus*, *P. ariasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi*) e nas Américas Central e do Sul a espécie *Lutzomyia longipalpis* constitui o único vetor extremamente eficiente na transmissão da LV e da LVC (Gontijo & Melo, 2004; Rey, 2001; Michalick & Genaro, 2005).

As leishmânias são organismos pleomórficos, isto é, nos invertebrados encontram-se as formas paramastigotas e promastigotas, e nos vertebrados a forma aflagelar, denominada amastigota (Michalick & Genaro, 2005). São parasitas intracelulares obrigatórios, multiplicando-se nos fagócitos mononucleares do sistema mononuclear fagocítico. As leishmânias quando são inoculadas na pele do hospedeiro pelos flebótomos, invadem os macrófagos e neles

se multiplicam. Cerca de três horas pós inóculo, são observados vários neutrófilos e alguns macrófagos parasitados tanto por promastigotas quanto por amastigotas. Os leucócitos migram progressivamente da pele para outros locais do organismo e se encontram ausentes 24h depois (Santos-Gomes et al., 2000). Dependendo da resposta do hospedeiro, a *Leishmania* pode se disseminar nos macrófagos para outros órgãos, tais como baço, medula óssea, fígado, causando uma infecção crônica. Estudos com modelos murinos têm mostrado que a resposta mediada por células Th1 é responsável pela resolução da infecção e que a proliferação de células Th2 exacerba a infecção, caracterizando uma infecção com resposta polarizada (Rogers et al., 2002). A leishmaniose canina, assim, exhibe polarização, visto que cães com infecção crônica, tanto natural quanto experimental, podem apresentar sintomatologia específica, com doença progressiva e fatal (susceptíveis) ou serem assintomáticos, apresentando resistência à infecção (Pinelli et al., 1994).

O CÃO E SEU PAPEL COMO RESERVATÓRIO DOMÉSTICO DA INFECÇÃO

O cão doméstico (*Canis familiaris*) desempenha grande importância na epidemiologia da LV em áreas endêmicas, pois é o único reservatório doméstico da LV. Em áreas silvestres outros canídeos desempenham papel semelhante (*Cerdocyon thous* e *Lycalopex vetulus* (= *Dusicyon vetulus*), além de outros animais já encontrados albergando *L. chagasi*, como marsupiais didelfídeos (Corredor et al., 1989). Existem também relatos indicando roedores como reservatórios da LV em áreas rurais e periurbanas (Yaghoobi-Ershadi et al., 1996). Outros animais podem compor o cenário epidemiológico da LV em áreas endêmicas, pois, mesmo com a retirada de todos os cães soropositivos, o ciclo de transmissão da doença ainda pode existir, embora o número de casos humanos tenha diminuído (Ashford et al., 1998).

Em áreas endêmicas, os cães podem ser encontrados clinicamente assintomáticos, ou

sintomáticos, sendo estes parâmetros clínicos muito discutidos quanto à constituição dos animais como fonte de infecção para os flebotomíneos (Cabral et al., 1998; Molina et al., 1994; Guarga et al., 2000; Travi et al., 2001). Baseado em estudos com cães infectados com leishmânias e com sintomatologia variada (assintomáticos, oligosintomáticos e polisintomáticos), ficou demonstrado que cães assintomáticos podem representar fonte de infecção para os flebotomíneos (Molina et al., 1994; Guarga et al., 2000), embora as taxas de infecção sejam mais consistentes em cães infectados e sintomáticos (Travi et al., 2001). Cães assintomáticos e infectados naturalmente por *L. chagasi* podem apresentar acentuado parasitismo nos linfonodos comparados com animais oligo e sintomáticos (Lima et al., 2004). Por outro lado, cães com sintomatologia típica de calazar canino e com comprovada infecção por *L. chagasi* podem apresentar ausência de formas amastigotas na pele (Tafari et al., 2001), reduzindo sua participação como fonte de infecção para os insetos vetores.

O papel do cão como o mais importante reservatório da *L. chagasi* em áreas endêmicas tem sido contestado, atribuindo também ao homem a responsabilidade de ser um reservatório deste parasito no Brasil (Costa, 1997; Costa et al., 2000).

PATOLOGIA E PATOGÊNESE DA LVC

A infecção em cães por espécies de *Leishmania* é clinicamente semelhante à infecção humana, embora no cão, além do acometimento das vísceras, são freqüentemente encontradas lesões de pele nos animais infectados e sintomáticos (Krauspenhar et al., 2007). O período de 2 a 12 meses é necessário para que um cão infectado desenvolva sinais clínicos e o período de incubação, observado em condições experimentais, pode alcançar 25 meses (Oliveira et al., 1993). O quadro clínico é variável e depende da resposta imune do cão e da cepa do parasita inoculado pela picada do inseto vetor (Michalick & Genaro, 2005). Inicialmente surge febre intermitente, perda de peso e linfadenopatia

(Lima et al., 2004). Alguns cães curam espontaneamente enquanto que outros evoluem até a morte em poucas semanas (Michalick & Genaro 2005).

A LVC é uma doença crônica, fatal e sistêmica, sendo os principais sinais clínicos no cão representados pela caquexia, hipergamaglobulinemia, hepatoesplenomegalia, anemia e linfadenopatia (Ciaramella et al., 1997; Ferrer, 1999; Lima et al., 2004; Brito et al., 2004; Langoni et al., 2005; Linhares et al., 2005; Krauspenhar et al., 2007). Na pele são comuns úlceras crostosas na orelha, focinho e região periorbital, descamação furfurácea e alopecia multifocal. As preparações citológicas de pele de orelha podem demonstrar a presença de formas amastigotas de leishmânias (Ciaramella et al., 1997; Linhares et al., 2005; Krauspenhar et al., 2007).

A pele é um órgão importante na determinação do progresso da infecção por *Leishmania*. Fondevila et al. (1997), através da quantificação, por imunocitoquímica, das células de Langerhans, queratinócitos expressando MHC II⁺, macrófagos, células T e de parasitas, analisaram a resposta imune da pele de cães naturalmente infectados por *L. infantum*, e correlacionaram os resultados desta quantificação com diferentes aspectos dermatológicos encontrados (alopecia, descamação, lesões nodulares não ulceradas e dermatose ulcerativa). Na dermatite alopecica, a presença de células de Langerhans e de queratinócitos MHC II⁺ esteve associada com um infiltrado discreto de células T e um número significativo de parasitas. Na pele com lesões nodulares, onde foi detectada ausência de células apresentadoras de antígenos, houve um infiltrado significativo de parasitas e de macrófagos. A pele com lesões ulceradas mostrou padrões intermediários de inflamação. Neste contexto, a pele com alopecia se mostrou mais eficiente em processar e apresentar antígenos de *Leishmania* do que a pele com lesões nodulares generalizadas.

As lesões hepáticas caracterizam-se por inflamações granulomatosas, hiperplasia e

hipertrofia das células de Kupffer, que se encontram albergando parasitas (Tafuri et al., 1996; Oliveira et al., 1993; Xavier et al., 2006). Krauspenhar et al. (2007) observaram reação linfohistioplasmocitária marcante e imunomarcção positiva para *Leishmania*.

Nos órgãos linfóides ocorre a proliferação linfoplasmohistiocitária, resultando na linfadenomegalia generalizada (Krauspenhar et al., 2007). No baço ocorre reação inflamatória crônica e difusa, com macrófagos organizados em granulomas e repletos de amastigotas (Xavier et al., 2006). Os linfonodos podem conter lesões hipertróficas nas regiões corticais e medulares com amastigotas dentro de macrófagos medulares (Lima et al., 2004). Na medula óssea, como em outros órgãos linfóides, é característico a hipertrofia e a hiperplasia das células (Tafuri et al., 2001; Krauspenhar et al., 2007). A hipoplasia e aplasia medular podem resultar em anemia e trombocitopenia.

O coração pode apresentar miocardite multifocal com inflamação linfohistioplasmocitária acentuada, acompanhada por necrose e degeneração das fibras miocárdicas. A presença e envolvimento do parasita como sendo a causa de tais lesões foi evidenciada por técnicas de imunomarcção (Ferrari et al., 2006).

Nos rins, a deposição de imunocomplexos nos glomérulos pode acarretar em glomerulonefrite membranoproliferativa e nefrite intersticial com comprometimento da função renal (Lopez et al., 1996), muitas vezes sendo a principal causa da morte de cães com leishmaniose. A nefropatia pode ser causada pelo infiltrado de células T CD4⁺ detectadas na região glomerular e intersticial dos rins de cães naturalmente infectados com *L. chagasi* (Costa et al., 2000). A insuficiência renal pode estar presente em cães sem os sinais clínicos sistêmicos de leishmaniose (Ciaramella et al., 1997).

Lesões oculares como queratoconjuntivite, blefarite, inflamação mononuclear-plasmocitário do trato uveal e edema de córnea, formação de sinéquia, lesões em

corpo ciliar e íris podem estar associado a depósito de imunocomplexos nestas áreas, fato que pode ser corroborado pela presença de anticorpos específicos antileishmania em vários tecidos intra-oculares, podendo significar lesões de origem imunopatológica (Garcia-Alonso et al., 1996; Ciaramella et al., 1997; Ferrer, 1999; Brito et al., 2004).

No intestino é observada diarreia crônica e melena, devido às ulcerações na mucosa gástrica intestinal. Colite ulcerativa e erosiva também podem estar presentes (Ferrer, 1999). As inflamações do trato intestinal podem alcançar desde a mucosa até a muscular da submucosa (Luvizotto, 2006).

Na leishmaniose canina pode ocorrer acometimento de hemorragias devido a hiperglobulinemia (que interfere na formação da malha de fibrina), seqüestro esplênico de plaquetas, hipoplasia medular, vasculite por imunocomplexos, uremia (dificultando a atividade plaquetária) (Luvizotto, 2006) e epítaxe (provavelmente por lesões na cavidade nasal) (Ferrer, 1999).

Os estudos concernentes às alterações neurológicas associadas com LV em humanos podem ter os cães como bons modelos. Os cães doentes podem apresentar, além dos sintomas clássicos de LVC, alterações neurológicas tais como letargia, convulsões, mioclonias, nistagmo, tremores, paralisia de mandíbula, ptose labial, andar em círculos, tetraparesia e rigidez raquial e cervical. Os sintomas neurológicos na LVC estão associados à inflamação meningial crônica com infiltrado linfoplasmocitário (Viñuelas et al., 2001). Altos níveis de anticorpos antileishmania são encontrados no líquido cerebroespinal vindos, provavelmente, da circulação sanguínea através do rompimento da barreira hematocerebral ocasionado pelas leishmânias (Lima et al., 2003).

A LVC também pode manifestar lesões osteolíticas e osteoproliferativas de diáfises ósseas com sinais de atrofia muscular (Burraco et al., 1997; Souza, et al., 2005).

Os pulmões apresentam quadro de pneumonia intersticial crônica e difusa com infiltrado linfoplasmocitário (Luvizotto,

2006).

Embora a transmissão vertical da LVC não ocorra (Andrade et al., 2002), a possibilidade de transmissão venérea de leishmânias foi aventada através do achado de parasitas em órgãos genitais de cães sintomáticos e sorologicamente positivos. Nestes animais foram encontradas formas amastigotas em macrófagos associado com orquite intersticial linfoplasmocítica difusa e epididimite linfohistiocitária focal (Diniz et al., 2005). Foi observada degeneração testicular, sendo mais intensa nos túbulos seminíferos. A presença de macrófagos albergando leishmânias na mucosa uretral e prepúcio foi demonstrada por técnicas de imunohistoquímica (Diniz et al., 2005).

A desordem imunológica pode originar doenças oportunistas concomitantes à LVC como cistites, pneumonias bacterianas, piodermites, malasseziase, dermatofitoses, demodicose e ainda co-infecções com outros agentes, como *Babesia* e *Dirofilária* (Luvizotto, 2006).

RESPOSTA CELULAR E HUMORAL NA LVC

Geralmente o cão infectado e susceptível apresenta ausência de linfoproliferação, enquanto que os resistentes apresentam hipersensibilidade tardia (Deplazes et al., 1995; Martínez-Moreno, 1995). Em cães infectados natural e experimentalmente com *L. infantum*, nos ensaios de proliferação, as células do sangue periférico não respondem especificamente aos antígenos de *Leishmania*, mas o fazem frente a outros estímulos (Martínez-Moreno, 1995). A redução no número de células B CD21+ e de células T CD4+ em cães infectados pela *L. infantum* pode estar associada ao estabelecimento da doença canina, visto a ausência destas células nos cães sadios (Bourdoiseau et al., 1997). Alguns autores (Pinelli et al., 1994; Cabral et al., 1998; Leandro et al., 2001) verificaram que células mononucleares de sangue periférico de cães natural e experimentalmente infectados com amastigotas exibiram *in vitro* resposta proliferativa contra antígenos do parasita, demonstrando que pode haver uma resposta

celular específica nos cães infectados com *Leishmania*. Campino et al. (2000) observaram que somente os linfócitos de cães sintomáticos proliferaram frente antígenos específicos de *Leishmania*. Geralmente um percentual de cães assintomáticos evolui para cura espontânea, apresentando, resposta imune celular positiva (Michalick & Genaro, 2005).

Na LVC, os cães sintomáticos geralmente apresentam altos títulos de anticorpos antileishmania e os cães resistentes à infecção exibem baixos níveis ou ausência de destes anticorpos (Oliveira et al., 1993; Carrera et al., 1996; Martínez-Moreno et al., 1995; Deplazes et al., 1995; Boceta et al., 2000; Solano-Gallego et al., 2001). Muitos aspectos da patogênese da LVC, vistos anteriormente, são atribuídos aos anticorpos produzidos, os quais formam imunocomplexos que se depositam em diversos tecidos, gerando lesões inflamatórias. Em cães assintomáticos a cura espontânea pode ser seguida de sorologia negativa (Michalick & Genaro, 2005).

Na leishmaniose canina, tem se estudado o valor prognóstico das subclasses de IgG antileishmania, podendo isto caracterizar o padrão da resposta imune nos cães infectados. Geralmente os anticorpos IgG2 estão associados a uma infecção assintomática e os anticorpos IgG1 à doença (Deplazes et al., 1995). Segundo Boceta et al. (2000) a caracterização da resposta imune deve ser feita levando-se em consideração a razão IgG1:IgG2 e a natureza do antígeno utilizado para determinar os títulos destes anticorpos. Solano-Gallego et al. (2001) estudaram cinco grupos de cães, infectados ou não infectados, com ou sem sintomas e com ou sem tratamento, e verificaram que os cães infectados mostraram níveis de anticorpos mais elevados. Os níveis de IgG total correlacionaram com os de IgG2 mas não com IgG1. Houve correlação de IgG total e IgG2 com os casos sintomáticos, enquanto os valores de IgG1 foram variáveis. Após o tratamento os níveis de IgG total e IgG2 diminuíram lentamente e os de IgG1 muito rápido nos cães responsivos. Os resultados mostraram que os baixos níveis de

IgG1 é um bom indicador prognóstico, mas somente se detectado após o tratamento em cães com alta expressão desta imunoglobulina antes da quimioterapia.

PRODUÇÃO DE CITOCINAS NA LV

O padrão de resposta Th na LVC não está muito bem estabelecido. Em camundongos, a resolução da infecção por *L. major* geralmente está associada com a produção das citocinas IL-2, IL-12, IFN- γ , TNF, padrão Th1, enquanto que a infecção exacerbada está ligada à produção de IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, caracterizando uma resposta Th2 (Rogers et al., 2002). Na LVC, a produção de IL-10 e TGF- β está presente em todos os grupos estudados, nos animais assintomáticos e nos sintomáticos (Corrêa, et al., 2006). A citocina IL-6, um dos mais importantes mediadores da resposta aguda, é produzida em níveis mais expressivos em animais com leishmaniose em comparação a animais não infectados (Lima et al., 2006). Estes resultados indicam uma tendência à resposta do tipo Th2.

Na LVC as culturas de células mononucleares de sangue periférico de cães assintomáticos foram encontrados altos níveis de TNF, IL-2 e INF, em comparação com cães sintomáticos (Pinelli et al., 1994). Os INF têm como principal papel a eliminação de agentes intracelulares. A produção de INF- γ é detectada nos animais infectados, sendo mais expressiva em cães assintomáticos e polisintomáticos (Quinnell et al., 2001).

A expressão de IL-10 ocorre tanto em animais assintomáticos quanto nos animais sintomáticos (Dossi, 2006; Quinnell et al., 2001). Esta citocina pode promover o incremento de uma resposta Th2, bloqueando a proliferação de células Th1 (Varella & Forte, 2001).

A IL-4 induz a proliferação de linfócitos B, desenvolvendo a ativação da resposta tipo Th2 e estimulando a produção das imunoglobulinas IgE e IgG1 (Varella & Forte, 2001). Uma forte associação entre a detecção de IL-4 e um quadro clínico grave pode ser associada a esta citocina com a

progressão da LVC (Quinnell et al., 2001).

Os parâmetros imunológicos mostram que em cães a resistência à infecção está associada a baixos níveis de anticorpos específicos e desenvolvimento de imunidade celular, com a produção de IL-2, TNF α , e IFN- γ (Pinelli et al., 1994). A suscetibilidade está correlacionada com altos níveis de anticorpos e ausência de resposta mediada por células sem detectável resposta de Th2. A imunossupressão é uma consequência em parte da diminuição de células T CD4+. O grande número de parasitos observados nos órgãos linfáticos pode ser uma consequência das alterações imunológicas, permitindo a multiplicação e dispersão do parasito para outros sítios, incluindo estômago, intestino e pulmão.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A leishmaniose visceral é uma doença de grande importância epidemiológica devido à alta incidência, ampla distribuição e do surgimento de formas graves que conduzem ao óbito se não tratadas. A LV está se urbanizando e novas epidemias ocorrem mesmo com os avanços nas estratégias de controle. A doença humana acomete principalmente crianças com menos de 10 anos de idade e o cão doméstico é um elemento de extrema importância no ciclo epidemiológico da LV, pois age como hospedeiro do parasita, sendo, portanto, um dos alvos para as estratégias de controle. Ainda não existe um tratamento eficaz e nem profilático para o cão. A imunoprofilaxia parece ser uma nova estratégia de controle da LVC, restando conhecer mais sobre a resposta imunológica dos animais susceptíveis e resistentes à infecção.

Diagnosticar clinicamente a LVC é um problema para as autoridades de saúde, pois existe um amplo espectro de sinais e sintomas. Os animais podem se apresentar aparentemente sadios, com poucos sintomas ou até com sintomatologia grave da doença, com aspecto sistêmico crônico podendo levar o animal à morte. A doença pode estar clinicamente inaparente por anos, dependendo da fase da doença e do estado imunológico do animal. Nesta situação, o cão

pode se constituir fonte de infecção para os insetos vetores, pois mesmo aparentemente sadios podem conter formas do parasita sobretudo na pele, além do baço, fígado e linfonodos superficiais. O encontro de formas amastigotas de *Leishmania* na pele de animais assintomáticos mostra a importância destes animais na epidemiologia da doença.

Os estudos acerca dos aspectos clínicos e patológicos da leishmaniose visceral canina conduzem à inclusão desta enfermidade no diagnóstico diferencial de outras doenças infecciosas sistêmicas e de caráter crônico em cães. Além disto, o conhecimento sobre a sintomatologia da doença admite inegável importância de se obter um diagnóstico seguro quanto à positividade efetiva de cães em áreas endêmicas e não endêmicas de calazar.

REFERÊNCIAS

ADLER, S.; THEODOR, O. Investigations on Mediterranean kala-azar. II — *Leishmania infantum*. **Proceedings of royal Society of London**, 108: 453-502, 1931.

ANDRADE, H. M.; TOLEDO, V.P.C.P.; MARQUES, M.J.; SILVA, J. C. F.; TAFURI, W.L.; MAYRINK, W.; GENARO, O. *Leishmania (Leishmania) chagasi* is not vertically transmitted in dogs. **Veterinary Parasitology**, 103: 71-81, 2002.

ASHFORD, D.A.; DAVID, J.R.; FREIRE, M.; DAVID, R.; SHERLOCK, I.; EULÁLIO, M.C.; SAMPAIO, D.P.; BADARÓ, R. Studies on control of visceral leishmaniasis: impact of dogs control on canine and human visceral leishmaniasis in Jacobina, Bahia, Brazil. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 59: 53-57, 1998.

BOCETA, C.; ALONSO, C.; JIMENEZ-RUIZ, A. Leucine rich repeats are the main epitopes in *Leishmania infantum* PSA during canine and human visceral leishmaniasis. **Parasite Immunology**, 22: 55-62, 2000.

BOURDOISEAU, G.; BONNEFONT, C.; MAGNOL, J.P.; SAINT-ANDRÉ, I.; CHABANNE, L. Lymphocyte subset abnormalities in canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and**

Immunopathology, 56: 345-351, 1997.

BRITO, F.L.C.; ALVES, L.C.; ORTIZ, J.P.D.; MAIA, F.C.L.; SILVA JUNIOR, V.A.; LAUS, J.L. Uveitis associated to the infection by *Leishmania chagasi* in dog from Olinda city, Pernambuco, Brazil. **Ciencia Rural**, 34: 925-929, 2004.

BURRACO, P.; ABATE, O.; GUGLIELMINO, E. Osteomyelitis and arthrosynovitis Associated with *Leishmania donovani* infection in a dog. **Journal of Small Animal Practice**, 38: 29-30, 1997.

CABRAL, M.; GRADY, J.E.O.; GOMES, S.; SOUZA, J.C.; THOMPSON, H.; ALEXANDER, J. The immunology of canine leishmaniasis: strong evidence for a developing disease spectrum from asymptomatic dogs. **Veterinary Parasitology**, 76: 173-180, 1998.

CAMPINO, L.; SANTOS-GOMES, G.; CAPELA, M.J.R.; CORTES, S.; ABRANCHES, P. Infectivity of promastigotes and amastigotes of *Leishmania infantum* in a canine model for leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, 92: 269-275, 2000.

CARRERA, L.; FERMIN, M.L.; TESOURO, M.; GARCIA, P.; ROLLAN, E.; GONZALEZ, J.L.; MENDEZ, S.; CUQUERELLA, M.; ALUNDA, J.M. Antibody response in dogs experimentally infected with *Leishmania infantum*: infection course antigen markers. **Experimental Parasitology**, 82:139-46, 1996.

CHAGAS, E. Primeira verificação em indivíduo vivo da Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, 50: 221-222, 1936.

CHAGAS, E.; CUNHA, A.M.; FERREIRA, L.C.; DEANE, L.; DEANE, G.; GUIMARÃES, F.N.; PAUMGARTTEN, M.J.; SÁ, B. Leishmaniose visceral americana (relatório dos trabalhos realizados pela comissão encarregada do estudo da leishmaniose visceral americana em 1937). **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 33: 189-229, 1938.

CIARAMELLA, P.; OLIVA, G.; LUNA, R.; AMBROSIO, R.; CORTESE, L.;

- PERSECHINO, A.; GRADONI, L.; SCALONI, A. A retrospective clinical study of canine leishmaniasis in 150 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. **The Veterinary Record**, 141: 539-543, 1997.
- CORRÊA, A.P.F.L.; DOSSI, A.C.S.; VASCONCELOS, R.O.; LIMA, V.M.F. Avaliação de citocinas imunoregulatórias em cães naturalmente infectados com leishmaniose visceral. In: 1^o FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.64.
- CORREDOR, A.; GALLEGO, J.F.; TESH, R.B.; MORALES, A.; de CARRASQUILLA, C.F.; YOUNG, D.G.; KREUTZER, R.D.; BOSHELL, J.; PALAU, M.T.; CACERES, E.; PELAEZ, D. Epidemiology of visceral leishmaniasis in Colombia. **American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, 40: 480-486, 1989.
- COSTA, C.H.N. Are dogs important reservoirs of visceral leishmaniasis in Brazil? **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, 30: 155, 1997.
- COSTA, C.H.N.; GOMES, R.B.B.; SILVA, M.R.B.; GARCEZ, L.M.; RAMOS, P.K.S.; SANTOS, R.S.; SHAW, J.J.; DAVID, J.R.; MIGUIRE, J.H. Competence of the human host as a reservoir for *Leishmania chagasi*. **Journal of Infectious Disease**, 182: 997-1000, 2000.
- COSTA, F.A.L.; GUERRA, J.L.; SILVA, S.M.M.S.; KLEIN, R.P.; MENDONÇA, I.L.; GOTO, H. CD4+ cells participate in the nephropathy of canine visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, 33: 1455-1458, 2000.
- DANTAS-TORRES, F. *Leishmania infantum* versus *Leishmania chagasi*: do not forget the law of priority. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 101: 117-118, 2006.
- DEANE, L. M.; DEANE, M. P. Visceral Leishmaniasis in Brazil: geographical distribution and transmission. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 4: 198-212, 1962.
- DEANE, L.M. **Leishmaniose visceral no Brasil: estudos sobre reservatórios e transmissores realizados no Estado do Ceará**. 1956. 162p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- DESPLAZES, P.; SMITH, N.C.; ARNOLD, P.; LUTZ, H.; JECKER, J. Specific IgG1 and IgG2 antibody responses of dogs to *Leishmania infantum* and other parasites. **Parasite Immunology**, 17: 451-458, 1995.
- DIETZE, R.; CARVALHO, S.F.G. Leishmaniose visceral – calazar. In: CEMERMAN, S.; CIMERMAN, B. (Ed). **Medicina tropical**. Ed. Atheneu, São Paulo, 2003. p. 65-84.
- DINIZ, S.A.; MELO, M.S.; BORGES, A.M.; BUENO, R.; REIS, B.P.; TAFURI, W.L.; NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. **Veterinary pathology**, 42: 650-658, 2005.
- DOSSI, A.A.; CORRÊA, A.P.F.; VASCONCELOS, R.O.; LIMA, V.M.F. Avaliação de TGF, INF, IL-10 em cães machos e fêmeas e sua correlação clínica na leishmaniose visceral. In: 1^o FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.63.
- FERRARI, H.F.; RIBEIRO, D.; LUVIZOTTO, M.C.R. Miocardite Associada a *Leishmania* sp em cão - Relato de caso. In: 1^o FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.48.
- FERRER, L.M. Clinical aspects of canine leishmaniasis. From canine leishmaniasis update (Ed. R. Killick-Kendrick). **Proceedings of a canine leishmaniasis forum**, Barcelona, 28-31 January, pp 6-10, 1999.
- FONDEVILA, D.; VILAFRANCA, M.; FERRER, L. Epidermal immunocompetence in canine leishmaniasis. **Veterinary**

- Immunology and Immunopathology**, 56: 319-327, 1997.
- FUNASA. Boletim Epidemiológico. Evolução temporal das doenças de notificação compulsória no Brasil de 1980 a 1998. 1999.
- GARCIA-ALONSO, M.; BLANCO, A.; REINA, D.; SERRANO, F.J.; ALONSO, C.; NIETO, C.G. Immunopathology of the uveitis in canine leishmaniasis. **Parasite Immunology**, 18: 617-623, 1996.
- GONTIJO, C.M.F.; MELO, M.N. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista brasileira de epidemiologia**, 7: 338-349, 2004.
- GUARGA J.L.; LUCIENTES, J.; PERIBÁÑEZ, M.A.; MOLINA, R.; GRACIA, M.J.; CASTILLO, J.A. Experimental infection of *Phlebotomus perniciosus* and determination of the natural infection rates of *Leishmania* in dogs. **Acta Tropica**, 77: 203-207, 2000.
- KRAUSPENHAR, C.; BECK, C.; SPEROTTO, V.; SILVA, A.A.; BASTOS, R.; RODRIGUES, L. Leishmaniose visceral em um canino de Cruz Alta, Rio Grande do Sul, Brasil. **Ciência Rural**, 37, 2007.
- LAINSON, R.; RANGEL, E.F. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil – a review. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 100: 811-827, 2005.
- LANGONI, H.; LUCHEIS, S.B.; SILVA, R.C.; CASTRO, A.P.B.; PAES, A.C. American visceral leishmaniasis: a case report. **The Journal of Venomous animals and toxins including tropical diseases**, 11: 361-372, 2005.
- LEISHMAN, W.B. On the possibility of the occurs of trypanosomiasis in Índia. **British Medical Journal**, 1: 1252-1254, 1903.
- LEANDRO, C.; SANTOS-GOMES, G.M.; CAMPINO, L.; ROMÃO, P.; CORTES, S.; ROLÃO, N.; GOMES-PEREIRA, S.; CAPELA, M.J.R.; ABRANCHES, P. Cell mediated immunity and specific IgG1 and IgG2 antibodies response in natural and experimental canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 79: 273-284, 2001.
- LEWIS, D.J. Phlebotomid sandflies. **Bulletin of World Health Organization**, 44: 535-51, 1971.
- LEWIS, D.J. The biology of Phlebotomidae in relation to leishmaniasis. **Annual Review of Entomology**, 19: 363-84, 1974.
- LIMA, V.M.F.; GONÇALVES, M.E.; ILKEDA, F.A.; LUVIZOTTO, M.C.R.; FEITOSA, M.M. Anti-leishmania antibodies in cerebrospinal fluid from dogs with visceral leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, 36: 485-489, 2003.
- LIMA, V.M.F.; PEIRÓ, J.R. IL-6 é produzida em cães naturalmente infectados com *Leishmania chagasi*. In: 1º FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.61.
- LIMA, W.G.; MICHALICK, M.S.M.; MELO, M.N.; TAFURI, W.L.; TAFURI, W.L. Canine visceral leishmaniasis: a histopathological study of lymph nodes. **Acta tropica**, 92: 43-53, 2004.
- LINHARES, G.F.C.; CHAVES, N.S.T.; DUARTE, S.C.; FERNANDES, P.R.; AMARAL, A.V.C.; SOUZA, M.A. Relato de um caso clínico de leishmaniose visceral em um cão na cidade de Goiânia. **Revista de Patologia Tropical**, 34: 69-72, 2005.
- LUVIZOTTO, M.C.R. Alterações patológicas em animais naturalmente infectados. In: 1º FÓRUM SOBRE LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA, 2006, Jaboticabal. Anais do Fórum de Leishmaniose Visceral canina 2006. p.15-22.
- LOPEZ, R.; LUCENA, R.; NOVALES, M.; GINEL, P.J.; MARTIN, E.; MOLLEDA, M. Circulating immune complexes and renal function in canine leishmaniasis. **Journal**

- of Veterinary Medicine**, 43: 469-474, 1996.
- MARTÍNEZ-MORENO, A.; MORENO, T.; MARTÍNEZ-MORENO, F.J.; ACOSTA, I.; HERNÁNDEZ, S. Humoral and cell-mediated immunity in natural and experimental canine leishmaniasis. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, 48: 209-220, 1995.
- MICHALICK, M.S.M.; GENARO, O. Leishmaniose Visceral Americana. In: NEVES, D.P.; MELO, A.L.; LINARDI, P.M.; VITOR, R.W.A. (Ed) Parasitologia humana. 11^o ed., Ed. Atheneu, São Paulo, 2005. p. 56-72.
- MIGONE, L. E. Un caso de Kalazar en Assunción (Paraguay). **Bulletin Societe Pathologic Exotique**, 6: 118-120, 1913.
- MOLINA, R.; AMELA, C.; NIETO, J.; SAN ANDRÉS, M.; GONZALEZ, F.; CASTILLO, J.A.; LUCIENTES, J.; ALVAR, J. Infectivity in dogs naturally infected with *Leishmania infantum* to colonized *Phlebotomus perniciosus*. **Transactions Royal of Society Tropical Medicine and Hygiene**, 88: 491-493, 1994.
- NICOLLE C., COMTE C. Origine du Kala azar. **Academy of Science**, 146: 789, 1908.
- OLIVEIRA, G.G.S.; SANTORO, F.; SADIGUSKY, M. The subclinical form of experimental visceral leishmaniasis in dogs. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 88: 243-248, 1993.
- PENNA, H. A. Leishmaniose visceral no Brasil. **Brasil Médico**, 48: 949-950, 1934.
- PESSÔA, S.B.; MARTINS, A.V. **Parasitologia médica**. 11^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1988. p. 872.
- PINELLI, E.; KILLICK-KENDRICK, R.; WAGENAAR, J.; BENADINA, W.; DEL REAL, G.; RUITENBERG, J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania infantum*. **Infectious Immunology**, 62: 229-235, 1994.
- QUINNEL, R.J.; COURTNEY, O.; SHAW, M.; DAY, M.J.; GARCEZ, L.M.; DYE, C.; KAYE, P.M. Tissue cytokine responses in canine visceral leishmaniasis. **Journal of Infectious Disease**, 183: 1421-1424, 2001.
- REY, L. **Bases da Parasitologia Médica**, 2^a ed. Ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. p. 349p.
- ROGERS, K.A.; DEKREY, G.K.; MBOW, M.L.; GILLESPIE, R.D.; BRODSKYN, C.I.; TITUS, R. Type 1 and Type 2 responses to *Leishmania major*. **FEMS Microbiology Letters**, 209: 1-7, 2002.
- SANTOS-GOMES, G.M.; CAMPINO, L.; ABRANCHES, P. Canine experimental infection: intradermal inoculation of *Leishmania infantum* promastigotes. **Memórias do Instituto Oswaldo Cruz**, 95: 193-198. 2000.
- SCHLEIN, Y. Leishmania and sandflies: interactions in the life cycle and transmission. **Parasitology Today**, 9: 255-257, 1993.
- SOLANO-GALLEGO, L.; RIERA, C.; ROURA, X.; INIESTA, L.; GALLEGO, M.; VALLADARES, J.E.; FISA, R.; CASTILLEJO, S.; ALBEROLA, J.; FERRER, L.; ARBOIX, M.; PORTÚS, M. *Leishmaniasis infantum* - specific IgG, IgG1 and IgG2 antibody responses in healthy and ill dogs from endemic areas. Evolution in the course of infection and after treatment. **Veterinary Parasitology**, 96: 265-276, 2001.
- SOUZA, A.I.; JULIANO, R.S.; GOMES, T.S.; DINIZ, S.A.; BORGES, A.M.; TAFURI, W.L.; SANTOS, R.L. Osteolytic osteomyelitis associated with visceral leishmaniasis in a dog. **Veterinary parasitology**, 129: 51-54, 2005.
- TAFURI, W.G., L.; TAFURI, W.L.; BARBOSA, A.J.A.; MICHALICK, M.S.M.; GENARO, O.; FRANÇA-SILVA, J.C.; MAYRINCK, W.; NASCIMENTO, E. Histopathology and immunocytochemical study of type 3 and 4 complement receptors in the liver and spleen of dogs naturally and experimentally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, 38: 81-89, 1996.
- TAFURI, W.L.; OLIVEIRA, M.R.; MELO,

M.N.; TAFURI, W.L. Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one case reported from Brazil. **Veterinary Parasitology**, 96: 203-212, 2001.

TRAVI, B.L.; TABARES, C.J.; CADENA, H.; FERRO, C.; OSORIO, Y. Canine visceral leishmaniasis in Colombia: relationship between clinical and parasitologic status and infectivity for sand flies. **American Journal of the Tropical Medicine and Hygiene**, 64:119-24, 2001.

VARELLA, P.P.V.; FORTE, W.C.N. Citocinas: revisão. **Revista Brasileira de Alergia e Immunopatologia**, 24: 146-154, 2001.

VIÑUELAS, J.; GARCIA-ALONSO, M.; FERRANDO, L.; NAVARRETE, I.; MOLANO, I.; MIRÓN, C.; CARCELÉN, J.; ALONSO, C.; NIETO, C.G. Menigial leishmaniasis induced by *Leishmania infantum* in naturally infected dogs. **Veterinary Parasitology**, 101: 23-27, 2001.

WHO: Control of leishmaniasis. **Report of a WHO expert committee**. 793. 1990.

XAVIER, S.C.; CHARELLI, I.M.; LIMA, W.G.; GONÇALVES, R.; TAFURI, W.L. Canine visceral leishmaniasis: a remarkable histopathological picture of one asymptomatic animal reported from Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, 58: 994-1000, 2006.

YAGHOOBI-ERSHADI, M.R.; AKHAVAN, A.A.; MOHEBALI, M. *Meriones libycus* and *Rhombomys opimus* (Rodentia: Gerbillidae) are the main reservoir hosts in a new focus of zoonotic cutaneous leishmaniasis in Iran. **Transactions of the Royal Society Tropical Medicine and Hygiene**, 90:503-4, 1996.