

PROJETO PILOTO: DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LEISHMANIA SPP. EM GATOS DOMICILIADOS NO MUNICÍPIO DE URUGUAIANA-RS

Thália Pacheco dos Santos¹

Rammy Vargas Campos²

Irina Lubeck³

Taiane Acunha Escobar⁴

Resumo:

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*. Está disseminada em todo território brasileiro, e o município de Uruguaiana, na região da fronteira oeste do Rio Grande do Sul encontra-se como área endêmica para leishmaniose visceral canina (LVC). Desta forma, com o intenso convívio entre cães e gatos e considerando os cães como potenciais reservatórios domésticos, o objetivo deste trabalho foi detectar através da técnica de PCR gatos infectados por *Leishmania* spp. A pesquisa foi aprovada pelo CEUA (nº 22/2017). A avaliação foi realizada no Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas Bacterianas e Fúngicas Animais, com uma amostra de 8 gatos domiciliados do bairro Bela Vista no município de Uruguaiana. Para as análises foi utilizado sangue periférico, no qual o DNA foi extraído pelo método salting out, e o material genético foi submetido ao diagnóstico molecular de pela técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando como alvo molecular a região do kDNA. A análise molecular não permitiu a identificação de fragmentos de DNA de *Leishmania* spp. em nenhum dos animais analisados, e eles não apresentavam nenhum sinal clínico para essa enfermidade. O resultado negativo encontrado indica o quão difícil é o diagnóstico nessa espécie, podendo indicar que não é a forma mais específica para felinos, o que acaba levando a um diagnóstico tardio. A falta de sinais clínicos mostra uma possível resistência imunológica nessa espécie para leishmaniose, e com isso os proprietários não desconfiam de uma possível infecção. Com isso, o estudo terá continuidade para buscar um maior número de animais para serem avaliados e analisar se eles apresentam resistência a doença, ou até mesmo uma nova forma de diagnóstico com ELISA e qPCR.

Palavras-chave: leishmaniose; PCR; diagnóstico;

Modalidade de Participação: Iniciação Científica

**PROJETO PILOTO: DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE LEISHMANIA SPP. EM GATOS
DOMICILIADOS NO MUNICÍPIO DE URUGUAIANA-RS**

¹ Aluno de graduação. thaliapacheco08@gmail.com. Autor principal

² Aluna de Residência Veterinária. rammycampos@gmail.com. Co-autor

³ Docente. irinalubeck@unipampa.edu.br. Orientador

⁴ Aluna de pós-graduação. taianeascobar@gmail.com. Co-orientador

PROJETO PILOTO: DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE *LEISHMANIA* SPP. EM GATOS DOMICILIADOS NO MUNICÍPIO DE URUGUAIANA-RS

1 INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma zoonose causada por protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida ao homem e aos demais mamíferos através da picada de fêmeas de flebotomíneos. O clima tropical e o fluxo de pessoas no Brasil propicia o desenvolvimento do vetor com maior facilidade (DANTAS-TORRES, 2009), permitindo que o município de Uruguaiiana se tornasse um dos locais no estado do Rio Grande do Sul com maior foco para o parasita (CEVS, 2009) causando grande impacto na saúde pública.

Os cães são os principais reservatórios da doença, já que geralmente estão mais expostos ao vetor, mas isso não significa que outros animais domésticos não serão infectados, como os gatos, que são considerados apenas hospedeiros acidentais (SOUSA, 2017).

O diagnóstico dessa enfermidade em felinos ainda não é tão clara, porque muitas vezes são assintomáticos ou sinais clínicos presentes acabam sendo confundidos com alguma outra doença (COSTA et al., 2010). Com o aumento da incidência de leishmaniose visceral canina (LVC) no município de Uruguaiiana, o objetivo desse estudo foi detectar através da técnica de PCR gatos infectados por *Leishmania* spp.

2 METODOLOGIA

Esse estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal do Pampa - Campus Uruguaiiana, sob o número (22/2017). A amostra foi composta por 8 gatos domiciliados do bairro Bela Vista, região endêmica de LVC no município (ESCOBAR et al., 2017). Informações como sexo e avaliação dos sinais clínicos dos animais foram catalogadas no momento da coleta.

Foram coletadas as amostras de sangue da veia jugular dos felinos, e encaminhadas para o Laboratório de Doenças Infecto Contagiosas Bacterianas e Fúngicas Animais da Universidade Federal do Pampa. A extração de DNA foi através do método *salting out* (GREEN; SAMBROOK, 2001). Posteriormente foi realizado o diagnóstico molecular de leishmaniose através da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR), utilizando como alvo molecular a região do kDNA (EL TAI et al. 2001).

3 RESULTADOS e DISCUSSÃO

Os felinos avaliados eram 5 machos e 3 fêmeas, que viviam em local endêmico para leishmaniose e em contato com cães portadores de LVC em tratamento, mas nenhum deles apresentavam sinais clínicos para leishmaniose. A análise molecular através do kDNA PCR não permitiu a identificação de fragmentos de DNA de *Leishmania* spp. em nenhum dos animais analisados.

O fato dos felinos avaliados serem negativos na técnica molecular empregada utilizando sangue periférico como material biológico, indica o quão difícil é o diagnóstico nessa espécie, podendo indicar que essa não é forma mais específica, a utilização do método de PCR em Tempo Real (qPCR), seria uma nova tentativa de diagnóstico, já que seria possível realizar a quantificação dos parasitos nos tecidos (COSTA, 2014). Outra forma de diagnóstico importante é o Ensaio Imunoenzimático (ELISA), que é teste muito sensível e consegue detectar baixos valores de anticorpos (SOUZA et al., 2017), e com isso, evitando um diagnóstico tardio da doença.

Outro ponto que deve ser levado em consideração são os sinais clínicos, já que os felinos podem apresentar uma resistência imunológica contra o parasita (SOBRINHO, 2010), assim, a maioria dos casos serão assintomáticos (SILVA et al., 2008), e por conta disso, os proprietários não desconfiam de uma possível infecção.

Mas isso não significa que a busca por possíveis casos positivos em felinos deva ser descartada, se levarmos em consideração o grande número de cães e equinos infectados com leishmaniose que se encontram no município e a presença do vetor na região, os casos de infectados tendem a aumentar, por isso, a hipótese de que os felinos seriam apenas os hospedeiros (SIMÕES-MATTOS, 2005) não deve ser descartada.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de esta pesquisa ter sido realizada com felinos de região endêmica, os resultados foram inconclusivos, por isso, ele terá continuidade para buscar um maior número de animais para serem avaliados, para podermos concluir se os felinos realmente apresentam alguma resposta imunológica diversificada, e que com isso não conseguem manifestar a doença. Por se tratar de uma enfermidade de grande problema para a saúde pública, já que afeta não apenas o município de Uruguaiana, novas formas de diagnósticos devem ser utilizadas, como qPCR e ELISA, para termos um resultados mais significativos.

REFERÊNCIAS

CEVS. Nota Técnica do CVS: Leishmaniose visceral no Estado. In: Secretaria da Saúde - RS, 2009. Disponível em: <<http://www.saude.rs.gov.br/nota-tecnica-do-cevs-leishmaniose-visceral-no-estado/>>. Acesso em: 31 de agosto de 2018.

COSTA, T. A. C. et al. Ocorrência de leishmaniose em gatos de área endêmica para leishmaniose visceral. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 47, n. 3, p. 213-217, mar. 2010.

COSTA, L. N. G. **Aplicação da técnica de PCR para o diagnóstico e monitoramento da leishmaniose tegumentar e visceral na região de Campinas-SP e Teresina-PI**. 2014. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, 2014.

DANTAS-TORRES, F. *Canine leishmaniosis* in South America. **Parasites & Vectors**, Londres, v. 2, n. 1, p. S1, mar. 2009.

EL TAI, N. O. et al. *Leishmania donovani*: intraspecific polymorphisms of Sudanese isolates revealed by PCR-based analyses and DNA sequencing. **Experimental Parasitology**, n. 97, p. 35-44, 2011.

ESCOBAR, T. A. et al. Risk factors associated to canine visceral leishmaniasis in Uruguaiana city, Brazil. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 39, n. 1, p. 211-220, jan./fev. 2018.

GREEN, M. R.; SAMBROOK, J. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 3 ed. New York, 2001. 2100 p.

MELLO, G. B. Verificação da infecção natural do gato (*Felix domesticus*) por um protozoário do gênero *Leishmania*. **Brasil Médico**, Rio de Janeiro, v. 54, n. 12, p.180, mar. 1940.

SILVA, A. V. M. et al. The first Record of American visceral leishmaniasis in domestic cats from Rio de Janeiro, Brazil. **Acta Tropica**, v. 105, n. 1, p. 92-94, jan. 2008.

SOBRINHO, L. S. V. **Leishmaniose felina e sua associação com imunodeficiência viral e toxoplasmose em gatos provenientes de área endêmica para leishmaniose visceral**. 2010. 82f. Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária, 2010.

SIMÕES-MATTOS, L. **O gato doméstico (*Felis catus*) como potencial hospedeiro reservatório de *Leishmania (Viannia) braziliensis***. 2005. 231f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária, 2005.

SOUSA, S. A. P. **Diagnóstico de leishmaniose em *felis catus domesticus* de área urbana endêmica da região norte do Brasil**. 2017. 21, 61f. Tese (Doutorado) – Universidade Federal de Goiás, Escola de Veterinária e Zootecnia, 2017.

SOUZA, Y. C. P. et al. Testes Diagnósticos para Leishmaniose Visceral – Atualidade e Perspectivas. **Revista Científica Eletrônica de Medicina Veterinária**, Garça, São Paulo, v. 6, n. 21, jul. 2017.