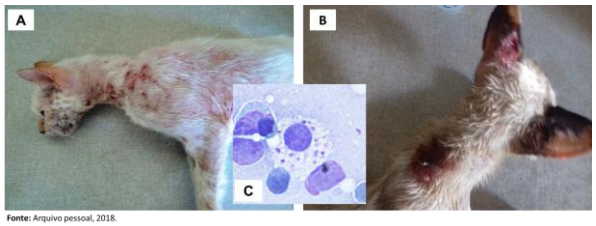
Programa de Pós-Graduação em Epidemiologia Experimental aplicada às zoonoses

Leishmaniose Felina



Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

Profa. Dra. Trícia Maria F. de Sousa Oliveira

Pirassununga
Setembro/2020

1

INTRODUÇÃO

- Primeiro relato de gato infectado por *Leishmania* spp. foi na Argelia (1912), em uma casa com um cão e uma criança com LV;
- No Brasil= Pará, gatos com ulcerações na orelhas e nariz (Mello, 1940);
- LF tem sido reportada a algum tempo, mas até recentemente gatos eram considerados hospedeiros acidentais de *Leishmania* spp.;
- As seguintes espécies já foram relatadas infectando gatos:
- *Leishmania infantum* *Leishmania mexicana*
- *Leishmania amazonensis* *Leishmania venezuelensis*
- *Leishmania braziliensis* *Leishmania tropica*
- *Leishmania major*
- Em 68% dos casos = *L. infantum*
- Brasil, primeiro caso de *L. infantum* no Brasil, Cotia - SP (Savani et al., 2004)

2

Feline leishmaniasis due to *Leishmania* (*Leishmania*) *amazonensis* in Mato Grosso do Sul State, Brazil

Alda Izabel de Souza[a,*], Evânia Marcia Silva Barros[b], Edna Ishikawa[c], Iêda Maria Novaes Ilha[d], Glaucia Rosely Barbosa Marin[d], Vânia Lúcia Brandão Nunes[e]

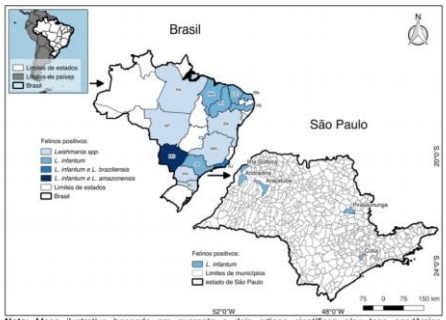
veterinary parasitology
www.vetparasitology.com

In September 2003, a domestic female cat, about 2-year-old, was admitted to a private veterinary clinic in Campo Grande, Mato Grosso do Sul State, Brazil, for examination because of several nodular lesions on its snout, ears and digital regions.

Veterinary Parasitology 128 (2005) 41–45

3

4



Nota: Mapa ilustrativo baseado em quarenta e dois artigos científicos e/ou tese acadêmica publicados entre 1940 e 2020, citados na Tabela 1. Mapa elaborado com o software QGIS 2.18 "Las Palmas" software (QGIS DEVELOPMENT TEAM, 2016), utilizando shapefiles de livre acesso do Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística [IBGE] (2018).

Figura 1. Felinos positivos para *Leishmania* spp. em inquéritos epidemiológicos realizados, através de métodos parasitológicos e/ou sorológicos e/ou moleculares, no Brasil e no estado de São Paulo.

Fonte: Oliveira et al., Leishmaniose felina no Brasil, Atualidades em Medicina Veterinária, 2020

5

INTRODUÇÃO

- Simões-Mattos et al. (2005) sugeriram que o gato doméstico tem alto grau de resistência natural ao parasita, como observado em infecções experimentais e que a forma clínica mais frequente é a cutânea;
- A resistência do gato à leishmaniose também pode depender de fatores genéticos não relacionados à resposta celular (Mancianti, 2004).
- Gatos infectados com *Leishmania* e vírus da imunodeficiência felina (FIV) e / ou vírus da leucemia felina (FeLV) demonstraram concomitantemente que tanto os agentes virais quanto o estresse podem induzir danos à resposta imune mediada por células (Grevot et al. 2005).

6

SINAIS CLÍNICOS

Gatos podem apresentar a LF: Ok
Menos severa quando comparado a cães: ?

Alterações cutâneas polimórficas são mais comuns
No início: menos relatos de formas sistêmicas, com envolvimento do fígado, baço, linfonodos

As manifestações clínicas mais frequentes são:
Lesões cutâneas (principalmente dermatite ulcerativa ou nodular) Linfadenomegalia
Hiperglobulinemia

Associações de infecção por *L. infantum* com FIV e FeLV são comuns.

Pennisi et al. (2013): 24 casos clínicos confirmados de infecção por *L. infantum* na Itália, observaram que o diagnóstico ocorre principalmente em gatos mais velhos, errantes, com linfadenomegalia e co-infectados com FIV.

7

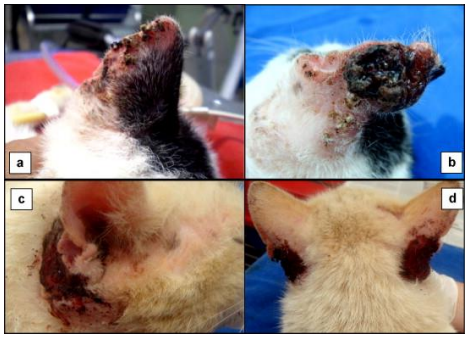
CLINICAL SIGNS

Table 4 Frequency (%) of clinical manifestations described in a total of 46 case reports and 15 histopathological case descriptions of feline leishmaniosis from European countries (1989–2014)

Frequency of clinical manifestations (%)		
~50 %	20–30 %	<10 %
Lymph node enlargement	Ocular lesions (mainly uveitis)	Pale mucous membranes
Skin and/or mucocutaneous lesions (mainly ulcerative or nodular)	Oral lesions	Hepatomegaly
	Weight loss	Icterus
	Anorexia	Cachexia
	Lethargy	Fever
	Dehydration	Vomiting
		Diarrhea
		Chronic nasal discharge
		Splenomegaly
		Polyuria/polydipsia
		Itching
		Dyspnea
		Wheezing
		Abortion
		Hypothermia

Fonte: Pennisi et al., 2015

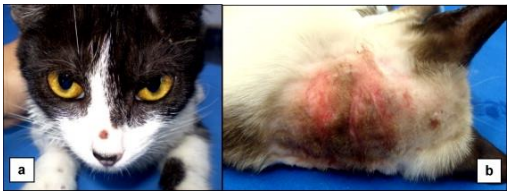
8



Gatos com LVA

Vides, J. P. et al. *Leishmania chagasi* infection in cats with dermatologic lesions from an endemic area of visceral leishmaniasis in Brazil. **Veterinary Parasitology**, v.178, n.1-2, 2011

9



10

MATERIAL E METODOS

2 Groups to compare:
Cats from animal shelters in Ilha Solteira, SP

G1
5 *Leishmania infantum*
Infected cats
FIV and FeLV negatives

G2
6 Non Infected cats
FIV and FeLV negatives

Hematological and biochemical exams

The mean of each parameter was compared between the experimental groups (G1 and G2) by the t-Student test, with 95% confidence

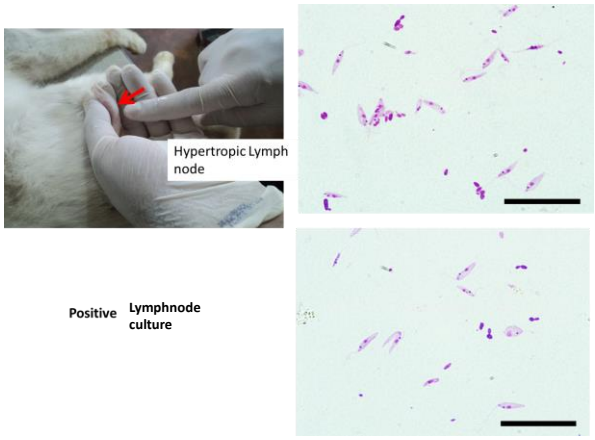
11

MATERIAL E METODOS

Diagnostic tests to separate groups							
Group	Nº	Serological		Molecular cPCR			Parasitological
		ELISA / EL	IFAT / Tit.	ITS1	13A/13B	Seq.	BM/L Citology
G1	01	+ / 5	+ / 1:40	+	+	*L. infantum*	+
	02	+ / 6	+ / 1:80	+	+	*L. infantum*	N
	03	+ / 3	+ / 1:80	+	+	*L. infantum*	+
	04	+ / 4	+ / 1:320	+	+	*L. infantum*	N
	05	+ / 6	+ / 1:80	+	+	*L. infantum*	N
G2	01	N / 3	N	N	N	NA	N
	02	N / 2	N	N	N	NA	N
	03	N / 2	N	N	N	NA	N
	04	N / 1	N	N	N	NA	N
	05	N / 0	N	N	N	NA	N
	06	N / 0	N	N	N	NA	N

Note: (+): positive; (N): negative; (EL): ELISA Level; (Tit.): Titration; NA: Non avaliated; Seq.: Sequencing ; L.: Popliteal lymph node; BM: Bone marrow; G1: infected group; G2: non infected group;

12


Hypertropic Lymph node
Positive
Lymphnode culture

13

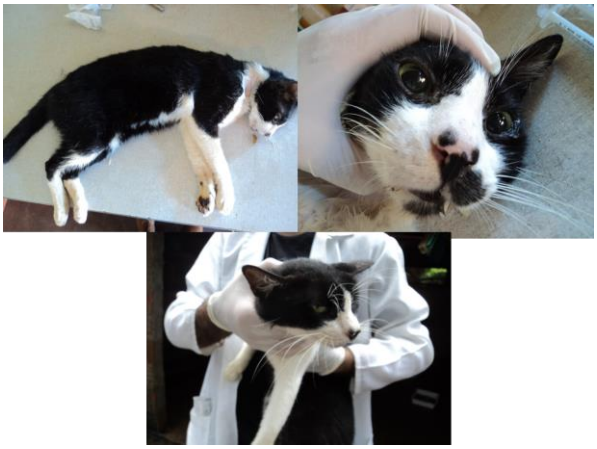
14

15

Hypertropic Lymph node

16

17

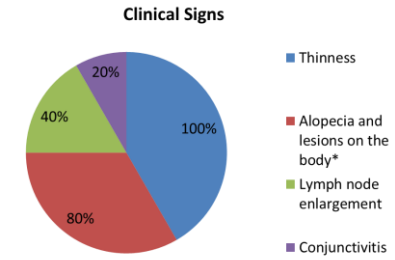


18

19

20

RESULTADOS



* skin, snout or ear

21

RESULTADOS

Comparison between Hematological and Biochemical Parameters of cats infected and non-infected by *Leishmania infantum*

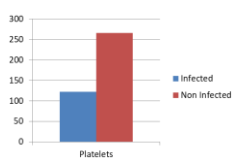
Parameters	Reference range	Infected	Non Infected	*p*- value
Red blood cells (10^6/µL)	5 - 10	8,07 ± 0,51	7,03 ± 0,46	$p < 0,01$
HCT (%)	24 - 45	33,76 ± 3,21	32,26 ± 2,30	0,3927
Hemoglobin (g/dl)	8 - 15	10,14 ± 0,69	10,36 ± 0,24	0,4708
MCV (fl)	39 - 55	44,32 ± 4,29	46,00 ± 4,49	0,5444
MCHC (%)	30 -36	30,1 ± 0,87	32,26 ± 2,64	0,1154
Platelet (10^3/µL)	230 - 680	122,4 ± 16,07	265,5 ± 88,25	$p < 0,01$
White blood cells (10^3/µL)	5,5 -19	13,78 ± 4,09	21,25 ± 4,03	$p < 0,05$
Eosinophil (10^3/µL)	0 -1,5	0,98 ± 0,50	1,73 ± 0,22	0,06332
Neutrophil (10^3/µL)	2,5 - 12,5	10,17 ± 3,37	14,15 ± 2,21	$p < 0,05$
Lymphocyte (10^3/µL)	1,5 - 7	2,58 ± 1,04	5,11 ± 2,54	$p < 0,05$
Monocyte (10^3/µL)	0 - 0,85	0,40 ± 0,36	0,25 ± 0,24	0,4293
Urea (mg/dl)	42,8 - 64,2	97,6 ± 16,51	97 ± 14,01	0,9494
Creatinine (mg/dl)	0,8 - 1,8	1,04 ± 0,21	1,46 ± 0,36	0,05226
ALP (U/L)	7 - 80	15,78 ± 1,56	13,97 ± 2,50	0,1957
ALT (U/L)	06 - 83	36 ± 12,94	39,5 ± 20,63	0,7506
AST (U/L)	26 - 43	21,6 ± 4,97	38 ± 7,56	$p < 0,01$
Total protein (g/L)	54 - 78	92,6 ± 3,28	72,5 ± 3,50	$p < 0,01$
Albumin (g/dl)	2,1 - 3,3	1,54 ± 0,11	2,26 ± 0,44	$p < 0,01$

References

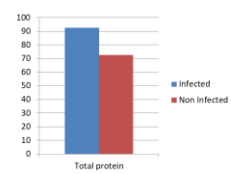
[1] R Core team. R: A language and enviroment for estatistical computing. R foundation for statistical computing. Viena, Austria. ISBN 3-900051-07-0 (2016)

22

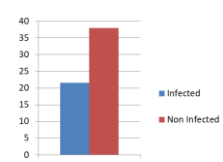
RESULTADOS



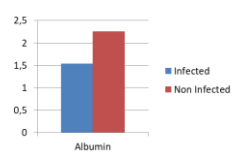
Decrease of platelets in Infected cats (p <0.05), outside the reference range



Increase of total protein in Infected cats (p <0.05), outside the reference range



Decrease of AST in Infected cats (p <0.01), outside the reference range



Decrease of albumin in Infected cats (p<0.01), outside the reference range

23

RESULTADOS IMUNOLOGIA

- No trabalho de Silva (2019), houve um aumento significativo de linfócitos T CD4+ e ausência de uma expressão ativa de Linfócitos T CD8+ em gatos com LF por *L. (L.) infantum*, quando comparado aos gatos não infectados, o que sugere a participação do sistema imune mediado por células CD4+ na progressão da doença.

- No mesmo estudo, o aumento significativo dos isotipos IgA, IgG e IgM em felinos doentes em relação ao grupo controle indicam a participação da resposta imune humoral na LF.

24

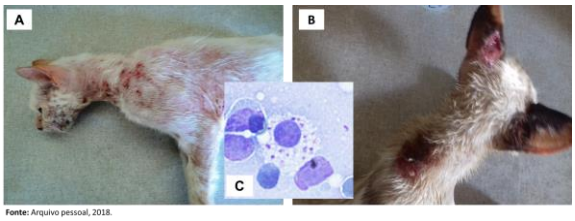
DIAGNÓSTICO

Não existe padrão ainda;

Resultados podem ser discrepantes;

Combinação de testes sorológicos, parasitológicos e moleculares é o ideal;

Produção mais baixa de anticorpos que cães; ponto de corte?



Fonte: Arquivo pessoal, 2018.

25

DIAGNÓSTICO

Country (region)	Seroprevalence (total number of samples)	Diagnostic assay (cut-off titre)	Confirmatory assay: results
Italy (Milan)[15]	25.3% (233)	IFI (1:80)	qPCR: 0%
Brazil (Araçatuba)[16]	4.64% (302)	IFI (1:40)	ELISA: 12.91% Direct parasitological exam: 9.93%
Mexico (Yucatan Peninsula)[17]	22.1% (95)	ELISA (Fe-SOD)	–
Paraguay (Asuncion)[18]	0.94% (317)	IFI	–
Brazil (Araçatuba)[19]	25.4% (55) 10.9% (55)	ELISA IFI (1:40)	–
Iran[20]	9.23% (195)	Immunochromatography	–
Portugal (Lisbon)[10]	1.3% (76)	IFI	PCR: 20.3% (28/138)
Portugal (north region)[9]	2.8% (316)	DAT ELISA	–
Greece (north region)[21]	3.87% (284)	ELISA	–
Israel (Jerusalem)[22]	6.7% (104)	ELISA	–
Portugal (Lisbon)[23]	20% (20)	IFI	PCR: 30.4% (7/23)
Spain (south region)[2]	60% (183) with titre ≥10 28.3% (183) with titre ≥40	IFI	PCR: ELISA: 25.7% Direct parasitological exam: 3/7 tested positive
Italy[24]	16.3% (203)	IFI	–
Italy[25]	0.9% (110)	IFI	–

DAT = direct agglutination test; Fe-SOD = iron superoxide dismutase; IFI = indirect immunofluorescence; qPCR = quantitative polymerase chain reaction

Source: Soares, C. S. A; Duarte, S. C; Sousa, S. R. What do we Know about feline leishmaniosis? Journal of Feline Medicine and Surgery, 2016, Vol. 18(6) 435-442.

26

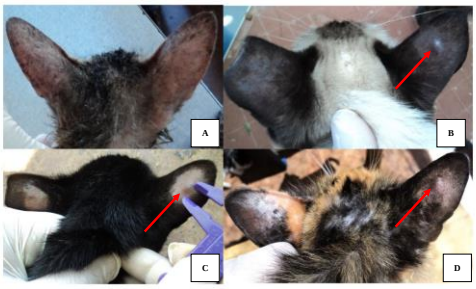
IDRM

Ilha Solteira, 2019

De 100 gatos de área endêmica, 60% foram positivos na IDRM
De 5 animais *L. infantum* positivos na PCR com sequenciamento, apenas 1 teve o teste de IDRM positivo

27

IDRM



Ilha Solteira, 2019

Reação intradérmica de Montenegro com antígeno de *L. infantum* em gatos procedentes de abrigos de animais. A: Gato negativo para o teste, sem a formação de nódulo; B, C e D: Gatos positivos para o teste, com formação de nódulo no local de inoculação do antígeno (Seta vermelha). Ilha Solteira, SP, 2019.

28

29

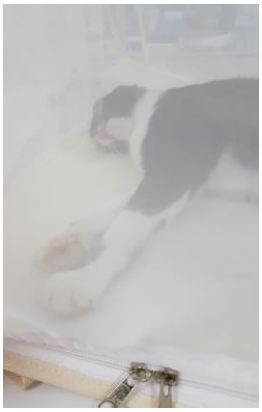
30

XENODIAGNÓSTICO ILHA SOLTEIRA - 2019

31

XENODIAGNÓSTICO ILHA SOLTEIRA - 2019

32



33

Comparação entre os estudos de xenodiagnóstico realizados em gatos até o momento

Tabela 3: Comparação entre os estudos xenodiagnósticos disponíveis e o presente estudo, realizados em gatos naturalmente infectados por *L. infantum*.

Estudo	N	Vetor	Infecciosidade	Taxa de infecção	FIV	FeLV	Citologia	Titulação[1] (RIFI)	Cultura	Sinais Clínicos	Alterações hematológicas
Maroli et al (2007)	1	*P. perniciosus*	1	21%	N	N	NA	+ 1:160	Linfonodo	Estomatite, periodontite, linfoadenopatia, hipertrofia dos linfonodos	NA
Silva et al (2010)	1	*Lu. longipalpis*	1	13.1%	N	N	NA	+ 1:160	NA	Hipertrofia do linfonodo poplíteo, dermatite furfurácea, onicogrifose, caquexia, atrofia muscular, fadiga, anorexia, fraqueza e ferida na orelha direita.	↑ leucócitos por neutrofilia ↑ Ureia sérica e AST
Mendonça et al (2020)	12	*Lu. longipalpis*	8 (66,7%)	29.2%	3 (25,0%)	N	Medula óssea e pele	NA	NA	Aumento dos linfodopos, alopecia e lesões de pele*	NA
Presente estudo	4	*Lu. longipalpis*	1 (25%)	25.6%	N	N	Medula óssea	+ 1:320	Medula óssea Interface Sangue	Magreza	↑ leucócitos e CHCM, ↓ VCM e plaquetas; ↓ GGT e albumina, ↑ PT e globulina; ↑ Linfócitos

Notas:

[1] Ponto de corte de 1:40 em todos os estudos.

N – Número de gatos estudados em cada xenodiagnóstico; **Competência** – número de gatos que foram infecciosos ao vetor; **NA** – Não apresenta; **N** – negativo; + - Positivo; **Titulação** – pela RIFI, com ponto de corte: 1:40; + - Positivo; **PT** – Proteína Total; **AST** – Aspartato aminotransferase; **GGT** – Glutamil Transferase; **VCM** – Volume Corpuscular Médio; **CHCM** – Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média. *Foram especificados apenas os 3 sinais clínicos mais comuns.

Fonte: Maroli et al., (2007); Silva et al. (2010); Mendonça et al. (2020).

34

35

Controle

36

Obrigada!

37