



LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

- Etiologia, Epidemiologia, Transmissão e Reservatórios
- Imunologia e leishmaniose em felinos;
- Manifestações clínicas
- Diagnóstico

Marcio Antonio Batistela Moreira

marcio@sanimvet.com.br



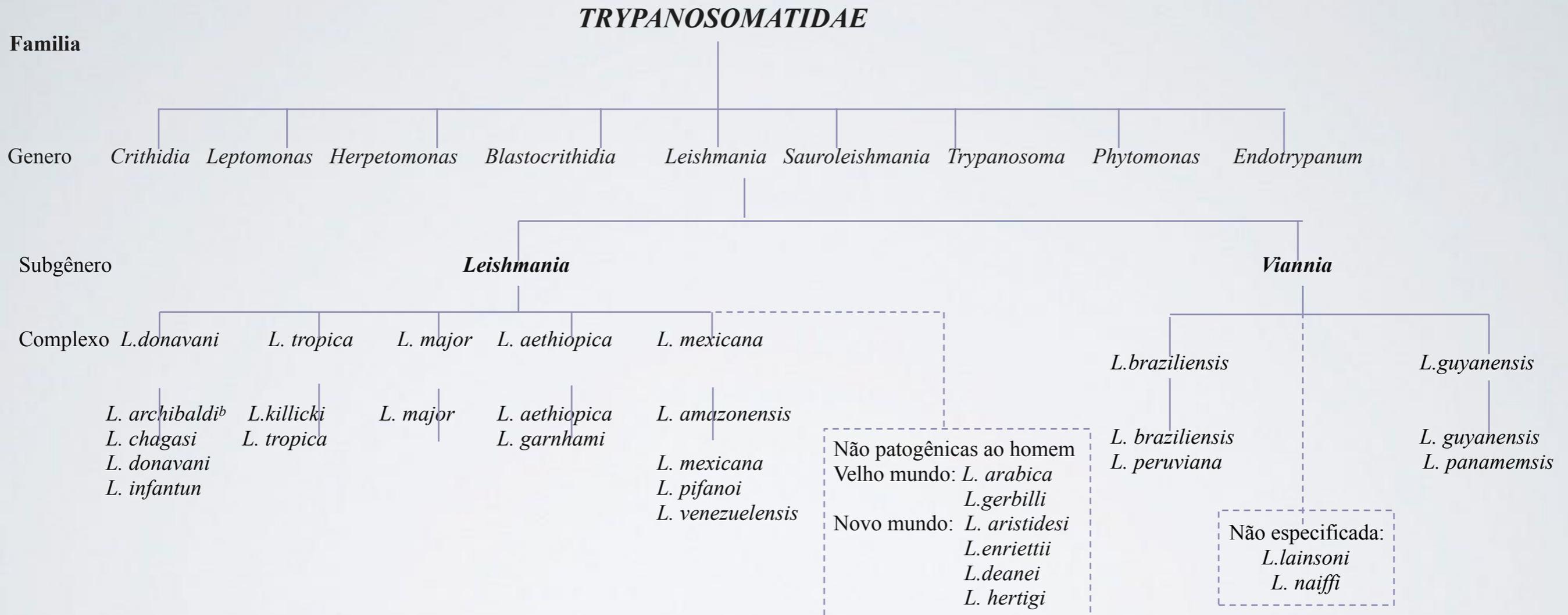
Universidade Anhembi-Morumbi

INTRODUÇÃO

- ▶ A leishmaniose é uma zoonose não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoário do gênero *Leishmania*.
- ▶ As leishmanioses são divididas em dois grandes grupos: Leishmaniose Tegumentar (leishmaniose cutânea, mucocutânea e cutânea difusa) e o grupo que causa a Leishmaniose Visceral (SLAPPENDEL et al., 1990)

Introdução

Taxonomia das Leishmanias



Fonte: Organização Mundial da Saúde (OMS)

Formas Cutâneas



LCL



LCDB



LCD



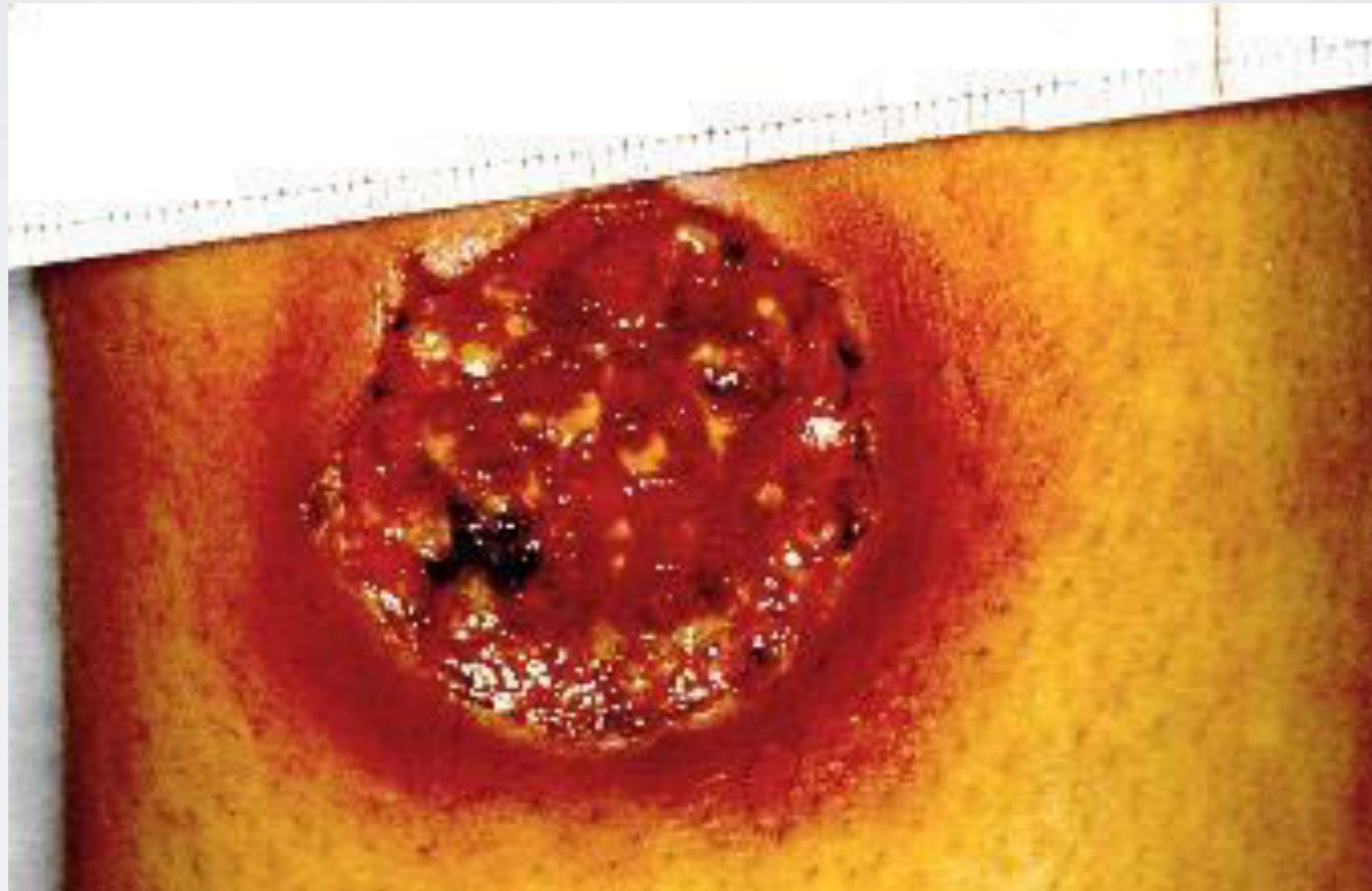
LMC



Fotos: Serviço de Zoonoses - IPEC-FIOCRUZ e A. Franco

FORMAS TEGUMENTARES

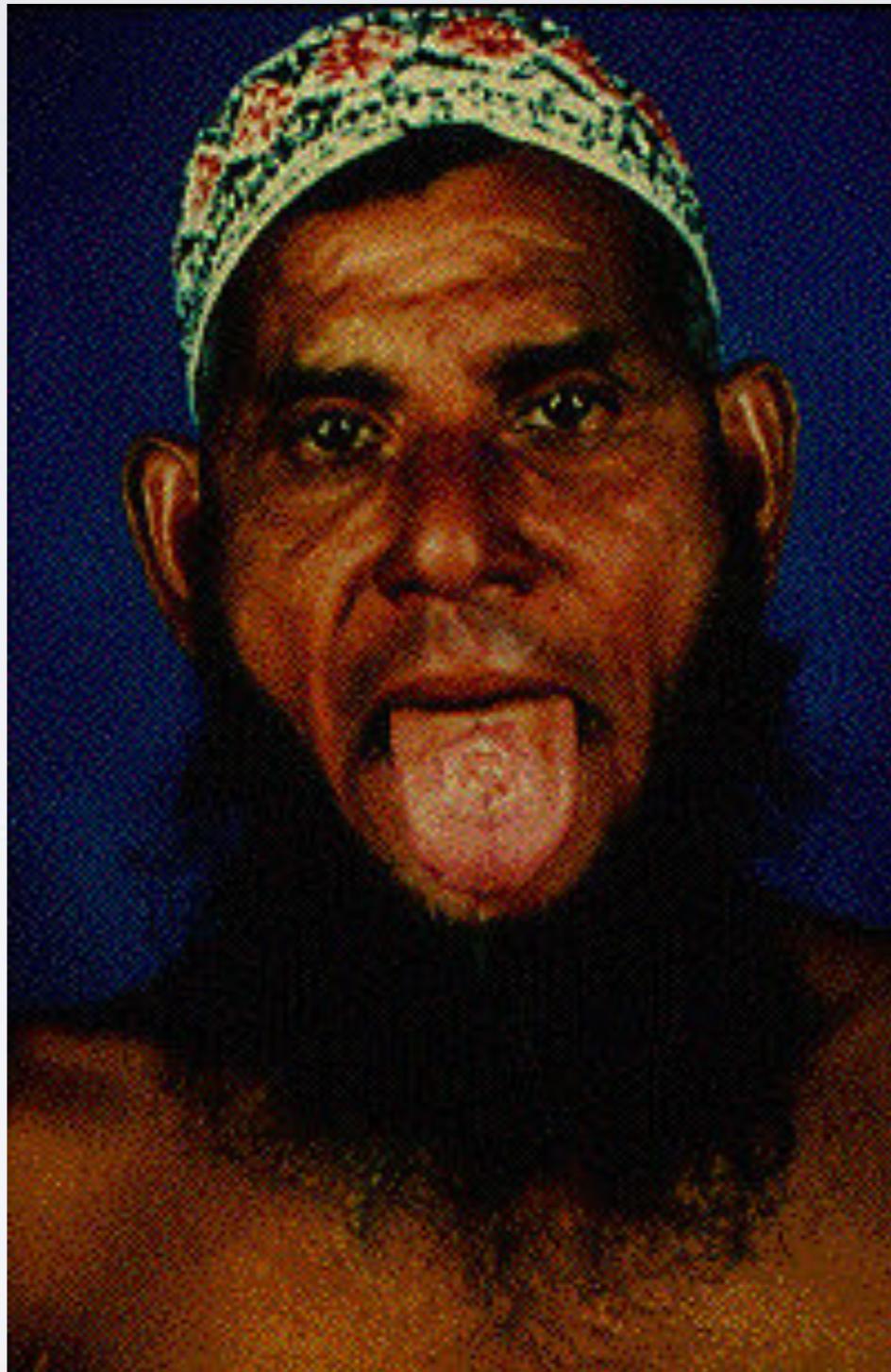
Formas Cutâneas



Formas Cutâneas



Formas Cutâneas



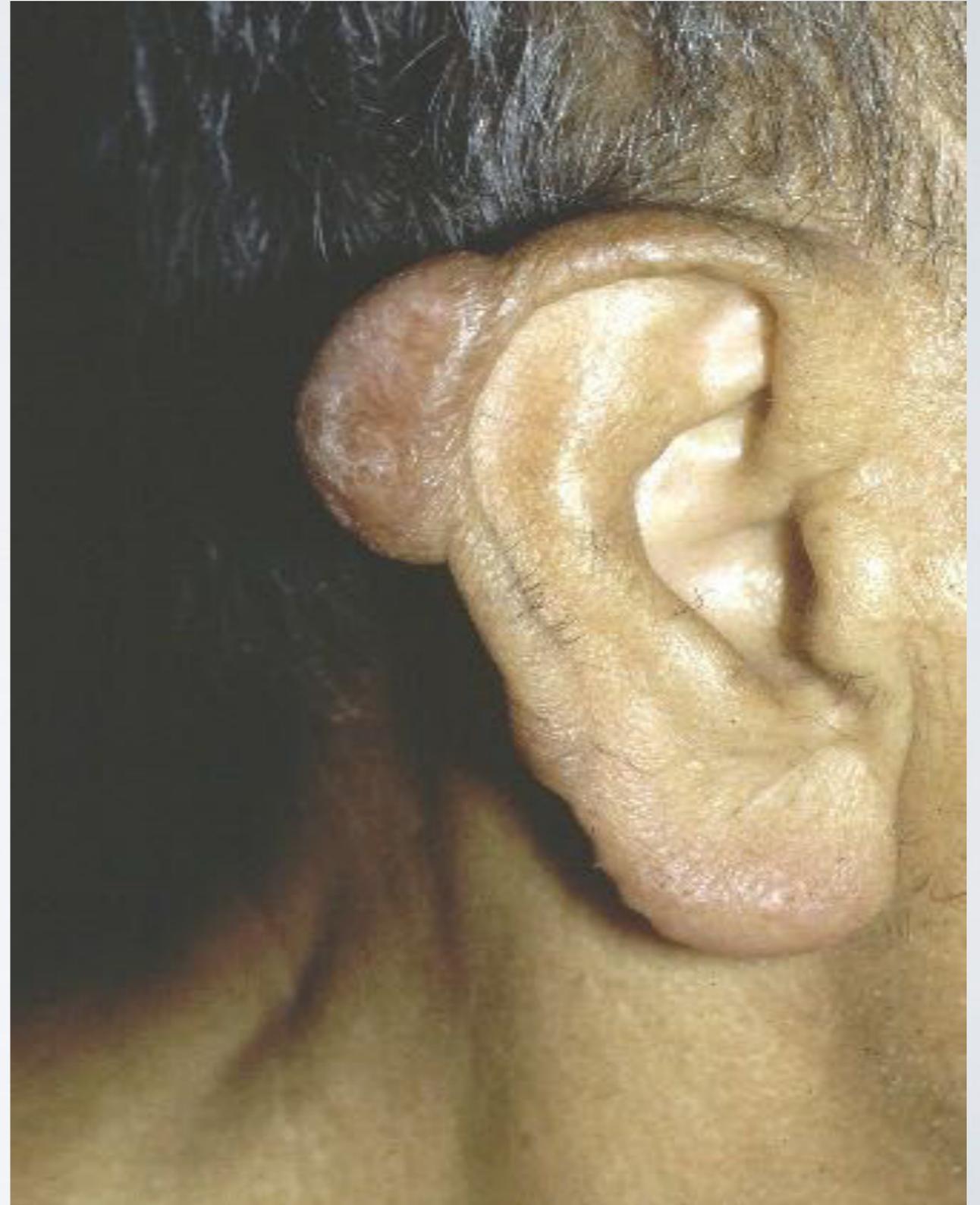
Formas Cutâneas



Formas Cutâneas



Formas Cutâneas

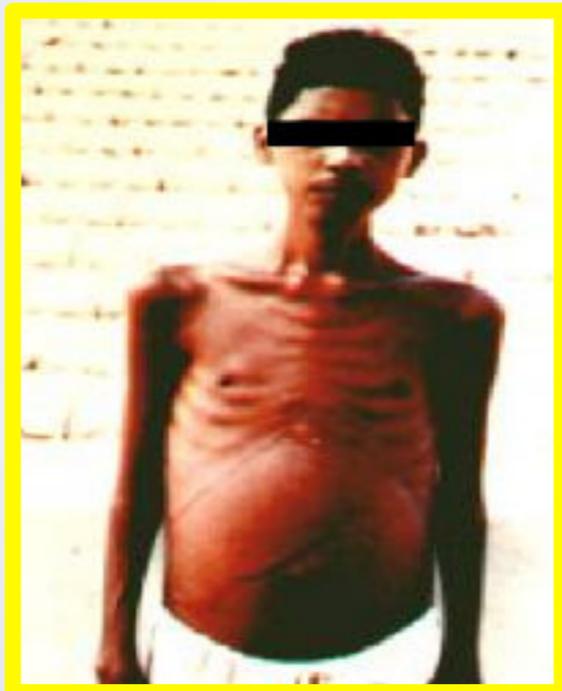


Formas Cutâneas



FORMA VISCERAL

LVH



LVC



Manifestações Clínicas



Manifestações Clínicas



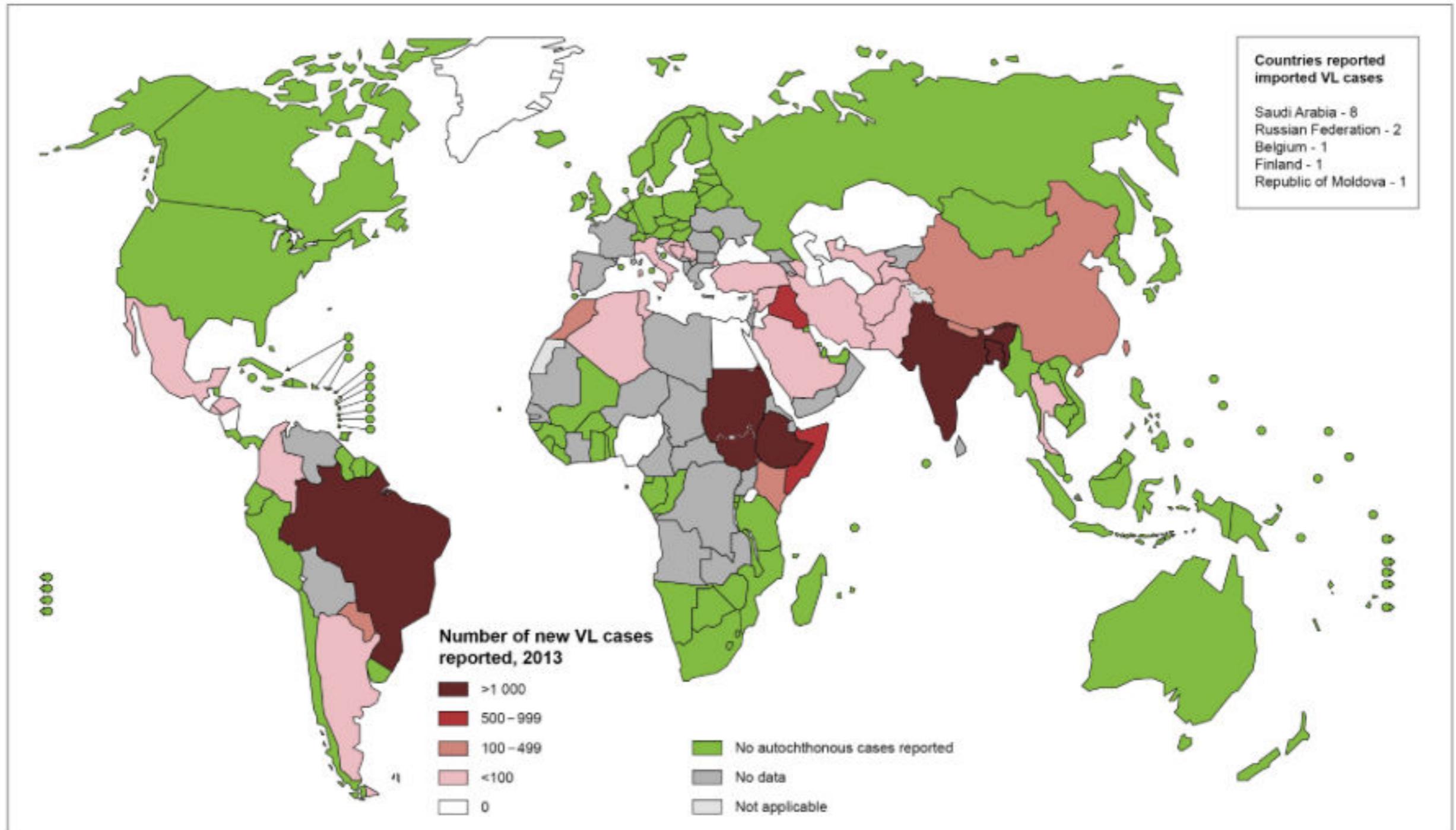
Manifestações Clínicas



WHO

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Status of endemicity of visceral leishmaniasis, worldwide, 2013



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply the expression of any opinion whatsoever on the part of the World Health Organization concerning the legal status of any country, territory, city or area or of its authorities, or concerning the delimitation of its frontiers or boundaries. Dotted lines on maps represent approximate border lines for which there may not yet be full agreement. © WHO 2015. All rights reserved

Data Source: World Health Organization
Map Production: Control of Neglected
Tropical Diseases (NTD)
World Health Organization



DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

88 - Países no mundo

66 - Europa, Ásia, África

22 - Américas

- Acomete a população mais pobre (rurais e suburbanas)
- 12 milhões de humanos portadores
- 350 milhões de pessoas estão com risco de adquirir
- Em média 500.000 novos casos humanos/ano



Informe de Leishmanioses Nº 5 - Abril, 2017

LEISHMANIOSES

Informe Epidemiológico das Américas

Introdução

Nas Américas, as leishmanioses seguem sendo um problema de saúde pública devido a sua magnitude e complexidade clínica, biológica e epidemiológica. Afeta predominantemente os mais pobres, sobretudo em países em desenvolvimento, fato requer um esforço coletivo e um compromisso compartilhado entre os governos, as organizações, instituições e a sociedade para seu controle.

Em 2016, os Estados Membros da Organização Pan-Americana da Saúde - OPS/OMS aprovaram mediante a Resolução CD55. R09 do Conselho Diretivo o Plano de ação para eliminação das doenças negligenciadas e medidas posteriores a eliminação 2016-2022.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

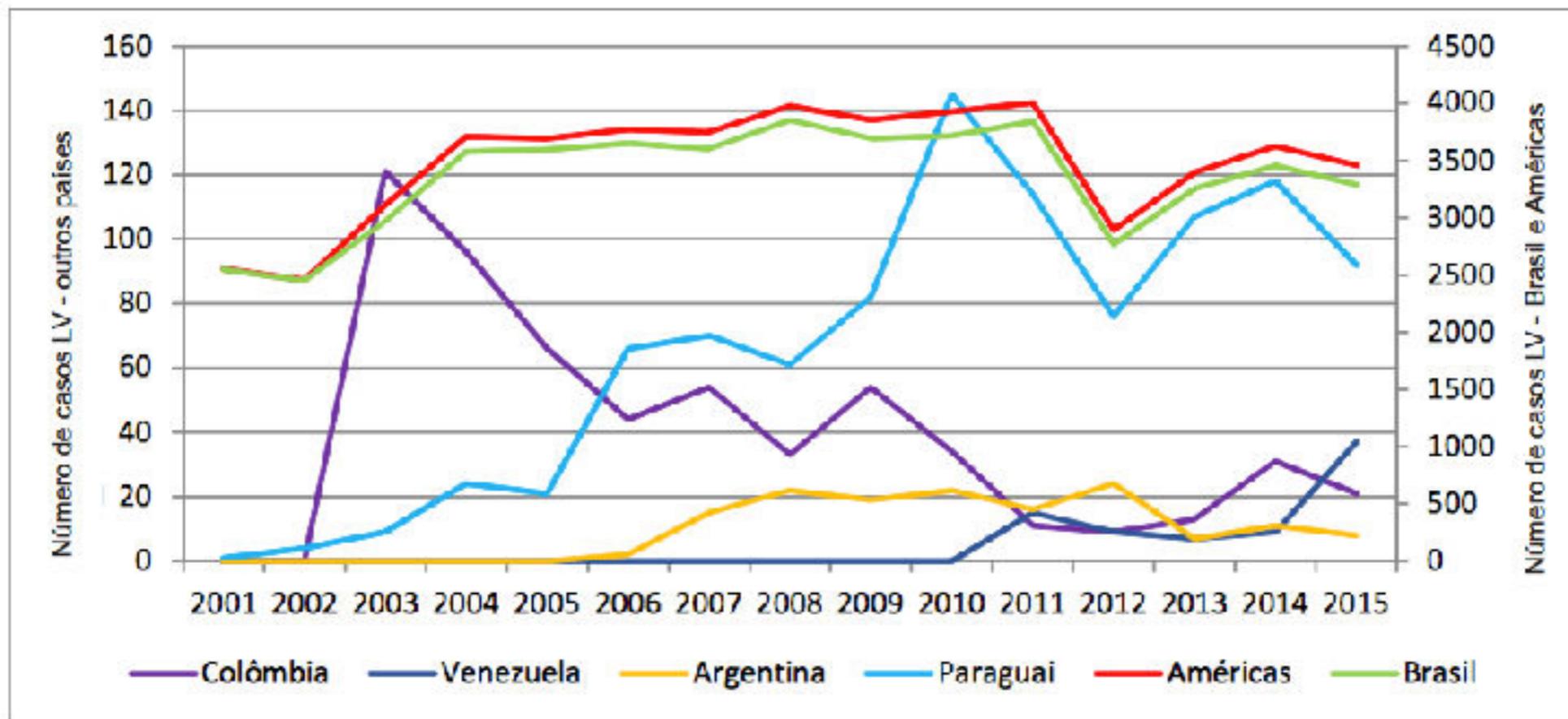


Figura 9. Casos de leishmaniose visceral, segundo países com maior ocorrência de casos, Américas, 2001-2015.

Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: Dados reportados pelos Programas Nacionais/Serviços de vigilância. Dados disponíveis em 20 de fevereiro de 2017

2001 - 2015 - 52.176/casos de LVH nas Américas
2004-2011 - estabilidade no número (3835)
2012 - redução (2892)
2013 - aumento (3492)

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Tabela 2. Número, Proporção de casos e Incidência^{1, 2} de leishmaniose visceral segundo países, Américas, 2012 -2015.

Países	2012				2013				2014				2015			
	N° casos	% casos	Incid. Pop Risco ¹	Incid. Geral ²	N° casos	% casos	Incid. Pop Risco ¹	Incid. Geral ²	N° casos	% casos	Incid. Pop Risco ¹	Incid. Geral ²	N° casos	% casos	Incid. Pop Risco ¹	Incid. Geral ²
Brasil	2,770	95.8	4.54	2.31	3,253	95.8	4.35	2.71	3,453	95.2	5.21	2.62	3,289	95.2	4.09	2.54
Paraguai	76	2.6	2.47	2.03	107	3.2	3.85	3.27	118	3.3	4.06	2.68	92	2.7	3.01	2.36
Venezuela	9	0.3	1.28	0.22	7	0.2	0.58	0.10	9	0.2	1.55	0.24	37	1.1	1.24	0.34
Colômbia	9	0.3	2.34	0.36	13	0.4	2.65	0.29	31	0.9	3.3	0.41	21	0.6	7.04	0.63
Argentina	24	0.8	1.13	1.06	7	0.2	0.61	0.19	11	0.3	1.75	0.96	8	0.2	0.89	0.67
Honduras	0	0.0	0.0	0.0	3	0.1	1.21	0.67	2	0.1	3.12	0.31	6	0.2	2.4	0.34
El Salvador	0	0.0	0.0	0.0	1	0.05	2.74	0.90	0	0.0	0.0	0.0	0	0.0	0.0	0.0
Guatemala	0	0.0	0.0	0.0	1	0.05	2.58	1.98	0	0.0	0.0	0.0	2	0.1	1.9	1.9
México	4	0.1	0.57	0.21	4	0.1	0.59	0.22	0	0.0	0.0	0.0	1	0.0	4.3	0.1
Total	2892	100.0	4.25	2.15	3,396	100.0	4.17	2.40	3,624	100.0	5.07	2.42	3,456	100.0	5.07	2.42

Fonte: SisLeish-OPS/OMS: Dados reportados pelos Programas Nacionais de Leishmanioses/ Serviços de Vigilância.

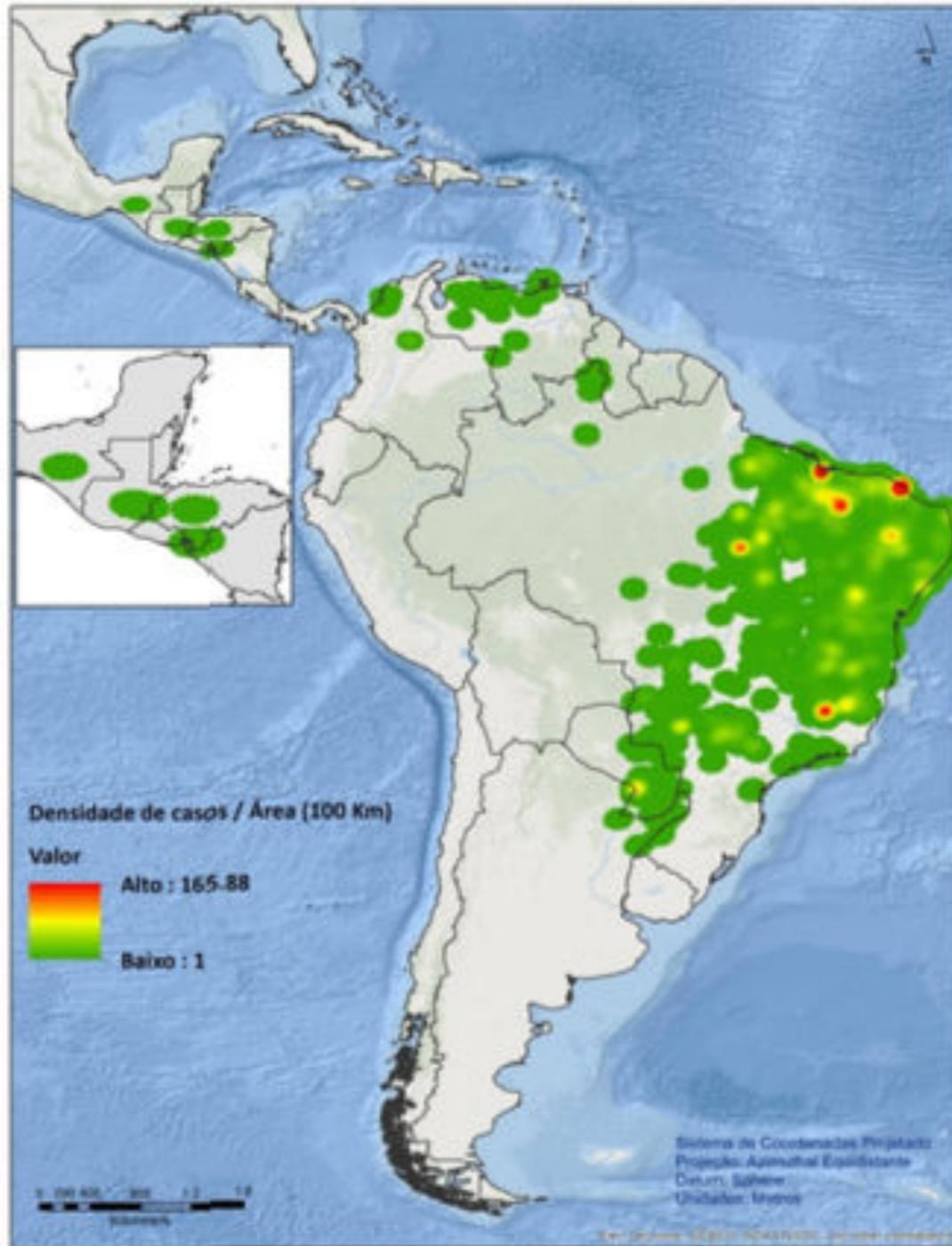
1- Incidência por 100.000 habitantes considerando a população das áreas de transmissão de LV em países e regiões.

2- Incidência por 100.000 habitantes considerando a população total dos países com transmissão de LV

Dados disponíveis em 20 de fevereiro de 2017

90% da LV mundial ocorre: Bangladesh; Índia; Sudão e Brasil
 95,1 % dos casos reportados nas Américas ocorrem no Brasil

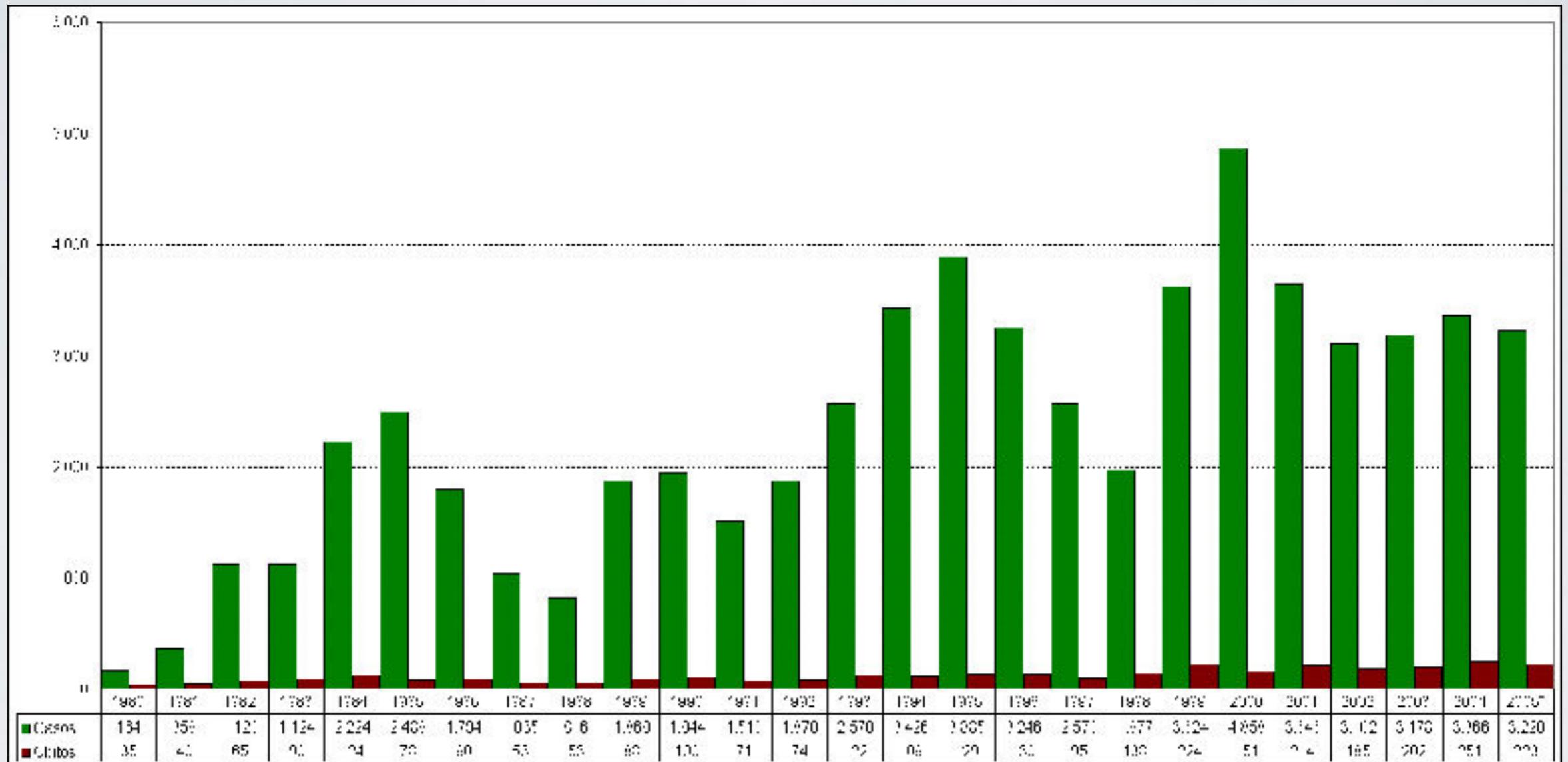
DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA



Brasil
Paraguai
Venezuela
Argentina
Colombia
El Salvador
Honduras
Guatemala
México

Figura 14. Densidade de casos de leishmaniose visceral por segundo nível administrativo, Américas, 2015.
Fonte: SisLeish-OPAS/OMS: Dados reportados pelos Programas Nacionais e serviços de Vigilância
Dados disponíveis em 20 de fevereiro de 2017

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA



Nordeste >> Sudeste ~ Norte > Centro-Oeste > Sul (nenhum registro até hoje)

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Casos confirmados de Leishmaniose Visceral. Brasil, Grandes Regiões e Unidades Federadas. 1990 a 2008*

Região e UF	1990	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008*
Região Norte	35	53	99	84	118	117	133	152	112	375	366	299	333	437	543	660	684	847	772
Rondônia*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	3	0
Acre	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amazonas*	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	0	3	0	0	1	1	1	0
Roraima	6	41	62	39	21	49	19	12	8	2	13	4	8	9	15	12	4	2	2
Pará	22	12	31	33	64	20	45	43	46	188	171	140	134	191	372	471	452	403	351
Amapá*	0	0	0	0	0	0	0	0	...	0	0	1	0	0	0	0	2	1	0
Tocantins	7	0	6	12	33	48	69	97	58	185	182	154	188	237	154	176	225	437	418
Região Nordeste	1.650	1.380	1.657	2.407	3.183	3.519	2.932	2.257	1.688	2.965	4.029	1.873	1.487	1.766	1.954	2.011	1.982	1.741	1.370
Maranhão	91	61	114	575	534	263	144	116	483	724	842	490	555	747	615	555	477	392	465
Piauí	201	86	196	701	778	407	239	205	185	348	404	120	127	252	348	306	242	264	177
Ceará	140	150	159	248	486	490	220	130	158	421	496	231	221	212	296	391	599	559	341
Rio Grande do Norte	74	147	236	132	135	93	71	115	126	276	332	148	68	62	55	48	70	65	67
Paraíba	60	92	81	46	91	127	89	72	22	61	108	94	20	31	28	31	36	23	21
Pernambuco	97	80	60	82	188	273	208	161	110	168	539	228	86	79	85	91	96	76	70
Alagoas	56	32	40	58	71	111	103	87	35	171	285	234	116	49	57	57	49	32	26
Sergipe	82	78	119	98	203	266	210	117	1	102	142	41	30	19	32	42	47	69	31
Bahia	849	654	652	467	697	1.489	1.648	1.254	568	694	881	287	264	315	438	490	366	261	172
Região Sudeste	243	76	96	59	90	171	166	140	89	189	314	240	425	534	782	656	704	679	691
Minas Gerais	226	62	96	58	88	164	166	138	88	160	218	145	298	349	620	484	430	421	441
Espírito Santo	15	13	0	0	0	0	0	1	1	29	4	7	1	4	4	4	1	0	2
Rio de Janeiro	2	1	0	1	2	7	0	1	0	0	4	4	1	2	3	3	9	2	0
São Paulo	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	88	84	125	179	155	165	264	256	248
Região Sul	0	3	2	2	5	3	3	3	0										
Paraná*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3	2	1	3	3	3	2	0
Santa Catarina*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	1	0
Rio Grande do Sul	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0
Região Centro-Oeste	16	1	18	20	35	78	15	21	88	95	149	123	201	231	289	261	277	331	308
Mato Grosso do Sul	5	1	3	3	27	59	12	18	53	47	82	87	176	190	232	204	209	249	226
Mato Grosso	0	0	0	0	0	0	0	0	13	26	23	18	8	13	20	22	21	34	54
Goiás	11	0	15	17	8	19	3	3	22	22	44	18	17	28	28	26	32	35	24
Distrito Federal	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	9	15	13	4
UF Ignorada	11	2	1	7	6	1	3	188
Brasil	1.944	1.510	1.870	2.570	3.426	3.885	3.246	2.570	1.977	3.624	4.858	2.549	2.450	2.971	3.580	3.597	3.651	3.604	3.328

Fonte: SINAT/VS/MS - atualizado em 04/04/09

* Estados que não apresentam casos autóctones de leishmaniose visceral. O registro de casos refere-se à UF de residência, ou seja, pacientes que residem nesses estados porém adquiriram infecção em outro.

*Dados sujeitos a revisão

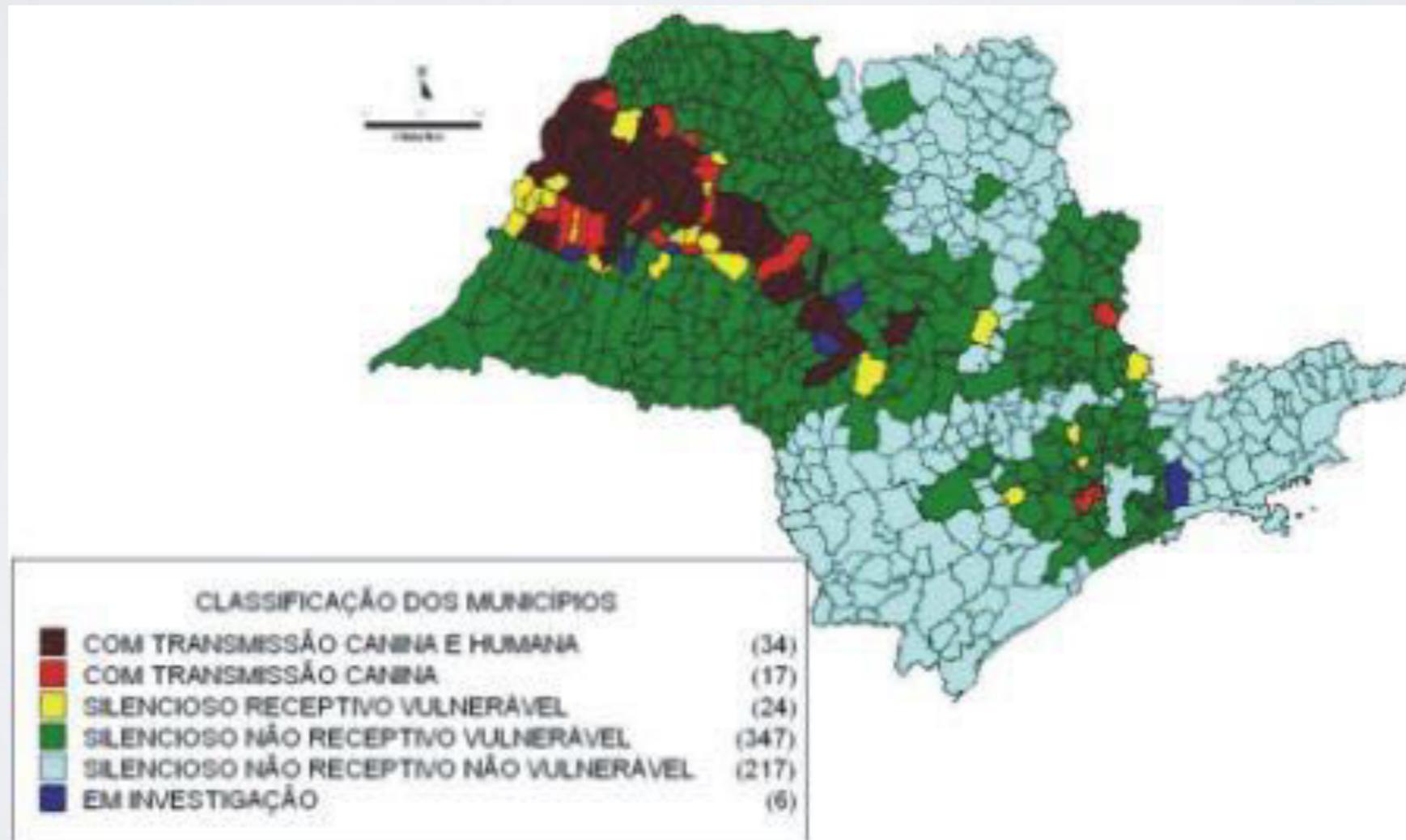
Até 2007 os casos referem-se à UF de residência, a partir de 2008 foram considerados casos segundo UF Fonte de infecção.

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA



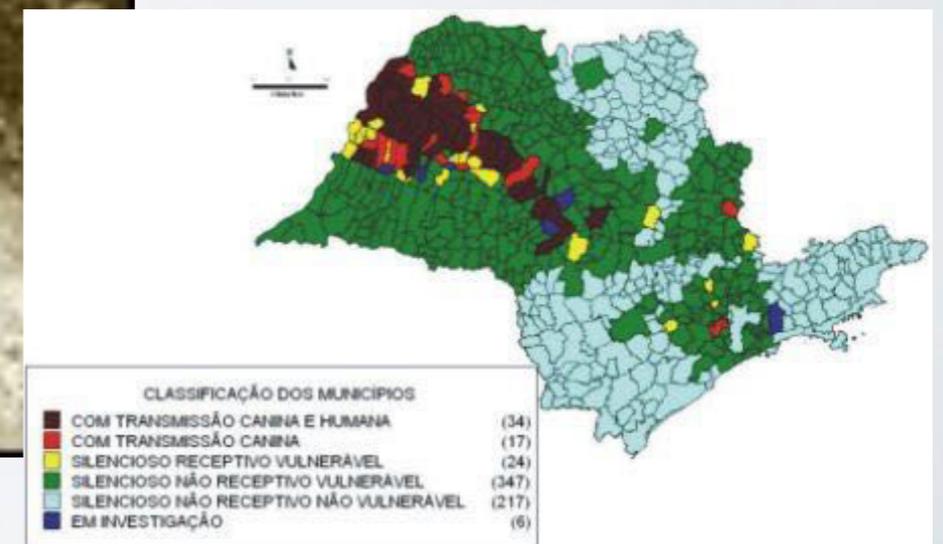
DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

Distribuição dos municípios do Estado de São Paulo segundo a classificação epidemiológica para leishmaniose visceral americana, março/2007



Fonte www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa39_lva.htm

DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

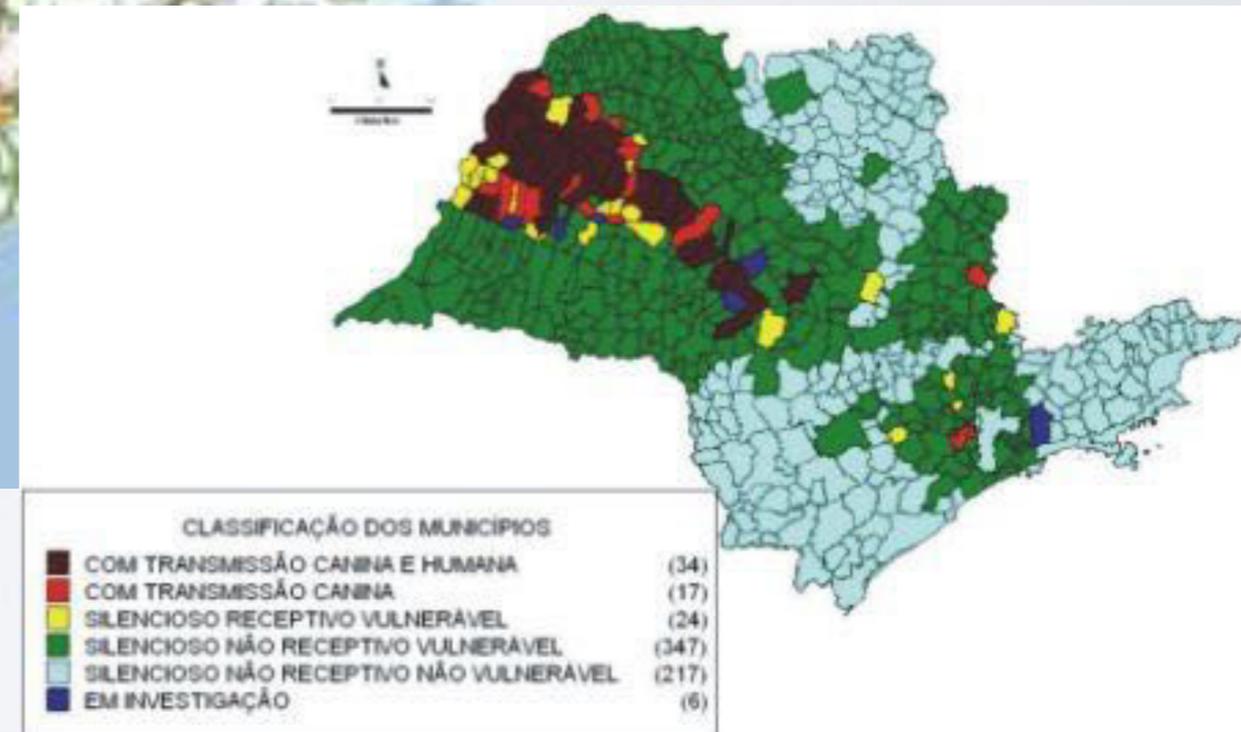


DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

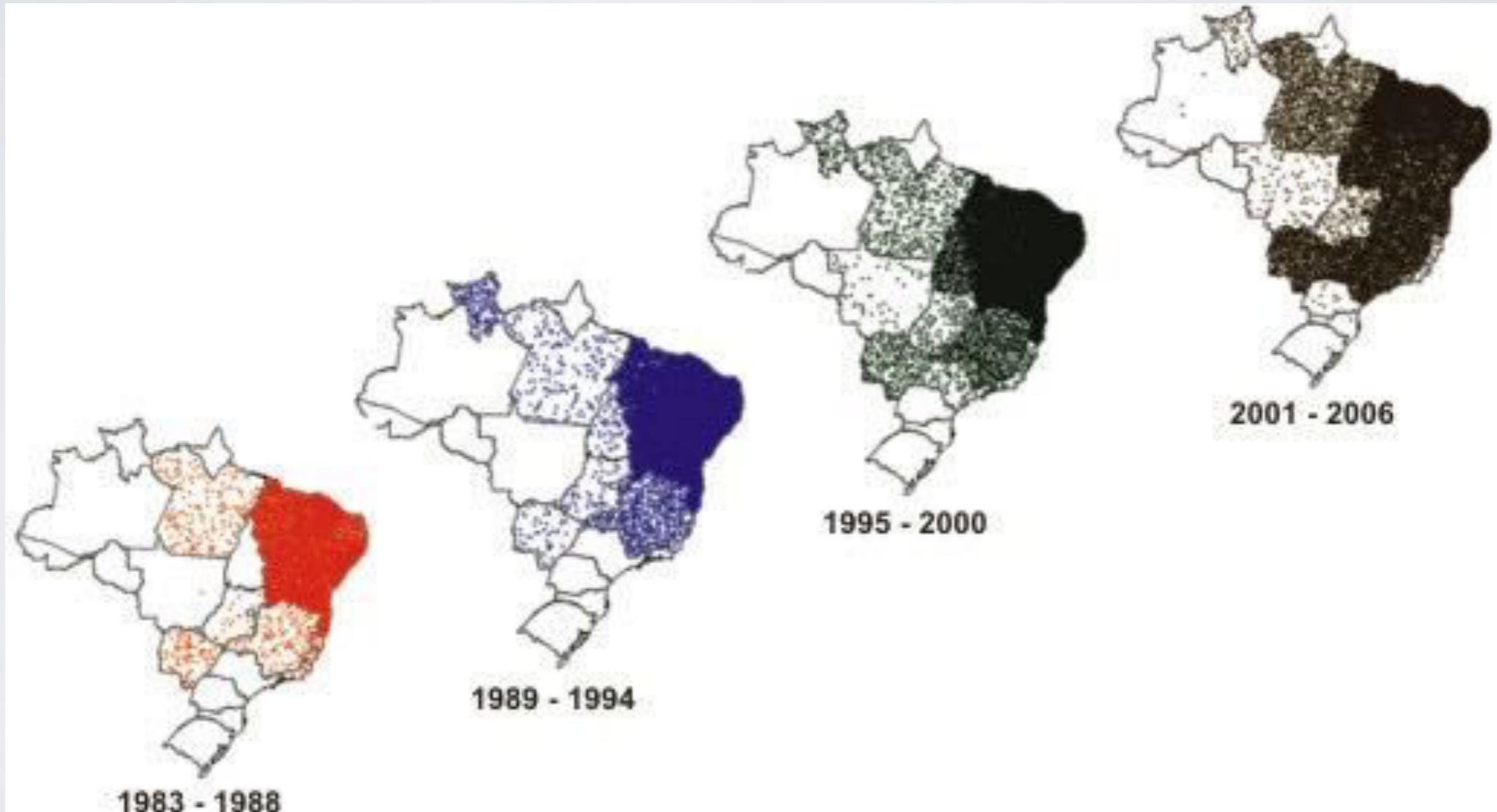
Rodovia Marechal Rondon



en.wikipedia.org/wiki/Marechal_Rondon_Highway



DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA



Fonte: SVS/MS

Figura 1. Distribuição espacial dos casos de LVA no Brasil – 1983 a 1988, 1989 a 1994, 1995 a 2000 e 2001 a 2006.

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

CÃO

- Estudos de soroprevalência mostram que na França, Espanha, Portugal e Itália - 2,5 milhões de cães infectados *L. infantum*
- Na América do sul estima-se a infecção em milhões, com relatos principalmente no Brasil e Venezuela
- Estudos realizados na Espanha, Itália, França, Grécia, com PCR e sorologia de cães sintomáticos e assintomáticos mostraram que a taxa de infecção da população canina pode chegar a 70% a 90%. Regiões onde se tem uma alta prevalência.
- Existem outras regiões a transmissão não é tão prevalente devido principalmente a condições menos favoráveis ao vetor

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

CÃO

- Idade como fator de risco: 2-4 anos e com mais de 7 anos
- Raças mais susceptíveis: Boxer, Rottweiler, Cocker Spaniel, Pastor Alemão
- Ibizan Hound - resistentes
- Estudos realizados na Europa e nas Américas com xenodiagnóstico apresentaram que cães com títulos de anticorpos anti-*Leishmania* são infectantes na alta exposição aos flebotomíneos que se alimentam
- A taxa de infecção aos flebotomíneos aumentou na presença de graves manifestações clínicas da enfermidade, níveis elevados de anticorpos e baixos níveis de células CD4+
- Esses achados corroboram com a doença clínica e altos títulos de anticorpos anti-*Leishmania* mostram correlação positiva com alta carga parasitária
- O risco de transmissão é reduzido quando se reduz a carga parasitária por meio do tratamento

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

- A principal forma de transmissão é pela picada do flebotomíneo
- Outras formas formas de transmissão são possíveis:
 - Vertical (transplacentária);
 - Transmissão venérea;
 - Transmissão por transfusão de sangue
 - Há suspeita de transmissão direta entre os cães de área onde não existe o flebotomíneo
- Transmissão por outros vetores hematófagos:
 - Carrapato (*Rhipicephalus sanguineus*) - encontrado *Leishmania* no intestino após se alimentarem, porém a competência com transmissor não foi confirmada
 - As pulgas provavelmente podem ser transmissoras, porém não se tem prova desta condição

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

- O impacto epidemiológico de outras espécies de hospedeiros vertebrados ainda não está bem estabelecido
- Gatos com alta prevalência e PCR positivo foram observados na Europa e Brasil
- Relato de canídeos silvestres, roedores, morcego, marsupiais, equinos, soroprevalência em suínos, até mesmo em uma foca. A maior parte das descrições eram em animais assintomáticos
- Aqueles que foram avaliados com capacidade de transmitir a *Leishmania* a flebotomíneos foram: Humanos, ratos, gatos, cachorro do mato e gambás.
- Cachorro do mato e Humanos apresentam baixo potencial de transmissão ao flebotoníneo sendo de pouca importância

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

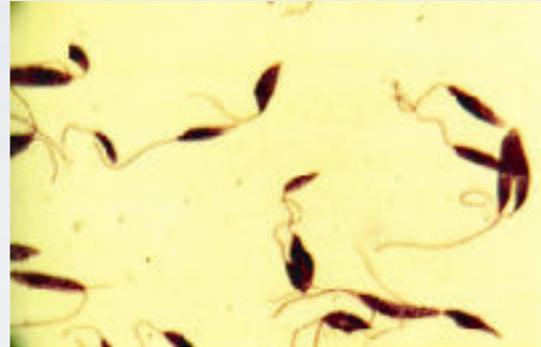


HOSPEDEIRO VERTEBRADO

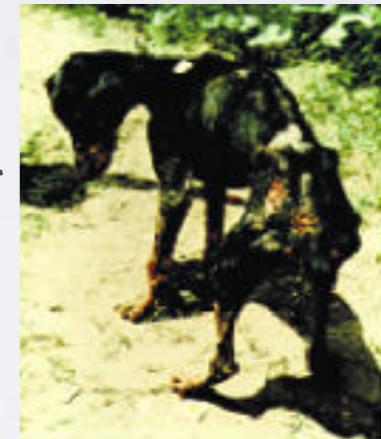
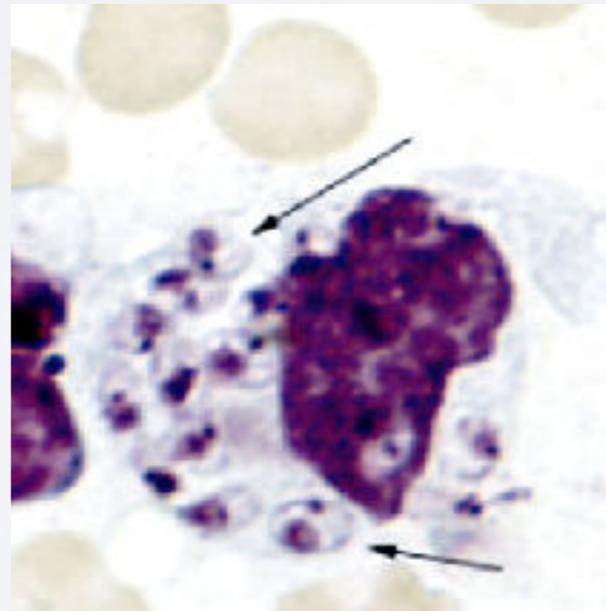


TRANSMISSÃO DA LV

VETOR



PELE DO HOSPEDEIRO



HOSPEDEIRO

Vetor



Vetor



Lutzomyia longipalpis e *Lutzomyia cruzi*

Pequeno 1 a 3 mm/ material orgânico - úmido/

/interior de abrigos/período chuvoso/

fêmeas hematófagas/crepuscular e noturna

- controle do meio ambiente
- controle - ação inseticida e repelente

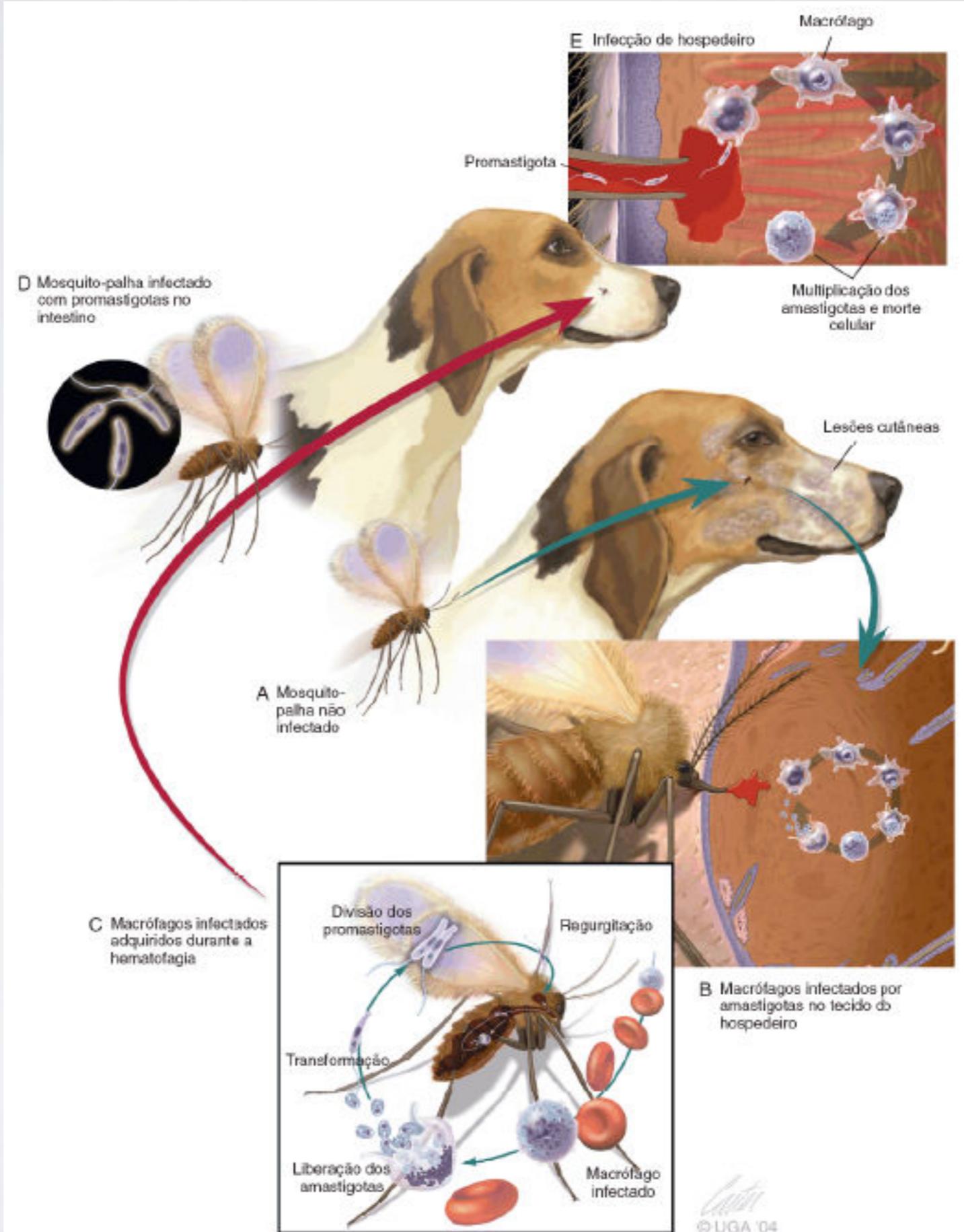


Vetor

- CONTROLE DO MEIO AMBIENTE



TRANSMISSÃO DA LV



TRANSMISSÃO DA LV

Epidemiological aspects and spatial distribution of human and canine visceral leishmaniasis in an endemic area in northeastern Brazil

Roseane Campos,¹ Márcio Santos,¹ Gabriel Tunon,¹ Luana Cunha,¹ Lucas Magalhães,¹ Juliana Moraes,¹ Danielle Ramalho,¹ Sammy Lima,² José Antônio Pacheco,² Michael Lipscomb,³ Amélia Ribeiro de Jesus,^{1,4,5} Roque Pacheco de Almeida^{1,4,5}

¹Laboratório de Biologia Molecular, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe; ²Departamento de Geologia, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe, Brazil; ³Department of Biology, Howard University, Washington, DC, USA; ⁴Departamento de Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Sergipe; ⁵Instituto de Investigação em Imunologia, Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia, São Paulo, Brazil

Abstract

Visceral leishmaniasis (VL) is a systemic disease endemic in tropical countries and transmitted through sand flies. In particular, *Canis familiaris* (or domesticated dogs) are believed to be a major urban reservoir for the parasite causing the disease *Leishmania*. The average number of human VL cases was 58 per year in the state of Sergipe. The city of Aracaju, capital of Sergipe in Northeastern Brazil, had 159 cases of VL in humans. Correlatively, the percentage of serologically positive dogs for leishmaniasis increased from 4.73% in 2008 to 12.69% in 2014.

Thus, these studies aimed to delineate the spatial distribution and epidemiological aspects of human and canine VL as mutually supportive for increased incidence. The number of human cases of VL and the frequency of canine positive serology for VL both increased between 2008 and 2014. Spatial distribution analyses mapped areas of the city with the highest concentration of human and canine VL cases. The neighbourhoods that showed the highest disease frequency were located on the outskirts of the city and in urbanised areas or subjected to development. Exponential increase in VL-positive dogs further suggests that the disease is expanding in urban areas, where it can serve as a reservoir for transmission of dogs to humans via the sand fly vector.

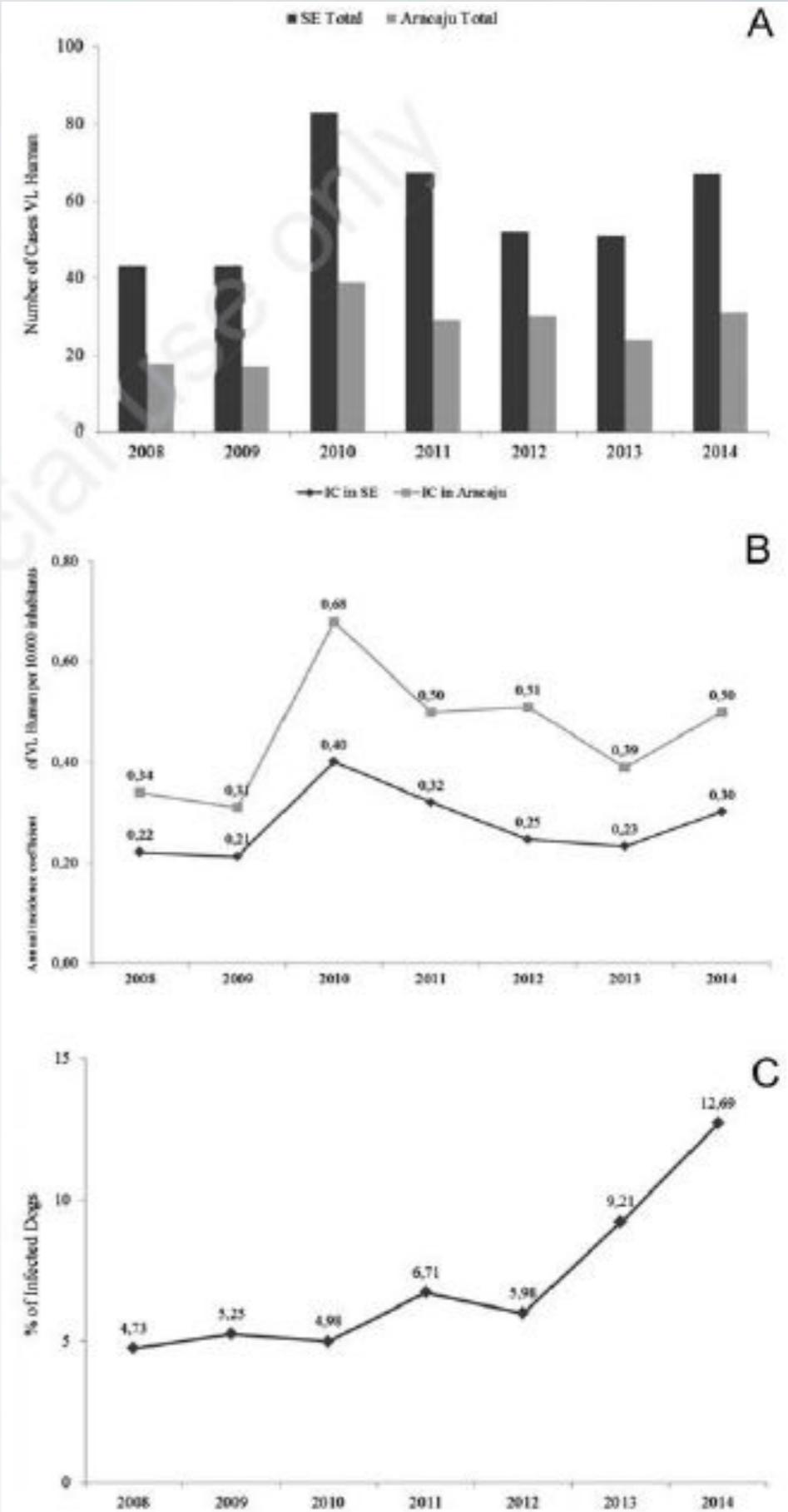


Figure 2. Total number of cases (A), annual incidence rates (B) of human visceral leishmaniasis cases and (C) percentage of dogs with positive serological tests for visceral leishmaniasis in the city of Aracaju and the state of Sergipe, Brazil, 2008-2014.

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



Manifestações clínicas

Assintomático

Lesões cutâneas (nódulos, feridas ulcerativas, alopecia e crostas); gengivo-estomatite;

Linfadenomegalia

Perda de peso

Lesões oculares (conjuntivite/ceratite/uveíte)



HOSPEDEIRO VERTEBRADO

Manifestações clínicas

Miró et al. *Parasites & Vectors* 2014, 7:112
<http://www.parasitesandvectors.com/content/7/1/112>



RESEARCH

Open Access

Current status of *L. infantum* infection in stray cats in the Madrid region (Spain): implications for the recent outbreak of human leishmaniasis?

Guadalupe Miró^{1*}, Cristina Rupérez¹, Rocío Checa¹, Rosa Gálvez¹, Leticia Hernández¹, Manuel García², Isabel Carroera¹, Valentina Marino¹ and Ana Montoya¹

346 gatos de rua avaliados
326 - saudáveis
20 - manifestações indicativas de LV

RIFI > 1:100
346/11 (3,2)

11 soro LV: 3 FIV
Nenhum FELV
6 Toxo

Feline and canine leishmaniasis and other vector borne diseases in the Aeolian Islands: pathogen and vector circulation in a confined environment

Domenico Otranto^{1*}, Ettore Napoli², Maria Stefania Latrofa¹, Giada Annoscia¹, Viviana Domenica Tarallo¹, Grazia Greco¹, Eleonora Lorusso¹, Laura Gulotta³, Luigi Falsone³, Fabrizio Solari Basano⁴, Maria Grazia Pennisi², Katrin Deuster⁵, Gioia Capelli³, Filipe Dantas Torres^{1,6}, Emanuele Brianti¹

¹Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Str. prov. per Casamassima km 3 70010 Valenzano, Bari, Italy

²Dipartimento di Scienze Veterinarie, Università degli Studi di Messina, Polo Universitario Annunziata 98168 Messina, Italy

³Veterinary practitioner, Ambulatorio Veterinario S. Lucia, Via F. Chiappi 56, Lipari, 98055, Messina, Italy

⁴Arcoblu s.r.l., Milano, Italy

⁵Bayer Animal Health GmbH, Leverkusen, Germany

⁶Istituto Zooprofilattico Sperimentale delle Venezie, 35020 Legnaro, Italy

⁷Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, Brazil

HOSPEDEIRO VERTEBRADO

Manifestações clínicas



<http://medfelina.blogspot.com.br/2010/06/leishmaniose-felina.html>



HOSPEDEIRO VERTEBRADO

Manifestações clínicas



HOSPEDEIRO VERTEBRADO



Epidemiologia

Transmissão pelo flebotomíneo

- 2007-2008: 142 gatos / 152 cães (Lisboa)

RIFI

138 amostras felinas - 28 reagentes (20,3%)

152 amostras de cães - 53 reagentes (34,9%)

PCR - sangue

92 amostras de felinos - 17 positivos (18,5%)

137 amostras de cães - 43 positivas (31,4%)

No período de transmissão (junho - setembro)

cães - (60%)

gatos - (22%)



wscorn



Short communication

Feline *Leishmania* infection in a canine leishmaniasis endemic region, Portugal

C. Maia^{a,b,c}, J. Gomes^c, J. Cristóvão^d, M. Nunes^a, A. Martins^e, E. Rebêlo^c, L. Campino^a

^a Instituto de Investimentos, Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT), Universidade Nova de Lisboa, IUM, Rua de Jacinto Freixo, 160, 1349-0181 Lisboa, Portugal

^b Centro Nacional de Estudos Parasitológicos e Entomológicos, IAHM, LISBOA, PORTUGAL

^c Laboratório de Parasitologia, Laboratório Nacional de Investigação Veterinária, Instituto Nacional de Recursos Alimentares, LISBOA, PORTUGAL

^d Centro Veterinário Veterinária, Setúbal, PORTUGAL

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



Epidemiologia

- Gatos permanecem não reagentes
- Sub-estima o número de animais com a enfermidade
- Não ocorre desequilíbrio entre o sistema imunológico semelhante ao cão
- Maioria assintomático

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



Diagnóstico

Exames inespecíficos

Hemograma

Anemia Normocítica Normocrômica

Bioquímica

Alteração das enzimas hepáticas

Perfil renal

Hipoalbuminemia

Hiperproteinemia (hipergamaglobulinemia)

Lesões

Diferenciar de:

- carcinoma;
- lesões fúngicas
- vasculite

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



Diagnóstico

Exames específicos

Sorologia (RIFI)

não confiável (baixa soroconversão)

Citologia (Linfo/MO)

Imunoistoquímica (tecidos acometidos)

Cultura (Pele/Linf/MO)

PCR (Linf./MO/Pele/Swab conjuntiva)

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



ISSN 0102-5716 ISSN Eletrônico 2176-3764

Veterinária e Zootecnia 216

Leishmania infantum (syn. *chagasi*) INFECTION IN CATS FROM A BRAZILIAN SOUTHEASTERN ENDEMIC AREA FOR CANINE AND HUMAN LEISHMANIASIS

Luciana C Baldini-Peruca¹
Simone Baldini Lucchis²
Rozeani O Tomé¹
Virginia Bodeldo Richini-Pereira³
Ana Paula F. L. Correa¹
Marcella Z Troncarelli¹
Rodrigo Costa da Silva⁴
Helio Langoni¹*

ABSTRACT

Visceral leishmaniasis (VL) is an important zoonosis caused by *Leishmania infantum* (syn. *chagasi*) in Americas and transmitted by *Lutzomyia longipalpis*, genus phlebotomines. The diagnosis of *Leishmania* infection in cats is very important to better comprehend the role of felines on VL's epidemiological chain. This study aimed to determine the occurrence of *L.*

Foram avaliados 109 gatos domésticos

Gatos que apresentam livre acesso a rua tem 2,9 x mais chance de adquirir a doença

Perda de peso/emaciação/linfo/hepato e esplenomegalias

100/109 - ausência de manifestações clínicas

RIFI - 1:40 - 3 amostras

PCR sangue- 17 amostras

Hemocultura - 52 amostras positivas para parasitos flagelados

HOSPEDEIRO VERTEBRADO



ELSEVIER

Available online at www.sciencedirect.com



Veterinary Parasitology 145 (2007) 357–360

veterinary
parasitology

www.elsevier.com/locate/vetpar

Short communication

Infection of sandflies by a cat naturally infected with *Leishmania infantum*

Michele Maroli ^{a,*}, Maria Grazia Pennisi ^b, Trentina Di Muccio ^a,
Cristina Khoury ^a, Luigi Gradoni ^a, Marina Gramiccia ^a

^a Unit of Vector-borne Diseases and International Health, MIPI Department, Istituto Superiore di Sanità, Rome, Italy

^b Department of Veterinary Medical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Messina, Italy

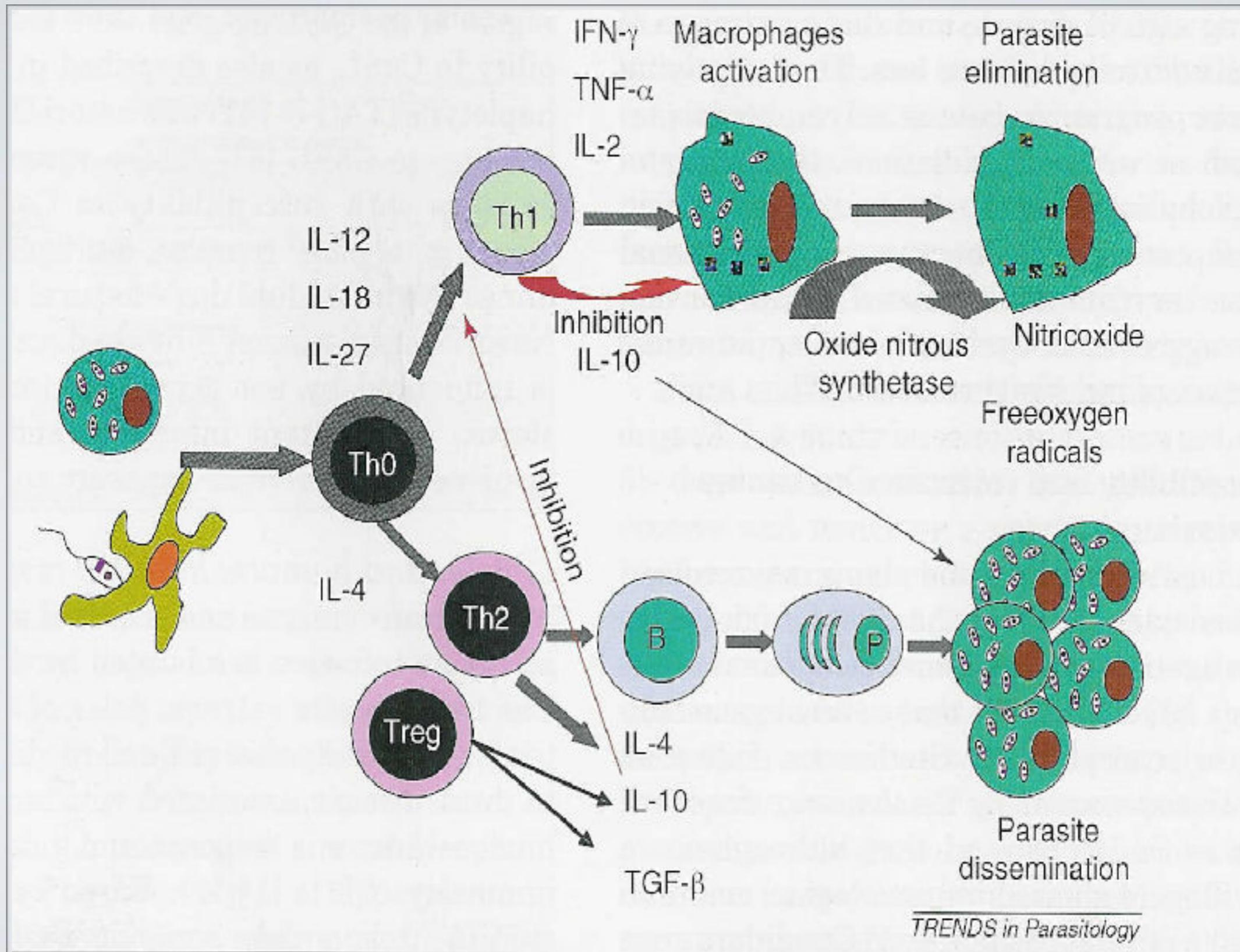
Received 12 September 2006; received in revised form 9 November 2006; accepted 14 November 2006

Abstract

Despite the recent reports of feline leishmaniosis from Southern Europe, cats are still regarded as unusual *Leishmania* hosts. A cat found chronically infected with *Leishmania* was submitted to xenodiagnosis. After being sedated, the animal was exposed to the bite of 100 laboratory-reared *Phlebotomus perniciosus* in a fine net cage for 90 min. Four out of 19 blood-fed sandflies (21%) showed motile promastigotes at the dissection. Parasites cultured from cat's lymph node and an infected fly were identical at PCR-RFLP genotyping and identified as *Leishmania infantum* MON-1, the main zymodeme responsible for human and canine leishmaniosis in Southern Europe. This is the first evidence of transmissibility of feline parasites to a proven vector, suggesting that cats may represent an additional domestic reservoir for *L. infantum*.



RESPOSTA IMUNOLÓGICA



RESPOSTA IMUNOLÓGICA



Contents lists available at ScienceDirect

Veterinary Immunology and Immunopathology

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vetimm



Research paper

Expression of IFN- γ , TNF- α , IL-10 and TGF- β in lymph nodes associates with parasite load and clinical form of disease in dogs naturally infected with *Leishmania (Leishmania) chagasi*

Cíntia F. Alves^a, Izabela F.G. de Amorim^b, Eliane P. Moura^b, Raul R. Ribeiro^a, Cibele F. Alves^c, Marilene S. Michalick^a, Evanguedes Kalapothakis^d, Oscar Bruna-Romero^e, Wagner L. Tafuri^b, Mauro M. Teixeira^f, Maria N. Melo^{a,*}

^aDepartamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^bDepartamento de Patologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^cLaboratório Tafuri de Patologia, 30170-131, R. São Paulo 893, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^dDepartamento de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^eDepartamento de Microbiologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

^fDepartamento de Bioquímica e Imunologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Antônio Carlos 6627, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 1 August 2008

Received in revised form 29 October 2008

Accepted 3 November 2008

Keywords:

Cytokines

Leishmania chagasi

Real-time PCR

Prescapular lymph nodes

ABSTRACT

American visceral leishmaniasis is a zoonosis of the New World. Dogs are the main reservoir of the disease and there is much interest in the understanding of mechanisms implicated in protection against canine infection. Nevertheless, most studies in dogs have not been carried out in organs that are targets of infection. This work is first to report the profile of cytokines and parasite burdens, as determined by real-time PCR, in the lymph nodes of dogs naturally infected with *Leishmania chagasi*. With this purpose, 18 mongrel dogs were divided in three groups: control non-infected dogs ($n = 6$) and naturally infected animals with *L. chagasi*, asymptomatic ($n = 6$) and symptomatic ($n = 6$). Parasite burden in lymph nodes was 73-fold greater in symptomatic than asymptomatic animals. Prescapular lymph nodes of asymptomatic dogs had the highest expression of IFN- γ and TNF- α and low parasite burden, indicating that these cytokines play a role in protection against infection. Highest expression of IL-10 and TGF- β and high parasite burden were observed in symptomatic dogs, suggesting a role for these cytokines in the progression of disease. Hence, the balance of expression of IFN- γ and TNF- α (protective) and IL-10 and TGF- β (disease progression) in lymph nodes determine parasite burden and clinical expression in naturally infected dogs.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

DOENÇA SISTÊMICA CRÔNICA

DOENÇA SISTÊMICA AGUDA (GRAVE)

DOENÇA LATENTE (2 ANOS)

- Mancianti et al, 1988
- Forma polissintomática: todos ou alguns dos sinais severos da doença
- Forma oligossintomática: adenopatia linfóide, pequena perda de peso e/ou pelagem sem brilho
- Forma assintomática: ausência de sintomas sugestivos da doença; 40 a 60% de uma população infectada

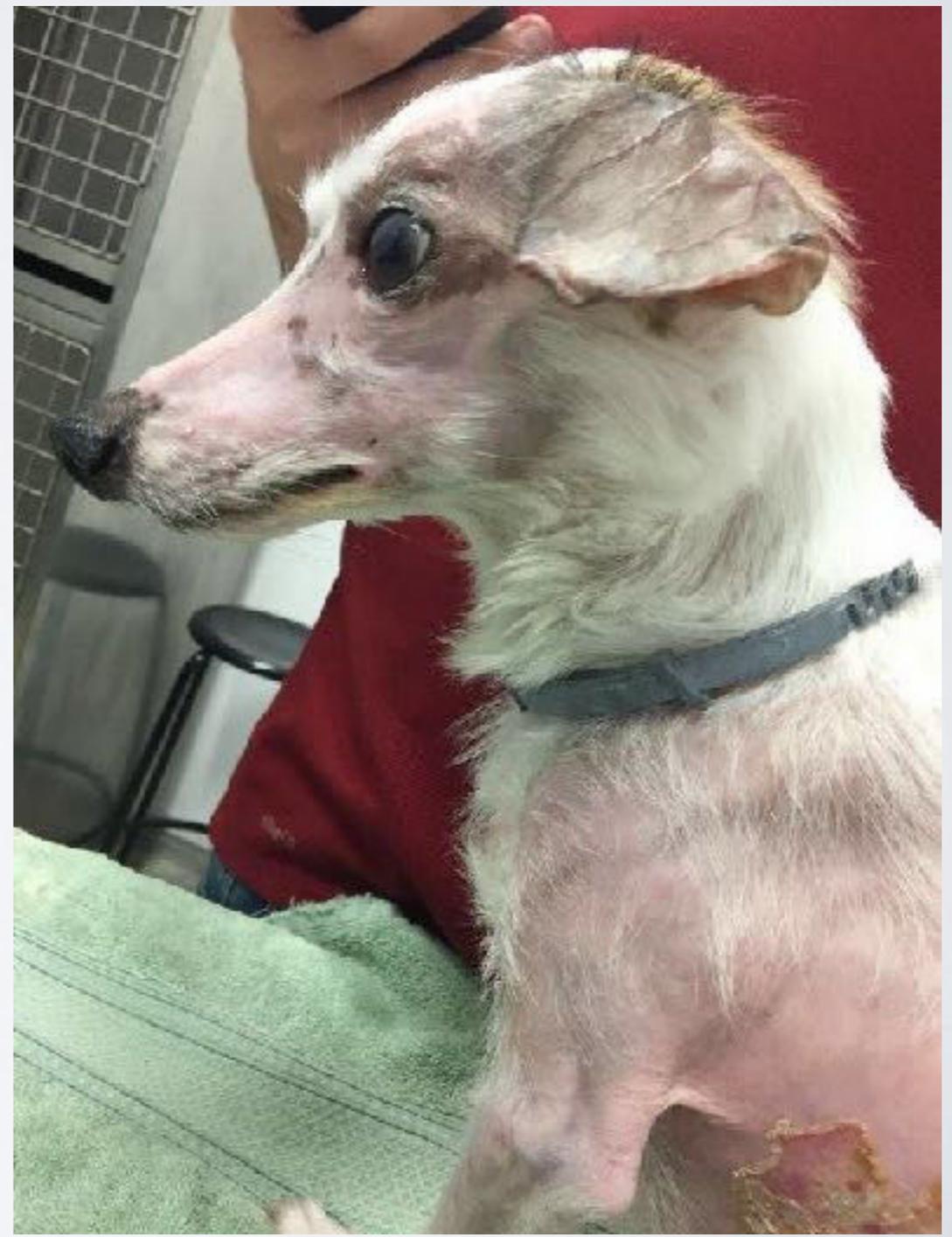
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

Assintomático



X

Sintomático



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

● **GERAIS**

- Linfadenomegalia generalizada
- Perda de peso
- Diminuição ou perda do apetite
- Letargia
- Mucosa pálida
- Esplenomegalia
- Poliúria e polidipsia
- Febre
- Vômito
- Diarréia (colite crônica)

DERMATOLÓGICAS

- Dermatite esfoliativa não pruriginosa com ou sem alopecia
- dermatite ulcerativa erosiva
- dermatite nodular
- dermatite papular
- dermatite pustular
- onicogribose

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

● **OCULARES**

- Blefarite (esfoliativa, ulcerativa ou nodular) e conjuntivite
- Ceratconjuntivite
- Uveite anterior/endoftalmias

● **OUTROS**

- Feridas ulcerativas em mucosa ou mucocutâneas ou lesões nodulares (oral, genital e nasal)
- Epistaxe
- claudicação (poliartrite, osteomielite e polimiosite)
- Miosite atrófica mastigatória
- Desordens vasculares (vasculite sistêmica e tromboembolismo)
- Desordens neurológicas

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Assintomático 60%

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Figuera, R. UFSM



Fonte: MoreiraMAB UAM



Fonte: Nogueira, FS



Fonte: Figuera, R. UFSM

Lesões dermatológicas 80%

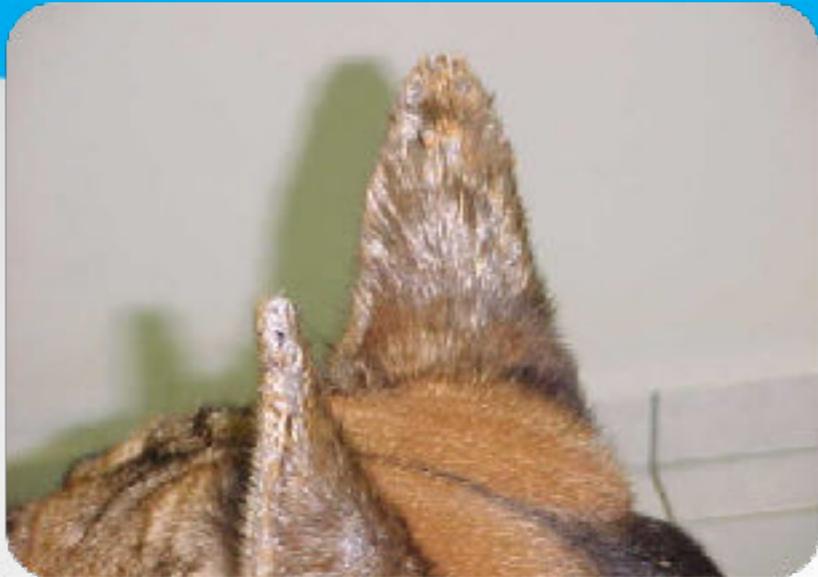
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

Lesões dermatológicas



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

Lesões dermatológicas



Fonte: Nogueira, FS



Fonte: Figuera, R. UFSM



Fonte: Moreira MAB UAM



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

Lesões dermatológicas



Fonte: Nogueira, FS



Fonte: Moreira MAB UAM

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Moreira MAB UAM



Fonte: Figuera, R. UFSM

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



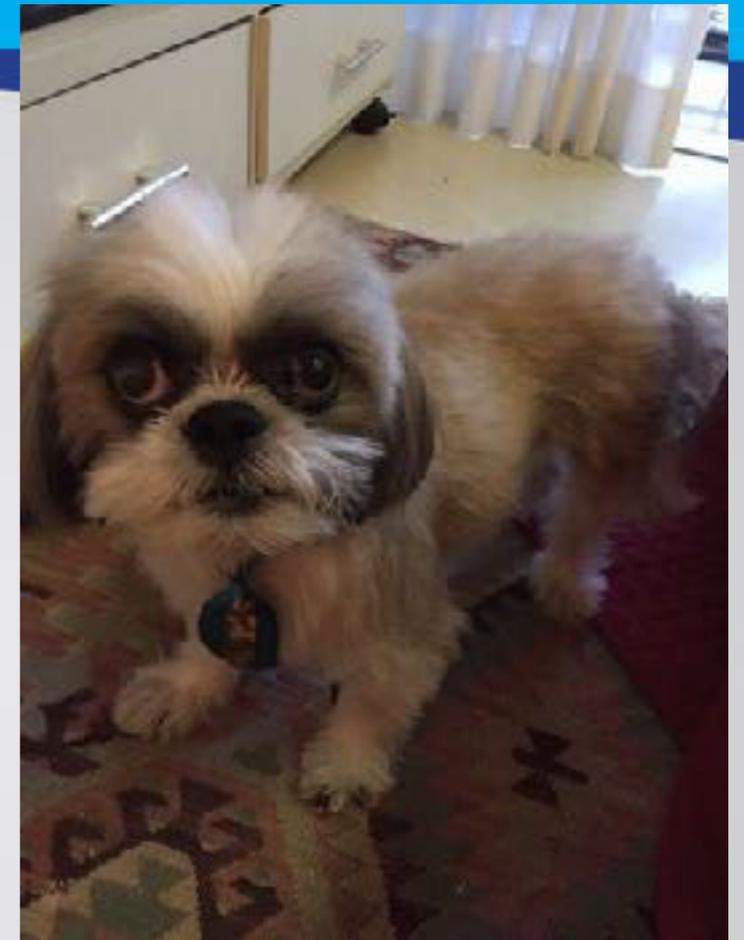
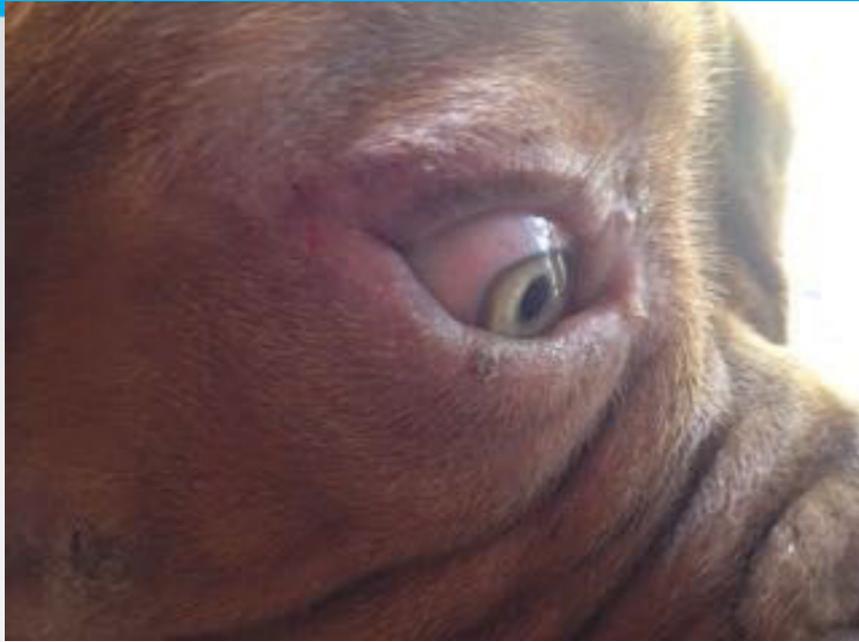
Fonte: Moreira, MAB; Nogueira, FS



Fonte: Figuera, R. UFSM

Linfadenomegalia 80%

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Shap

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Emagrecimento e atrofia muscular



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



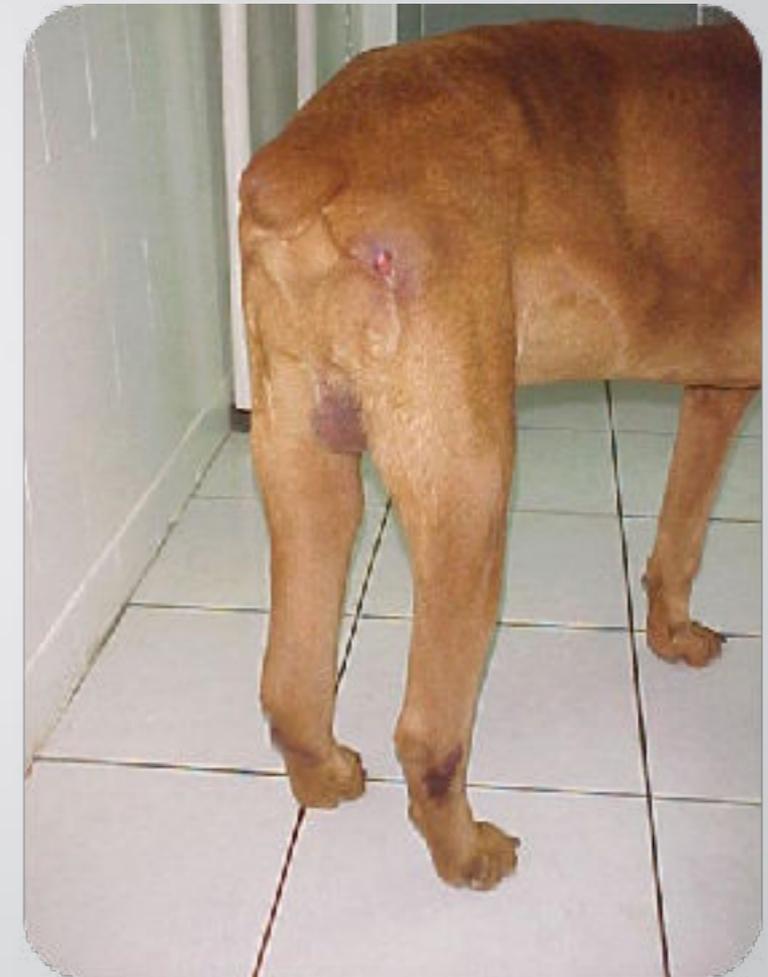
Fonte: Moreira, MAB, Nogueira, FS

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Nogueira, FS

Hepatopatias



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Nogueira, FS



Fonte: Figuera, R. UFSM



MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



LVC + Demodicose

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Moreira, MAB



Fonte: Figuera, R. UFSM

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Moreira, MAB

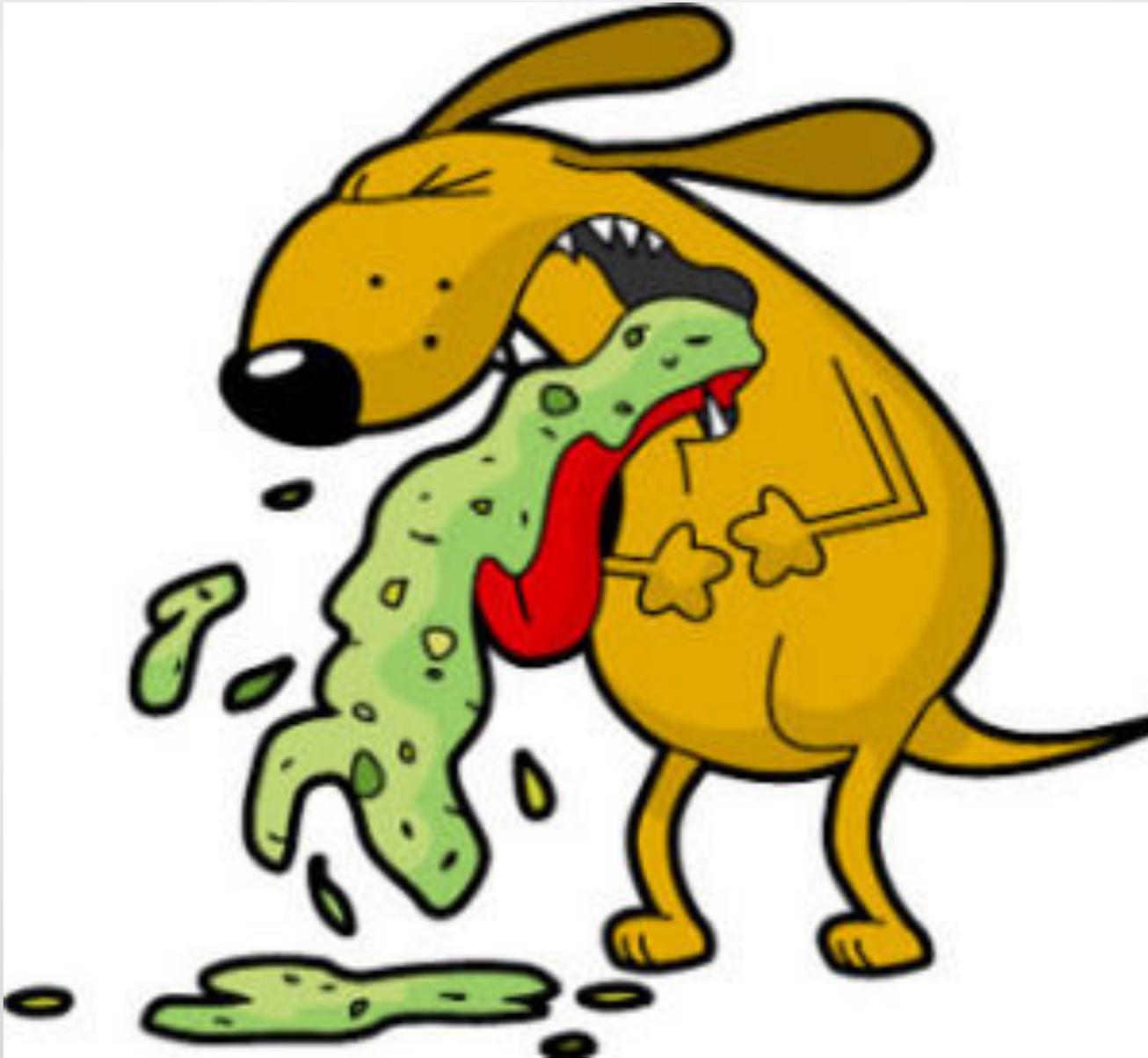
MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC



Fonte: Moreira, MAB

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NA LVC

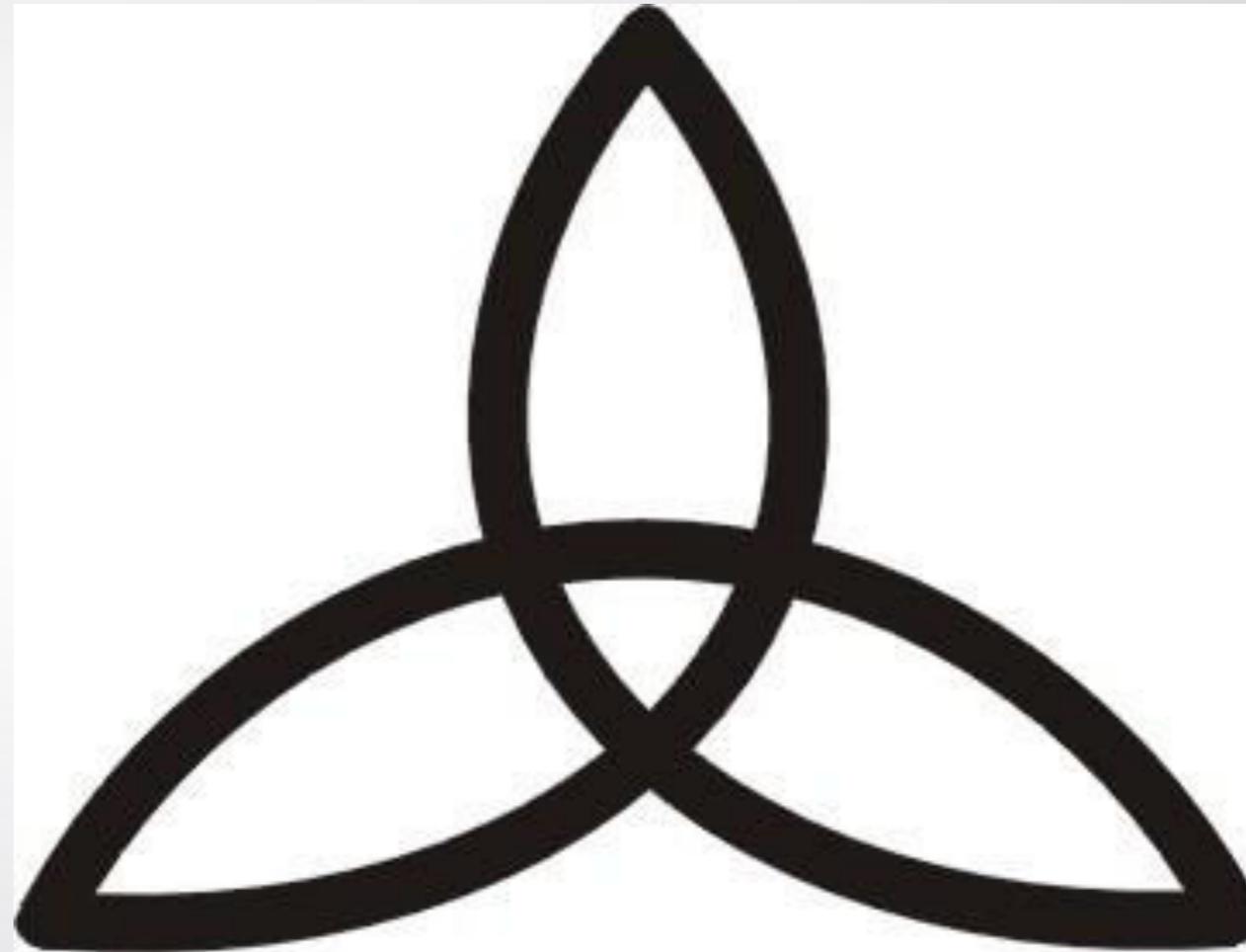
Êmese e diarreia



DIAGNÓSTICO NA LVC



Clínico



Epidemiológico

Laboratorial

DIAGNÓSTICO NA LVC



EPIDEMIOLOGICO

ANAMNESE

Região onde mora ????

Cidade do canil ????

Costuma viajar para regiões consideradas endêmicas ????



DIAGNÓSTICO NA LVC

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS

Manifestações Clínicas	Sintomático		Formas Clínicas	
	N	(%)	Oligossintomático	Assintomático
Linfadenomegalia	40/41	(97,56)	9/25 (36,00)	0/23 (0)
Emagrecimento	29/41	(70,73)	15/25 (60,00)	0/23 (0)
Alt. Dermatológicas	26/41	(63,41)	8/25 (32,00)	0/23 (0)
Onicogrifose	21/41	(51,22)	3/25 (12,00)	0/23 (0)
Apatia	18/41	(43,90)	1/25 (4,00)	0/23 (0)
Anemia	12/41	(29,27)	0/25 (0)	0/23 (0)
Hipertermia	9/41	(21,95)	0/25 (0)	0/23 (0)
Hepatomegalia	8/41	(19,51)	0/25 (0)	0/23 (0)
Diarréia	7/41	(17,07)	0/25 (0)	0/23 (0)
Pneumonia	6/41	(14,63)	0/25 (0)	0/23 (0)
Esplenomegalia	5/41	(12,20)	0/25 (0)	0/23 (0)
Alt. Neurológicas	3/41	(7,32)	0/25 (0)	0/23 (0)

DIAGNÓSTICO NA LVC

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS



DIAGNÓSTICO NA LVC

LABORATORIAL

- ✱ **Clinicopatológico**
- ✱ **Sorológico**
- ✱ **Parasitológico**
- ✱ **Molecular**



DIAGNÓSTICO NA LVC



Principais alterações hematológicas:

CLINICOPATOLÓGICO

- Eritrograma

Anemia (normocítica normocrômica)

Anemia arregenerativa

Anemia imunomediada (Atg-Atc – complemento)

Trombocitopenia

- Leucograma

Neutrofilia

Neutropenia

Leucocitose

Leucopenia

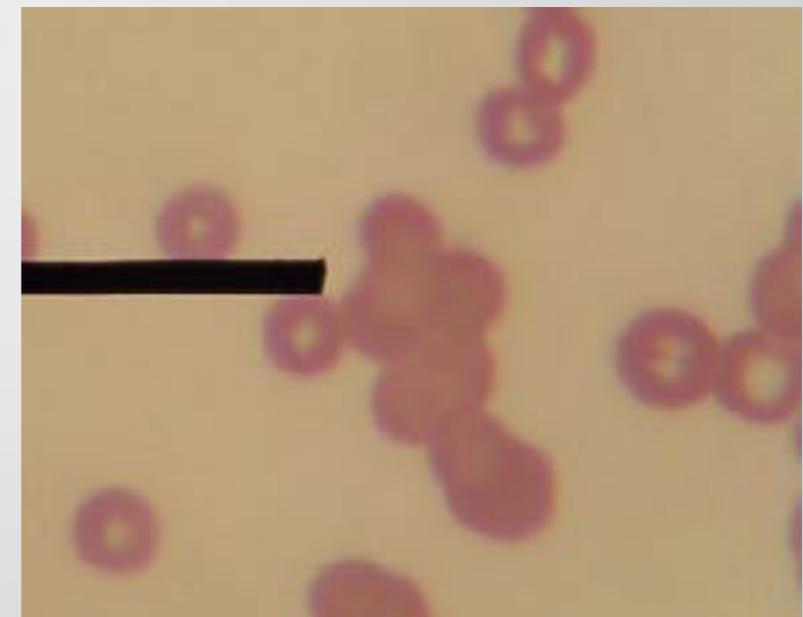
Neutropenia

Monócitos e linfócitos

- Hemostasia:

Aumento no tempo de coagulação: Vasculite, uremia, ins.

Hepatica,



Shaping the future of animal health



CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DA ANEMIA

VCM – Volume corpuscular médio

$$\text{VCM} = \frac{\text{Ht}}{\text{He}} \times 10^6 \quad \mu^3$$

He

HCM – Concentração de hemoglobina média

$$\text{HCM} = \frac{\text{Hb}}{\text{He}} \times 100 \quad \gamma\gamma$$

He

CHCM – Concentração de hemoglobina corpuscular média.

$$\text{CHCM} = \frac{\text{Hb}}{\text{Ht}} \times 100 \quad \%$$

Ht

CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DA ANEMIA

Classificação morfológica: VCM e CHCM

Regenerativa

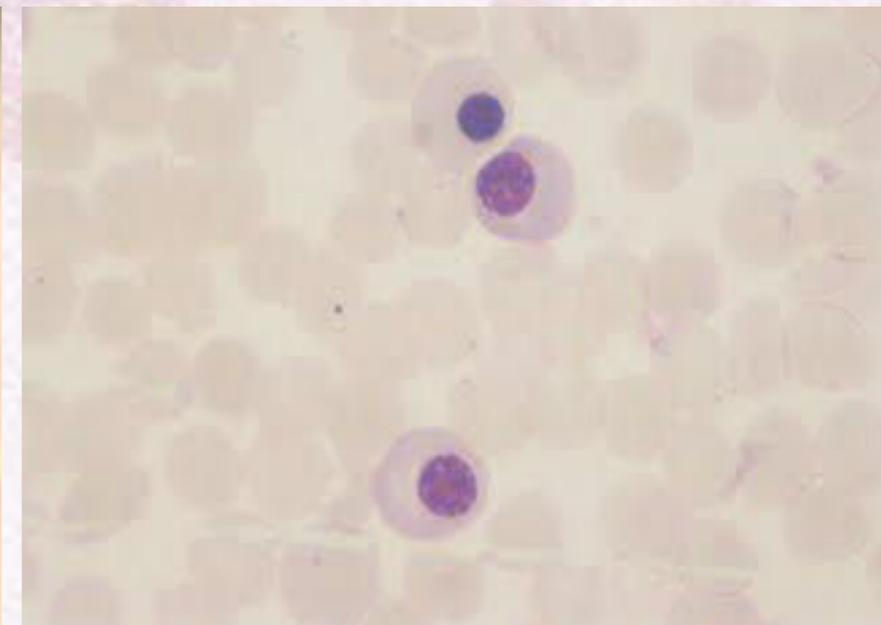
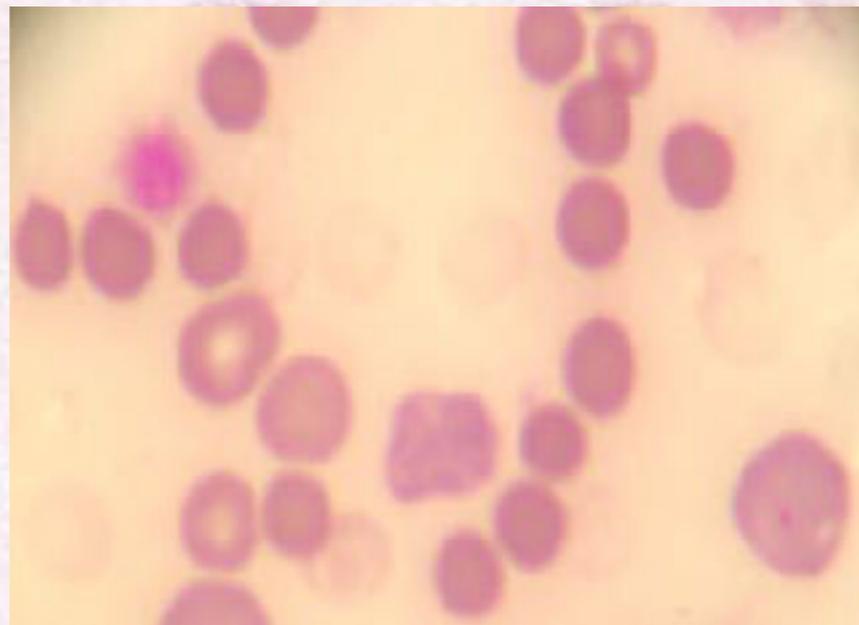
Macroscítica/
Hipocrômica

**Achados
Indicativos**

**Sempre
realizar CCR**

Arregenerativa

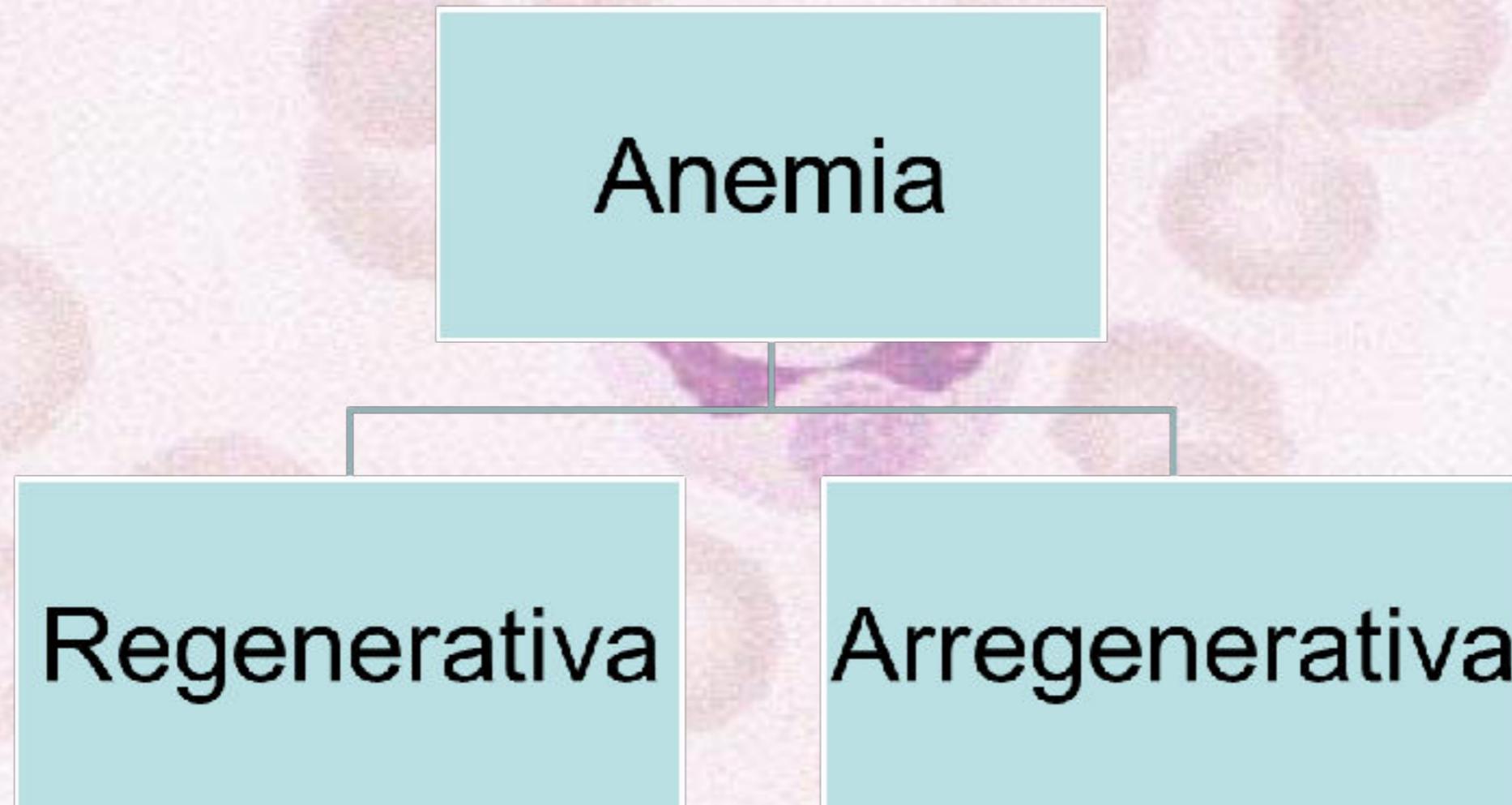
Microscítica/
Normocrômica
Normocítica/
Normocrômica



CLASSIFICAÇÃO MORFOLÓGICA DA ANEMIA

<i>VCM</i>	<i>CHCM</i>	<i>Características</i>
MACROCÍTICA	HIPOCRÔMICA	Sempre regenerativas Perda aguda de sangue/anemia hemolítica aguda
	NORMOCRÔMICA	Def. vit. B12, ác. fólico, niacina Problemas nos fatores de multiplicação (\downarrow ÷) hemogl. pode estar normal
MICROCÍTICA	HIPOCRÔMICA	Defic. de Ferro por perda: - Perda crônica de sangue : tumores, úlceras - Parasitas : <i>Ancylostoma</i> , <i>Haemonchus</i>
		Defic. de ferro por fatores que atuam no seu uso - Piridoxina, riboflavina, Cobre
MICROCÍTICA	NORMOCRÔMICA	Doença infecc. crônica Nefrite com uremia
NORMOCÍTICA	NORMOCRÔMICA	Hemorragia sem resposta Leucemias : invasão da med. óssea
	HIPOCRÔMICA	Anemias hipoplásticas : radiação, antibióticos Intoxicação : Chumbo, drogas

CLASSIFICAÇÃO QUANTO À CAPACIDADE DE REGENERAÇÃO



CLASSIFICAÇÃO QUANTO À CAPACIDADE DE REGENERAÇÃO

Contagem de Reticulócitos:

Número total de reticulócitos

Contagem Absoluta = % reticulócitos observados x número de hemácias

Grau de Regeneração	Cão	Gato (Agregados)	Gato (Pontilhados)
Nenhum	60.000 ul	< 15.000 ul	< 200.000 ul
Leve	150.000 ul	50.000 ul	500.000 ul
Moderado	300.000 ul	100.000 ul	1.000.000 ul
Marcante	> 500.000 ul	> 200.000 ul	1.500.000 ul

CONTAGEM CORRIGIDA DE RETICULÓCITOS

$$\text{CCR} = \frac{\text{Ht do paciente}}{\text{Ht da espécie}^*} \times \% \text{ reticulócito}$$

*(45% cães / 37% gatos)

Confirma a regeneração

CLASSIFICAÇÃO QUANTO À CAPACIDADE DE REGENERAÇÃO

- **Contagem corrigida de reticulócitos (CCR)**

CCR = HT (%) x Contagem de reticulócitos

Ht normal da espécie (45% cão e 37% gato)

- **> 1,0% cão: anemia regenerativa**
- **> 2,5% cão: boa regeneração**
- **> 0,4% reticulócitos agregados no gato = anemia regenerativa**

CLASSIFICAÇÃO QUANTO À CAPACIDADE DE REGENERAÇÃO

Quadro para classificação etiológica rápida da anemia

Nome da anemia	HEMORRÁGICA ¹	HEMOLÍTICA	DEPRESSÃO MEDULAR	DEFICIÊNCIA NUTRICIONAL
Causa	Perda de sangue	Destruição de hemácias	Hiproliferação medular	
Hematócrito	Diminuído			
Proteína total	Diminuída	Normal ou elevada	Normal	Normal
Regeneração ²	Presente		Ausente	
Outros achados	-	Hemoglobinemia Hemoglobinúria Anisocitose Hemoparasitas Autoaglutinação	-	
Causas	Trauma Dicumarínicos Lesões TGI Parasitas hematófagos		Processo inflamatório crônico Infecções (PIF, parvovirose, FIV, Ehrlichia,) Estrógenos Cloranfenicol	Deficiência de folato, vitamina B ₁₂ , ferro, etc.

(1) A diminuição nos valores do hematócrito e proteína total podem levar de 24 a 72 horas para ocorrer, refletindo a hemodiluição subsequente.

(2) Anisocitose e policromasia intensas + alta contagem de reticulócitos

DIAGNÓSTICO NA LVC



CLINICOPATOLÓGICO

- Perfil renal

- Urinálise

Hematúria

Proteinúria > 50% casos

Relação Pr:Cr urinária

- Aumento dos valores de Uréia e Creatinina – estágios mais graves

Glomerulonefrite

- Perfil Hepático

- Aumento de ALT e FA (Hepatite ativa crônica)

- Icterícia, ascite e edema ocorre em estágios avançados da doença.



Estadiamento da DRC



IRIS Staging of CKD (modified 2016)

1. Staging of CKD based on blood creatinine concentration

Staging is undertaken following diagnosis of chronic kidney disease (CKD) in order to facilitate appropriate treatment and monitoring of the patient

Staging is based initially on fasting blood creatinine concentration, assessed on at least two occasions in the stable patient. The patient is then substaged based on proteinuria and blood pressure

Separate but related algorithms for staging and substaging CKD in cats and dogs are available on pages 6 - 9 of this document.

Using these criteria, some empirical recommendations can be made about the type of treatment it would be logical to use for these cases. In addition, predictions based on clinical

DIAGNÓSTICO NA LVC

Estadiamento da DRC

CLINICOPATOLÓGICO



Stage	Blood Creatinine		Comments
	Dogs	Cats	
At Risk	<125 <1.4	<140 <1.6	History suggests the animal is at increased risk of developing CKD in the future because of a number of factors (such as, exposure to nephrotoxic drugs, breed, high prevalence of infectious disease in the area, or old age).
1	<125 <1.4	<140 <1.6	Nonazotemic. Some other renal abnormality present (such as, inadequate urinary concentrating ability without identifiable nonrenal cause, abnormal renal palpation or renal imaging findings, proteinuria of renal origin, abnormal renal biopsy results, increasing blood creatinine concentrations in samples collected serially).
2	125-180 1.4-2.0	140-250 1.6-2.8	Mild renal azotemia (lower end of the range lies within reference ranges for many laboratories, but the insensitivity of creatinine concentration as a screening test means that animals with creatinine values close to the upper reference limit often have excretory failure). Clinical signs usually mild or absent.
3	181-440 2.1-5.0	251-440 2.9-5.0	Moderate renal azotemia. Many extrarenal clinical signs may be present.
4	>440 >5.0	>440 >5.0	Increasing risk of systemic clinical signs and uraemic crises

Note these blood creatinine concentrations apply to average size dogs – those of extreme size may vary

IRIS website made possible by



Dosar no mínimo duas vezes com cão ou gato estável

DIAGNÓSTICO NA LVC

Estadiamento da DRC

CLINICOPATOLÓGICO



SDMA - DIMETILARGININA SIMÉTRICA

Forma mutilada do aminoácido arginina que é liberada para a circulação durante a degradação de proteínas e eliminada pelos rins

Um estudo demonstrou que a SDMA aumenta, em média, quando há perda de 40% da função renal e consistentemente meses anteriores à creatinina em gatos com ocorrência natural da DRC (HALL et al., 2014)

A SDMA não é influenciada pela massa corporal magra e, portanto, reflete com mais precisão a TFG em gatos geriátricos, ao contrário da creatinina sérica, que diminuiu com envelhecimento (HALL et al., 2014)

DEVE SER AVALIADA COM AS DOSAGENS DE CREATININA/URÉIA E URINÁLISE

DIAGNÓSTICO NA LVC

Estadiamento da DRC

CLINICOPATOLÓGICO



SDMA - DIMETILARGININA SIMÉTRICA

APRESENTA ESTABILIDADE DE 7 DIAS A TEMPERATURA AMBIENTE E 14 DIAS A 4°C

AUMENTA QUANDO APROX. 40% DOS RINS ESTÃO COMPROMETIDOS

APRESENTA 2,4 VEZES MAIOR A CAPACIDADE DE DETECTAR A DRC QUANDO COMPARADO A CREATININA

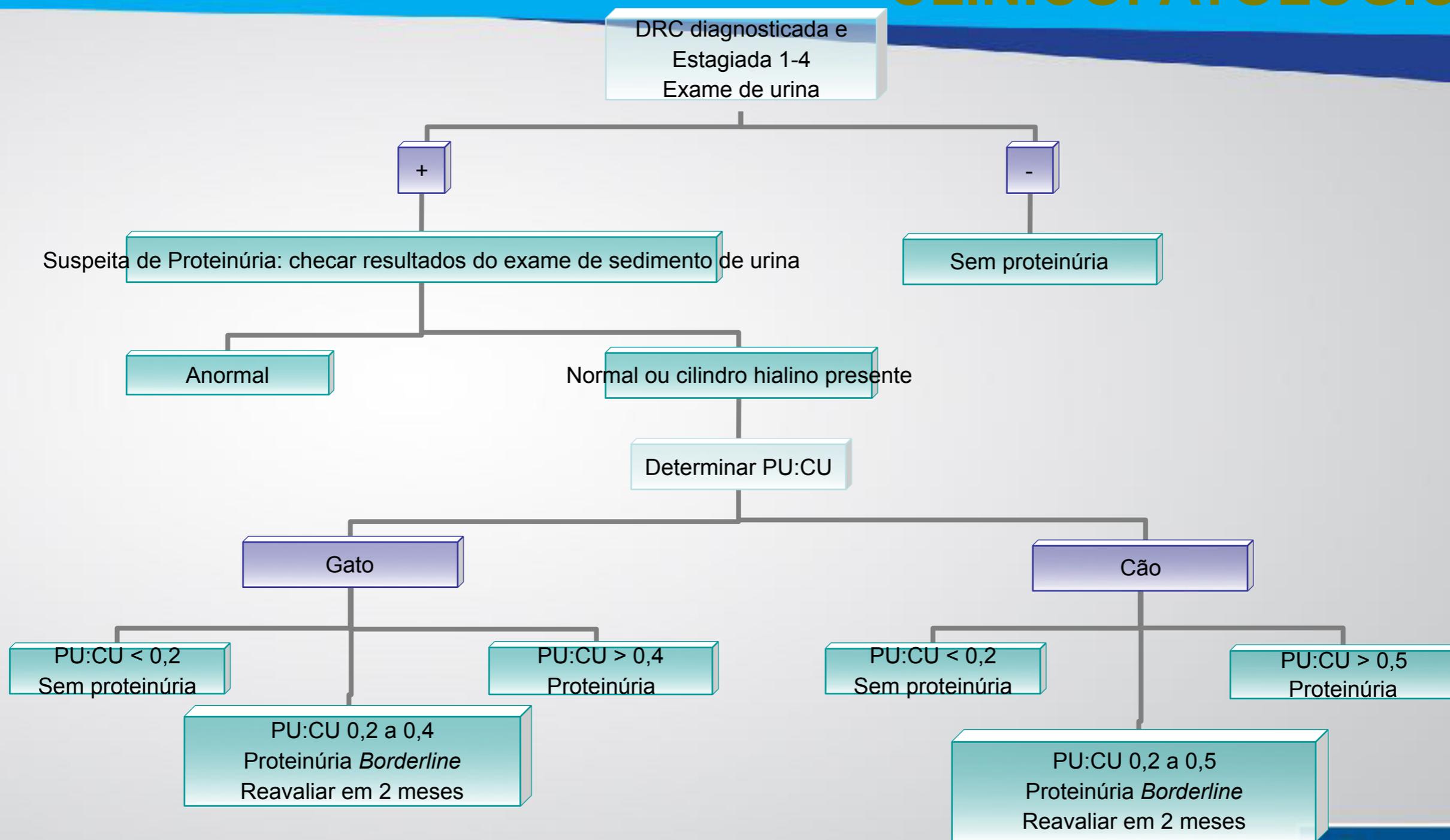
SDMA - (0 a 14 µg/dL)

DIAGNÓSTICO NA LVC

Sub-estadiamento pela proteinúria



CLINICOPATOLÓGICO



Fonte: International Renal Interest Society (IRIS), 2006

Shaping the future of animal health



DIAGNÓSTICO NA LVC



Subestadiamento da DRC pela pressão Sanguínea

CLINICOPATOLÓGICO

Pressão (mmHg)		Subestágio
Sistólica	Diastólica	
<150	<95	Risco mínimo (N)
150-159	95-99	Risco baixo (L)
160-179	100-119	Risco moderado (M)
= 180	=120	Risco alto (H)
Órgãos íntegros		Sem complicações (nc)
Órgãos lesados*		Com complicações (c)
P.A. não medida		Risco não determinado (RND)

*retinopatia e/ou hipertrofia de VE

Persistência

- 2 meses (se houver risco moderado - 160-179 mm Hg sistólica)
- 1 a 2 semanas (se estiver em risco grave - = 180 mmHg).

Virbac *imaging the future of animal health*



DIAGNÓSTICO NA LVC



CLINICOPATOLÓGICO

Disproteïnemia

- Hiperproteïnemia
- Hipoalbuminemia
- Hiperglobulinemia (Princ. γ -globulina)

Hematological profile of dogs naturally infected by Leishmania chagasi in the city of Araçatuba - São Paulo (Brazil): a retrospective study of 191 cases Clínica Veterinária, n.47, p.42-8, 2003

Os achados laboratoriais mais freqüentes foram anemia (57%), hiperproteïnemia (41,4%) e monocitose (33,5%)

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

- Emagrecimento progressivo
- Epistaxe
- Evolução de 30 dias



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Quais exames são solicitados
nestes casos ?

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Eritrograma

He	4,75	5,5 - 8,5 x 10 ⁶ /μL
Hb	11	12 - 18 g/dL
Ht	33	37-55 (%)
VCM	69,47	60 - 77 μ ³
HCM	23,16	19,5 - 24,5 pg(10 ⁻² g)
CHCM	33,33	31 - 36 (%)
Plq	120	200-500 x 10 ³ /μL
PT(plasma)	10,2	5,5 - 7,7 g/dL

OBS: Moderada anisocitose por macrocitose e microcitose. Plaquetas normais em morfologia.

Leucograma

	Absoluto	Referência
Leucócitos Totais	20.120	6000-17000/μL
Mielócito	0	0/μL
Metamielócito	0	0/μL
N. Bastonetes	952	0 - 300/μL
N. Segmentados	15.854	3000-11800/μL
Linfócitos	2144	1500-5000/μL
Monócitos	768	150-1350/μL
Eosinófilos	402	100-250/μL
Basófilos	0	raros

OBS: Discretos neutrófilos apresentando fina granulação citoplasmática

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

EXAMES BIOQUÍMICOS

	Amostra	Normais
Albumina	1,93	2,3 - 3,8 g/dL
ALT	283	7,0 - 92 U/L
FA	466	10 - 96 U/L
PT	9,28	5,3 - 7,7 g/dL
Creatinina	0,91	0,5 - 1,6 mg/dL
Uréia	58	10 - 60 mg/dL
Relação Albumina/globulina = 0,26		

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Pesquisa direta

Presença de mórula de Ehrlichia spp
no citoplasma de leucócitos
varia de 4% a 20%

Ausência de estruturas
compatíveis com mórulas
de Ehrlichia sp,
nesta amostra

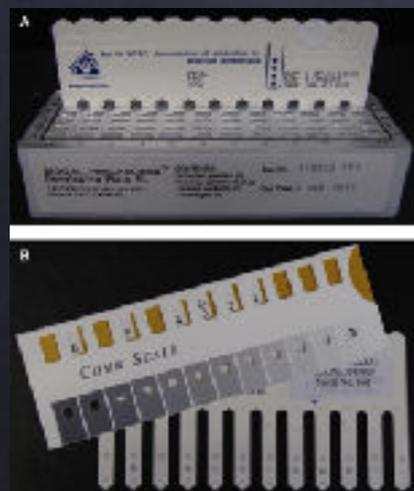


MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Sorologia

- RIFI
- 4 a 28 dias
- "cut-off" – 1:40 a 1:80
- ELISA
- 4 a 28 dias
- "cut-off" – 1:40 a 1:80



Márcio – HOVET-AM (2008)

UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA – HOSPITAL VETERINÁRIO

LABORATÓRIO CLÍNICO VETERINÁRIO

Nome: Muffin
Espécie: Canina Raça: Dogue de Bourdeaux RG:
Proprietário: [REDACTED]
Requisitante: Dr. Márcio

EXAME SOROLÓGICO

Tipo de análise	Resultados	Valores Séricos Normais	
		Cães	Gatos
<input checked="" type="checkbox"/> <i>EHRlichia CANIS</i>	Não Reagente	Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> PARVO		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> FIV		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> FELV		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> DIRO / BORRELIA		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> BRUCELLA CANIS		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> LEISHMANIA sp		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> CINOMOSE		Não Reagente	Não Reagente
<input type="checkbox"/> ANAPLASMA		Não Reagente	Não Reagente

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

PCR

Resultado de Exame

Nome do Requisitante: Dr. Marcio A.D. Moreira

FAX:

Identificação do animal:

Espécie: Canina

Tipo de amostra recebida: Aspirado de baço

Na amostra analisada:

Ehrlichia sp.

Real Time PCR

Resultado: Negativo

- 4 a 10 dias após a exposição
- nPCR (16SrRNA)
- Detecta cinco organismos de *Ehrlichia* spp
- Sangue total; linfonodo; medula óssea; baço

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Eletroforese de proteínas

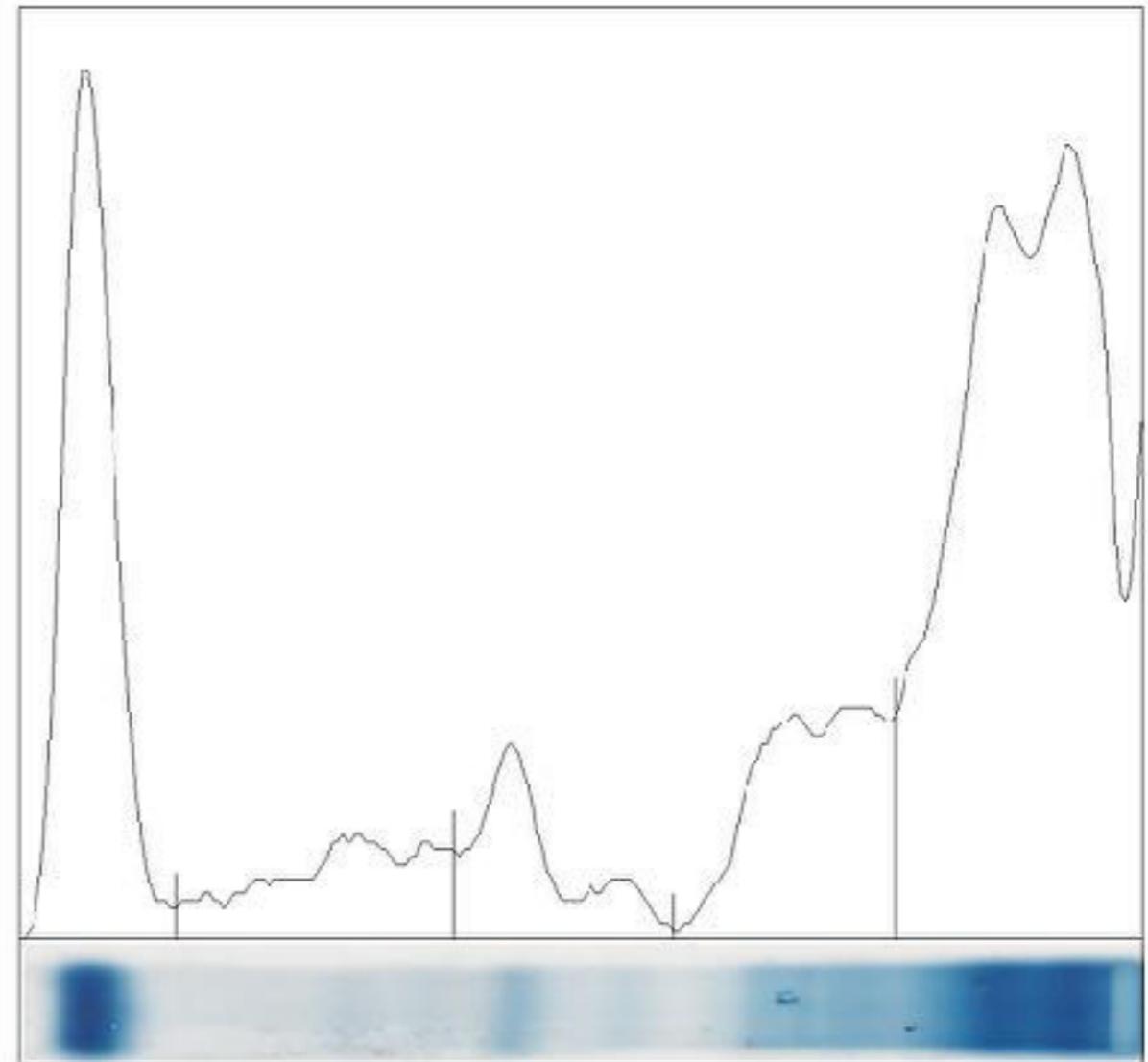
Frações	%	g/dL	(valores de ref.)	
			%	g/dL
Albumina	19.6 (-)*	1.82	50.0 - 63.0	3.20 - 5.00
Alfa 1	7.7 (+)*	0.72	2.5 - 5.7	0.20 - 0.40
Alfa 2	6.9	0.64	5.8 - 13.0	0.50 - 0.90
Beta	13.8	1.28	8.5 - 14.7	0.60 - 1.10
Gama	52.0 (+)*	4.84	11.8 - 20.2	0.70 - 1.50

Proteínas totais: 9.30 g/dL

A/G: 0.24

Valores de ref. para concentrações de 6.00 a 7.80 g/dL

* Nota: (+) valores acima da normalidade
(-) valores abaixo da normalidade



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

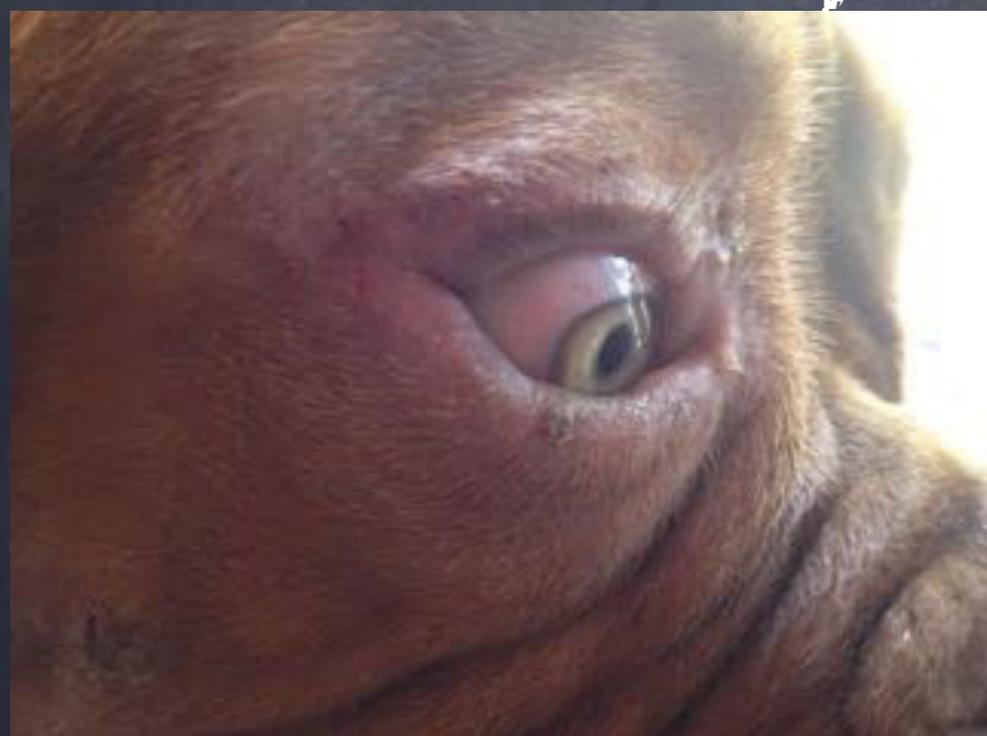
- Lesões em pele
circulares,
alopécicas,
crostosas,
algumas
hiperêmicas



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Manifestações Clínicas



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Manifestações Clínicas



DIAGNÓSTICO NA LVC



IMUNODIAGNÓSTICO

USO FREQUENTE

IMUNIDADE HUMORAL (SOROLOGIA)

Imunofluorescência Indireta (RIFI)

ELISA

Teste rápido

DPP

Alere

Idexx

DIAGNÓSTICO NA LVC



IMUNODIAGNÓSTICO

USO FREQUENTE

IMUNIDADE HUMORAL (SOROLOGIA)

RIFI (Biomanguinhos / Imunodot)

ELISA (Biomanguinhos / Imunodot)

Teste rápido

DPP (rK 28 (antig. rK9; rK39, rK26) -
imunocromatografia

Alere (rK 28 (antig. rK9; rK39, rK26) -
imunocromatografia

Idexx (antig. purificado de *Leishmania*)

DIAGNÓSTICO NA LVC



SciMedCentral

Annals of Clinical Cytology and Pathology

Review Article

The Immunochromatography Use in Canine Visceral Leishmaniasis in Brazil: A “Quick Solution” of a Complex Diagnostic? Rapid Test in Dogs with Leishmaniasis

Aldair Junio Woyames Pinto^{1*}, Vitor Márcio Ribeiro², and Wagner Luiz Tafuri¹

¹Pathology Laboratory of Leishmaniasis, Federal University of Minas Gerais, Brazil

²Pontifical Catholic University of Minas Gerais, Brazil

*Corresponding author

Aldair Junio Woyames Pinto, Pathology Laboratory of Leishmaniasis, Institute of Biological Sciences (ICB), Federal University of Minas Gerais (UFMG), Minas Gerais State, Brazil - Av Pres. Antônio Carlos, 6627 - Pampulha, Belo Horizonte - MG, Brazil, 31270-901, Email: aldairwpinto@gmail.com

Submitted: 12 July 2016

Accepted: 02 September 2016

Published: 05 September 2016

Copyright

© 2016 Woyames Pinto et al.

OPEN ACCESS

Keywords

- Canine Leishmaniasis
- Serology
- Immunochromatography
- DPP®
- Immunology

Abstract

Diagnosis of Canine Leishmaniasis is complex, once there is no test able to detect infection period / disease. Serological methods can have different results when performed by different methods and misinterpretations may result in hasty diagnosis. Rapid tests can be considered attractive, from a clinical point of view, because of its easy carrying and reading these results. However, the use of rapid testing alone for the diagnosis of canine leishmaniasis in Brazil should be considered dangerous, especially in asymptomatic dogs. In addition, knowledge of the technique and the different commercial assays available (which differ in the composition) must be considered essential for better performance and interpretation of results. The objective of this study is to show the main characteristics of rapid tests for diagnosis of canine visceral leishmaniasis, used in Brazil, and demonstrate the effectiveness of these in previous studies associated with other methods of serological diagnosis and evaluating the sensitivity and specificity of these tests.

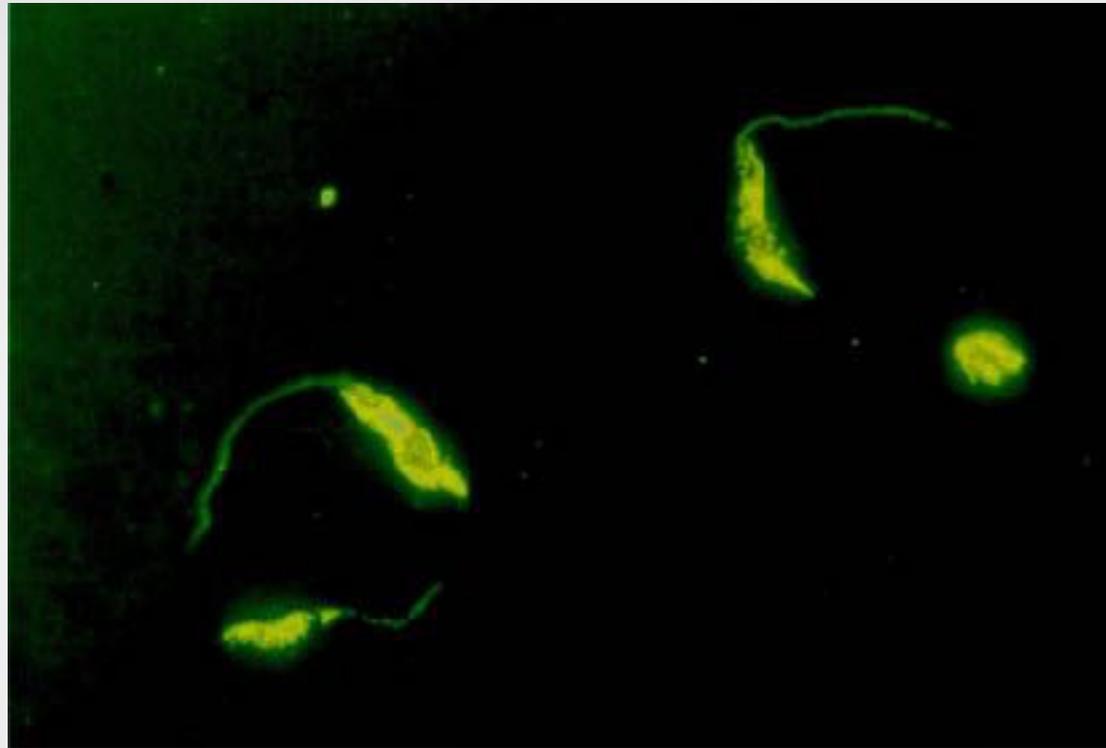


DIAGNÓSTICO NA LVC



IMUNODIAGNÓSTICO

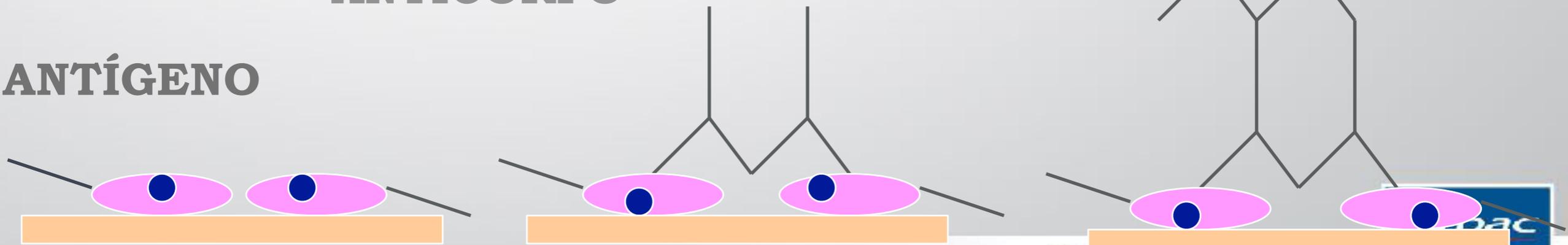
RIFI



ANTI-IGg FITC

ANTICORPO

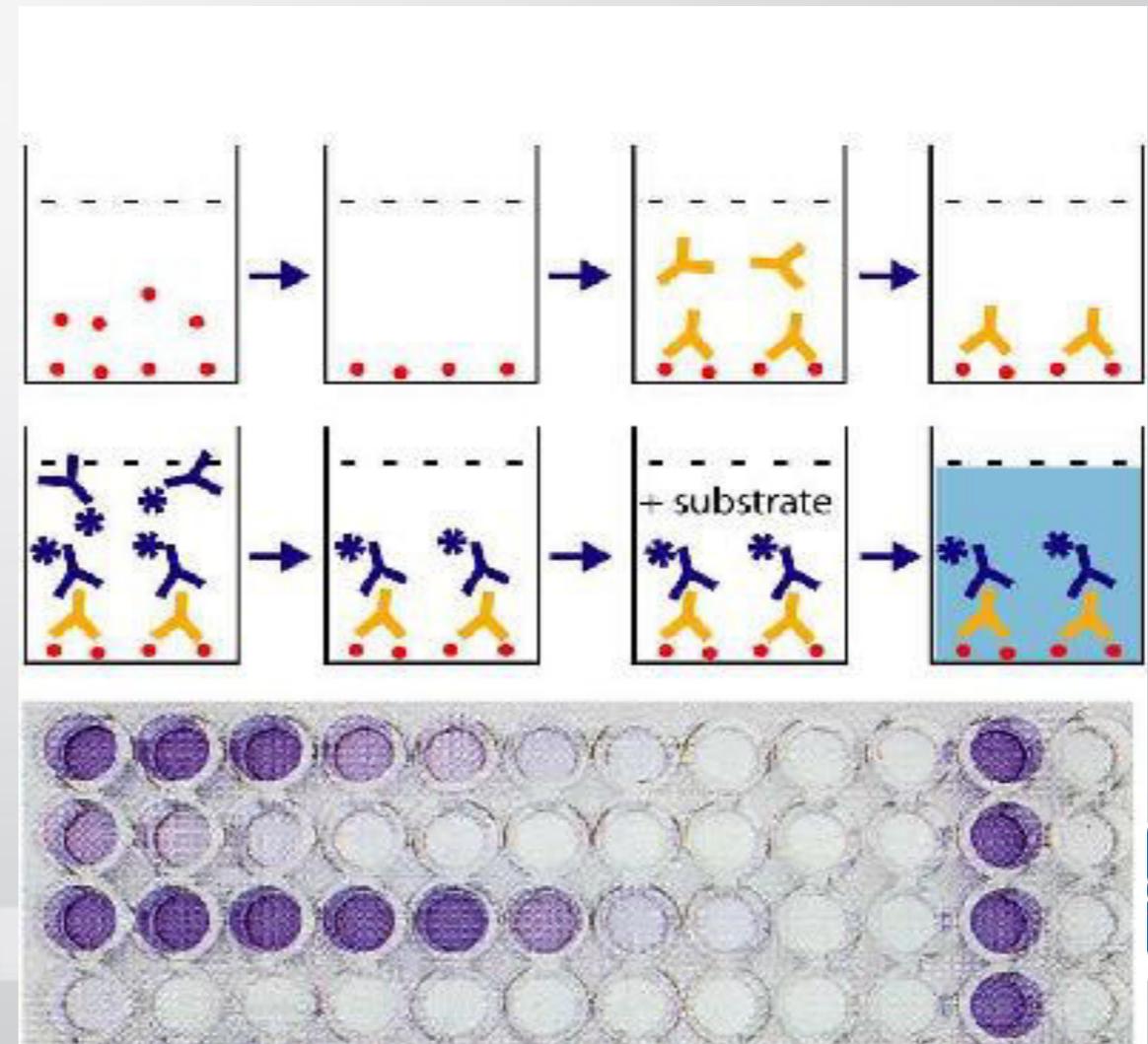
ANTÍGENO



DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO

ELISA



DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO

Imunocromatografia

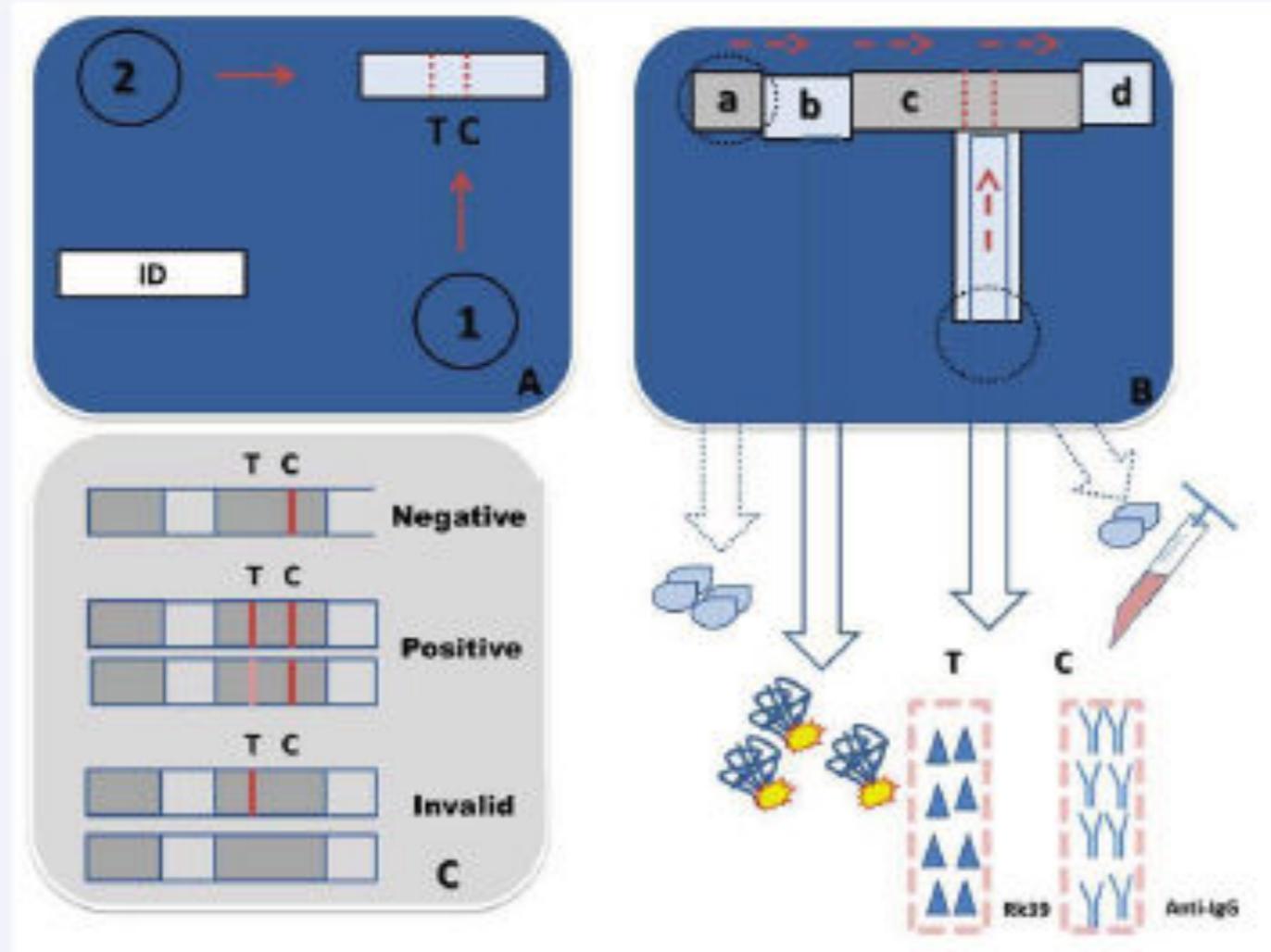


Figure 1 Schematic drawing of an Immunochromatography test with two strips of nitrocellulose. Schematic drawing of an immunochromatography test with two strips of nitrocellulose (AB) and the interpretation of results (C). Note in (A) the plastic tape template containing the sample wells + buffer (1) and buffer (2) the sample identification area / animal (ID) and the reading window displaying the test lines (T) and control (C). In (B) watching the tape of the internal structure containing two strips of nitrocellulose. After adding the sample in the sample well + buffer that runs through the first nitrocellulose strip. In the membrane "a" are added four drops of the buffer solution to traverse lateral flow membrane "b" where there are colloidal gold particles associated protein A/G. The membrane "c" is defined by the presence of anti-dog IgG antibodies that will make the test and control lines consequently. In "d" the residual absorption membrane. In (C) observe the possible interpretations of the results of reading in the test window.

DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO

ELISA - TR

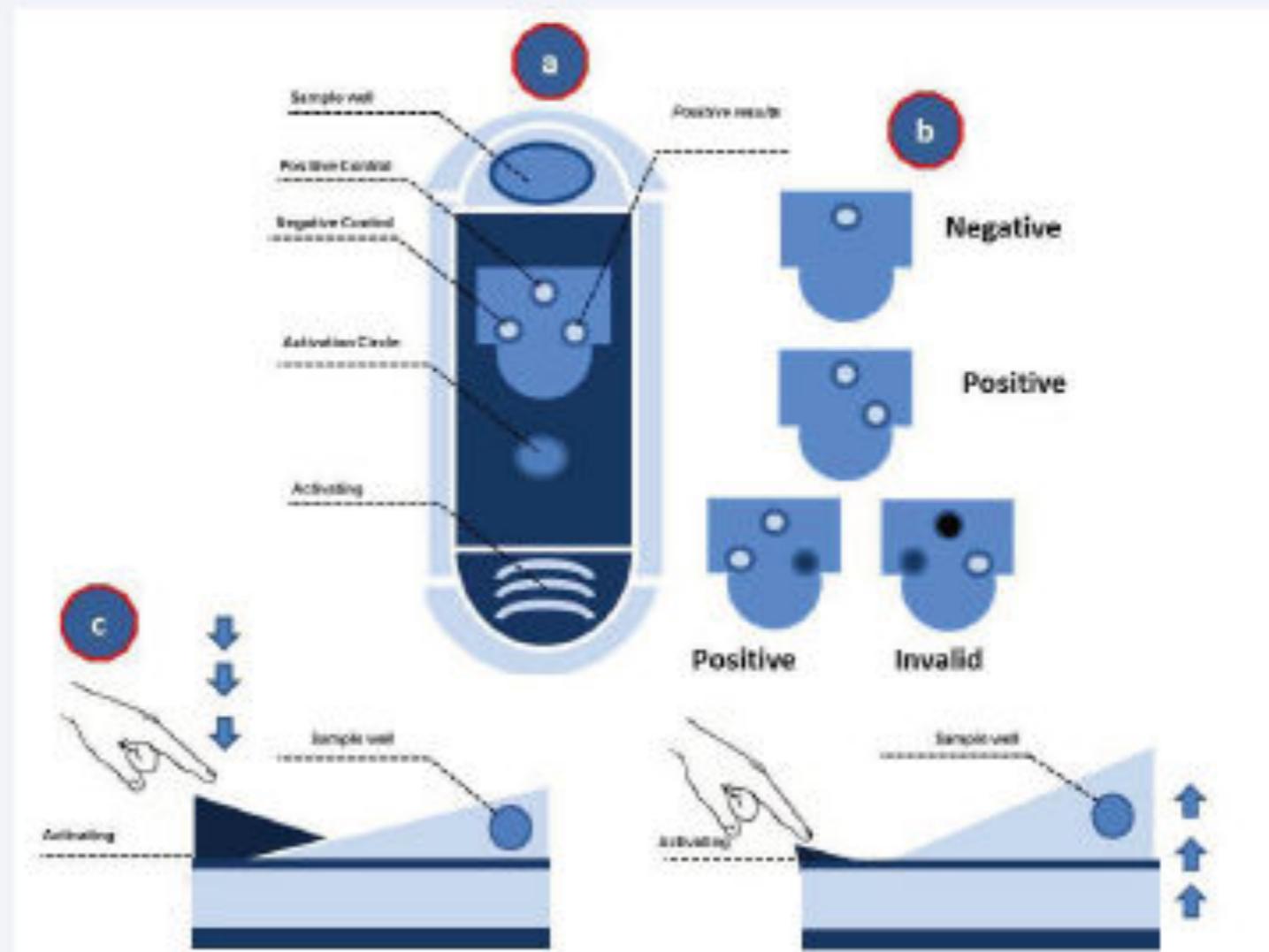


Figure 2 Schematic drawing of a SNAP® LEISHMANIA IDEXX. Schematic diagram of the test platform SNAP® Leishmania (AC) and the interpretation of results (C). Observe in (AC) plastic cassette model containing the sample wells and just below the test window with the points in the scatter Activation circle where the sample or blue color is displayed. The activator is where to press the platform on a flat surface. (B) The visualization of positive or negative is a representation of a reactant or non-reactant test result. However, the point of view called Leishmania Sample Node serves as a protection against false positives and helps indicate that the test was run properly. If the staining of the Leishmania sample spot is darker than the negative control spot, the result is positive for this node. If the staining in the negative control spot is equal to or darker than sample spot Leishmania, the test is invalid for this sample spot.

DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO



Quando e pq não utilizar apenas a sorologia?

- Geralmente não é possível concluir o diagnóstico apenas com um método sorológico
- Diferenças entre sensibilidade e especificidade do método utilizado
- Sintomáticos e assintomáticos
- Diferenças entre antígenos ; concentração de proteínas
- Especificidade do antígeno - rK39, rK26
- Estudo apresentou no DPP sensibilidade de 98% para sintomático e 47% para assintomático*
- Quando houver dúvida correlacionar exames sorológicos e parasitológicos
- Vacinação
- Realizar o TR com ELISA ou RIFI para avaliar a diluição de antígeno total

Shaping the future of animal health



*Grimaldi G Jr, Teva A, Ferreira AL, dos Santos CB, Pinto I, de-Azevedo CT, et al. Evaluation of a novel chromatographic immunoassay based on Dual-Path Platform technology (DPP®) CVL rapid test) for the serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2012; 106: 54-59.

DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO



Casuística:

50 soros de cães de área endêmica /diag. clínico e parasitol. positivos

45 soros de cães de área não endêmica

	Chagas	<i>Ehrliquia</i>	<i>Babesia</i>	<i>Ehrliquia Babesia</i>	Toxo	Neospora	Toxo Neospora
ELISA (+)	9	1	0	5	0	0	0
(-)	5	12	12	1	10	8	13
RIFI (+)	6	0	0	0	5	0	0
(-)	8	13	12	6	5	8	13
rK39 (+)	0	1	0	3	1	1	3
(-)	14	12	12	3	9	7	10

LVC	0	28	42	17	8
Controle	0	07	38	17	0

Zanette, 2006.



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

Acta Tropica

journal homepage: www.elsevier.com/locate/actatropica

Short communication

Canine visceral leishmaniasis: Performance of a rapid diagnostic test (Kalazar Detect™) in dogs with and without signs of the disease

Elenice Moreira Lemos^a, Márcia Dalastra Laurenti^b, Márcio Antônio Batistela Moreira^b, Alexandre Barbosa Reis^c, Rodolfo Cordeiro Giunchetti^c, Syamal Raychaudhuri^d, Reynaldo Dietze^{a,*}

^a Núcleo de Doenças Infecciosas, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, ES, Brazil

^b Laboratório de Patologia de Moléstias Infecciosas (LIM-50), Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^c Laboratório de Imunopatologia, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, MG, Brazil

^d Inbios International, Inc. Seattle, WA, USA

A B S T R A C T

Current visceral leishmaniasis (VL) control programs in Brazil include the infected dog elimination but, despite this strategy, the incidence of human VL is still increasing. One of the reasons is the long delay between sample collection, analysis, control implementation and the low sensitivity of diagnostic tests. Due to the high prevalence of asymptomatic dogs, the diagnosis of these animals is important considering their vector infection capacity. Hence, a rapid and accurate diagnosis of canine visceral leishmaniasis is essential for an efficient surveillance program. In this study we evaluated the performance of rK39 antigen in an immunochromatographic format to detect symptomatic and asymptomatic *Leishmania chagasi* infection in dogs and compared the results with those using a crude antigen ELISA. The sensitivity of rK39 dipstick and ELISA were 83% vs. 95%, respectively, while the specificity was both 100%. Our results also demonstrated that the dipstick test was able to detect infected dogs presenting different clinical forms.

© 2008 Elsevier B.V. All rights reserved.



DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO



TESTE RÁPIDO IMUNOCROMATOGRÁFICO NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA NO MUNICÍPIO DE BOM JESUS, PIAUÍ

Richard Atila de Sousa¹, Naira Moura Alves¹, Sandra Geisa Costa Albano¹, George Magno Sousa do Rêgo¹, Luciana Pereira Machado²

¹Discentes do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Piauí, Campus Prof.^a Cinobelina Elvas, Bom Jesus, Brasil
(riatsovet@hotmail.com)

²Professora Doutora do Curso de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Piauí, Campus Prof.^a Cinobelina Elvas, Bom Jesus, Brasil

Recebido em: 30/09/2014 – Aprovado em: 15/11/2014 – Publicado em: 01/12/2014

RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo comparar o teste rápido de imunocromatografia (TRI) para diagnóstico da leishmaniose visceral canina (LVC) com o exame parasitológico, para verificar a sua eficiência no diagnóstico da doença. Participaram do estudo dez cães, com suspeita clínica para a doença, oriundos do município de Bom Jesus/PI, área endêmica para LVC. Foram colhidos 5 mL de sangue venoso, em tubos contendo anticoagulante EDTA, para a detecção de

TRI-DPP - Reagente em 88,9% dos casos confirmados pelo parasitológico

DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNODIAGNÓSTICO



Major Article

Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 48(1):64-68, Jan-Feb, 2015
<http://dx.doi.org/10.1590/0037-8682-0291-2014>



Leishmania, Babesia and Ehrlichia in urban pet dogs: co-infection or cross-reaction in serological methods?

Felipe da Silva Krawczak⁽¹⁾, Ilka Afonso Reis⁽²⁾, Julia Angélica da Silveira⁽³⁾, Daniel Moreira Avelar⁽⁴⁾, Andréza Pain Marcelino⁽⁴⁾, Guilherme Loureiro Werneck⁽⁵⁾, Marcelo Bahia Labruna⁽¹⁾ and Gustavo Fontes Paz⁽⁶⁾

[1]. Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP. [2]. Departamento de Estatística, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. [3]. Departamento de Parasitologia, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG. [4]. Serviço de Doenças Parasitárias, Divisão de Epidemiologia e Controle de Doenças, Fundação Ezequiel Dias, Belo Horizonte, MG. [5]. Departamento de Epidemiologia, Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ. [6]. Grupo de Estudos em Leishmanioses, Centro de Pesquisas René Rachou, Fundação Oswaldo Cruz, Belo Horizonte, MG.

ABSTRACT

Introduction: The present study was designed to assess the occurrence of co-infection or cross-reaction in the serological techniques used for detecting the anti-*Leishmania* spp., -*Babesia canis vogeli* and -*Ehrlichia canis* antibodies in urban dogs from an area endemic to these parasites. **Methods:** The serum samples from dogs were tested for the *Babesia canis vogeli* strain Belo Horizonte antigen and *Ehrlichia canis* strain São Paulo by immunofluorescence antibody test (IFAT) and by anti-*Leishmania* immunoglobulin G (IgG) antibody detection to assess *Leishmania* infection. We used the following four commercial kits for canine visceral leishmaniasis: ELISA, IFAT, Dual Path Platform (DPP) (Bio Manguinhos®/FIOCRUZ/MS) and a rK39 RDT (Kalazar Detect Canine Rapid Test; Inbios). **Results:** Of 96 serum samples submitted to serological assays, 4 (4.2%) were positive for *Leishmania* as determined by ELISA; 12 (12.5%), by IFAT; 14 (14.6%) by rK39 RDT; and 20 (20.8%), by DPP. Antibodies against *Ehrlichia* and *Babesia* were detected in 23/96 (23.9%) and 30/96 (31.2%) samples, respectively. No significant association was identified between the results of tests for detecting *Babesia* or *Ehrlichia* and those for detecting *Leishmania* (p-value>0.05). **Conclusions:** In the present study, we demonstrated co-infection with *Ehrlichia* or *Babesia* and *Leishmania* in dogs from Minas Gerais (Brazil); we also found that the serological tests that were used did not cross-react.

Keywords: Immunochromatographic test. Enzyme-linked immunosorbent assay. Immunofluorescence antibody test. Canine visceral leishmaniasis.

Virbac

DIAGNÓSTICO NA LVC

RESULTADOS PRELIMINARES



ESTUDO COMPARATIVO ENTRE OS MÉTODOS SOROLÓGICOS RÁPIDOS DA IDEXX E ALERE, RIFI COM A CITOLOGIA DE LINFONODO

Nome	RG	Citologia	RIFI	ALERE	IDEXX
Bebel	38811	p	p	p	p
Logan	26431	n	r	n	n
Lola	40804	p	p	p	p
Josh	31404	n	r	n	p
Theodore	41580	p	p	n	p
Wilsinho	39766	n	r	n	n
Pitty	38834	p	p	p	p
Pequena	38076	p	p	p	p
Nana	38343	n	r	n	n
Billy	40429	n	p	n	n
Fiona	35847	p	p	n	n
Widy	41028	n	r	n	n
Comuna	41170	p	p	p	p
Samy	39744	n	r	n	n
Amadinho	38577	n	r	n	n
Maria	40159	n	r	n	n
Spot	38909	n	r	n	n
Lucy	38510	n	r	n	n
Mel	39372	n	r	n	n
Camí	5947	n	r	n	n
Rufus	40271	n	r	n	n
Conan	37752	p	r	p	p
Donna	38806	n	r	n	n
Nutela	41446	p	p	p	p
Chiara	42907	n	r	n	n
Nira	39324	p	p	p	p
Winnie	40839	p	p	p	p
Aspergo	42848	p	p	p	p
Pantera	33873	p	p	p	p
Bocó	41647	p	p	p	p
Pituca	42862	p	p	p	p
Cindy	38274	p	p	p	p
Pina	41736	n	r	n	n
Marebá	42414	p	p	p	p
Glória	37510	p	p	p	p
Chiara	42907	n	r	n	n
Laika	7159	n	r	n	n
Toby	42602	n	r	n	n
Filomena	43359	p	p	p	n
Mona	43158	p	p	p	p
Mila	42916	n	r	n	n
Nick	42148	p	p	p	p

Resultados semelhantes	Valores	Total
Reagentes	18	42,86%
Não reagentes	18	42,86%
Total	36	85,71%
*Total de amostras	42	

Resultados semelhantes	Valores	Total
Exames		
Citologia X RIFI	40	95,24%
Citologia X Alere	40	95,24%
Citologia X Idexx	39	92,86%
RIFI X Alere	38	90,48%
RIFI X Idexx	37	88,10%
Alere X Idexx	39	92,86%
* Total de amostras	42	



DIAGNÓSTICO NA LVC

PARASITOLÓGICO



DIRETO

CITOLÓGICO

CULTURA

HISTOLOGIA

IMUNOMARCAÇÃO

IMUNOFLUORESCÊNCIA DIRETA

IMUNOISTOQUÍMICA

MOLECULAR

PCR (REAÇÃO EM CADEIA PELA POLIMERASE)

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE LINFONODO



DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE LINFONODO



2017/09/11 10:48:59

DIAGNÓSTICO NA LVC

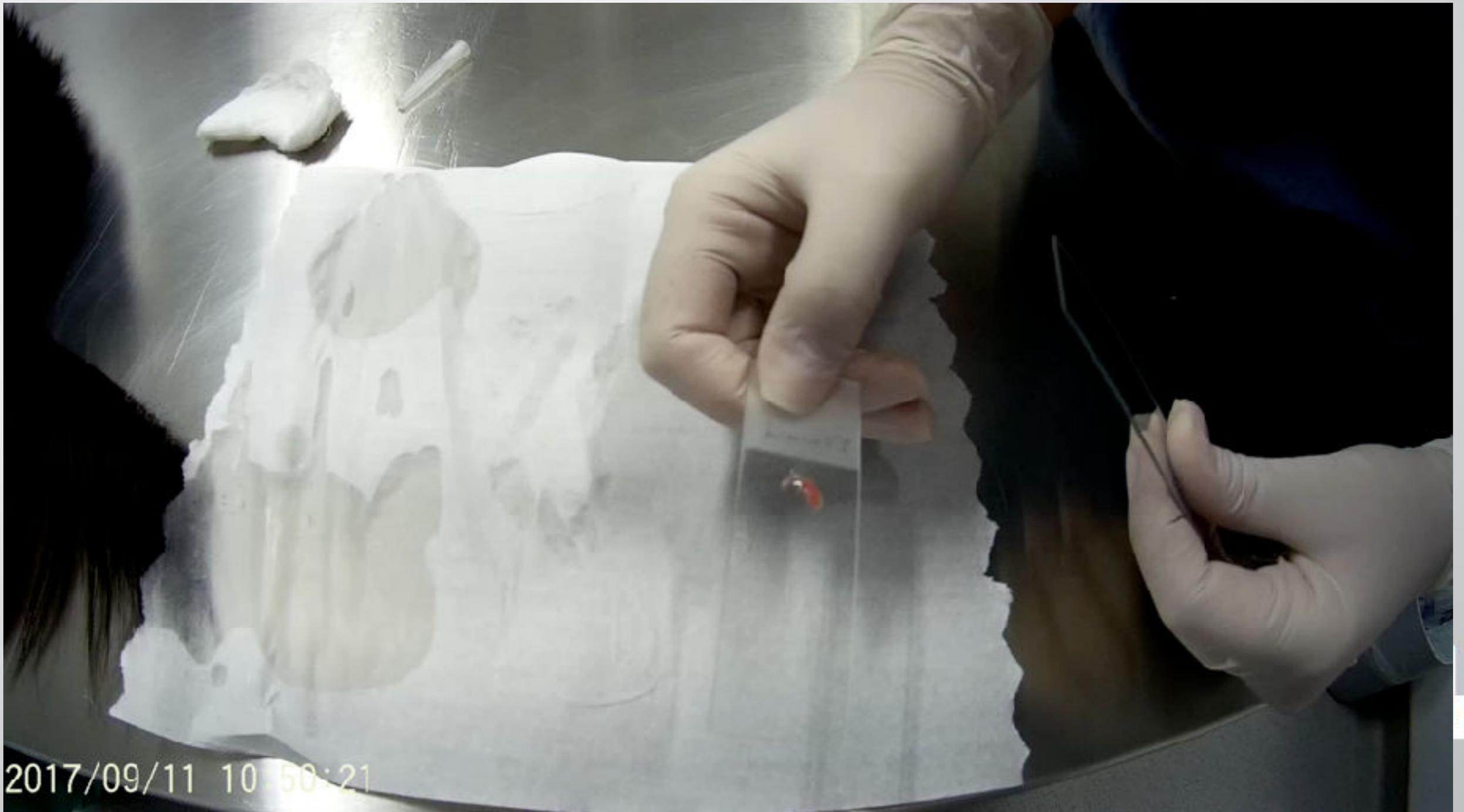
CITOLOGIA DE LINFONODO



2017/09/11 10:52:15

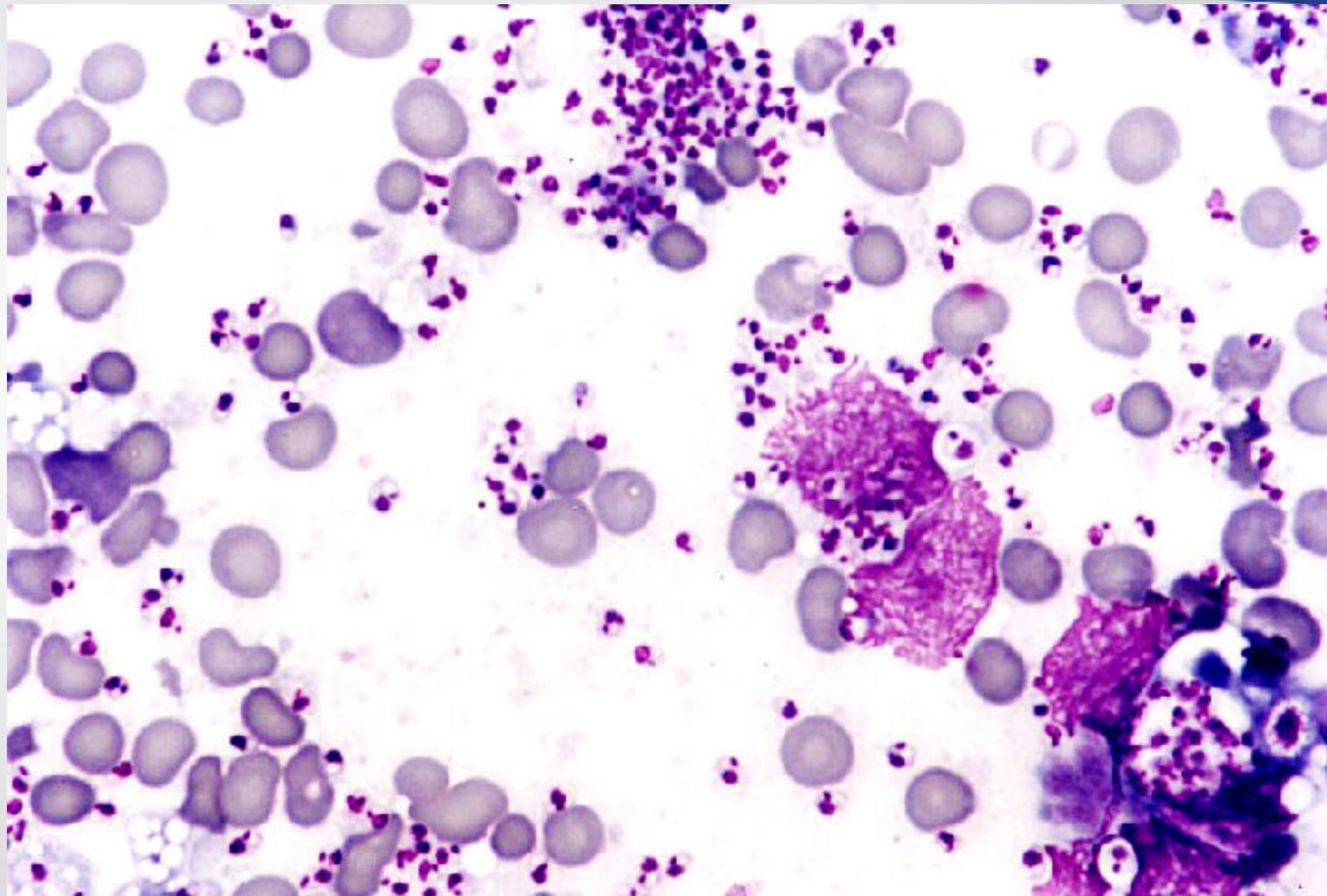
DIAGNÓSTICO NA LVC

ESFREGAÇÃO DE MATERIAL DE LINFONODO



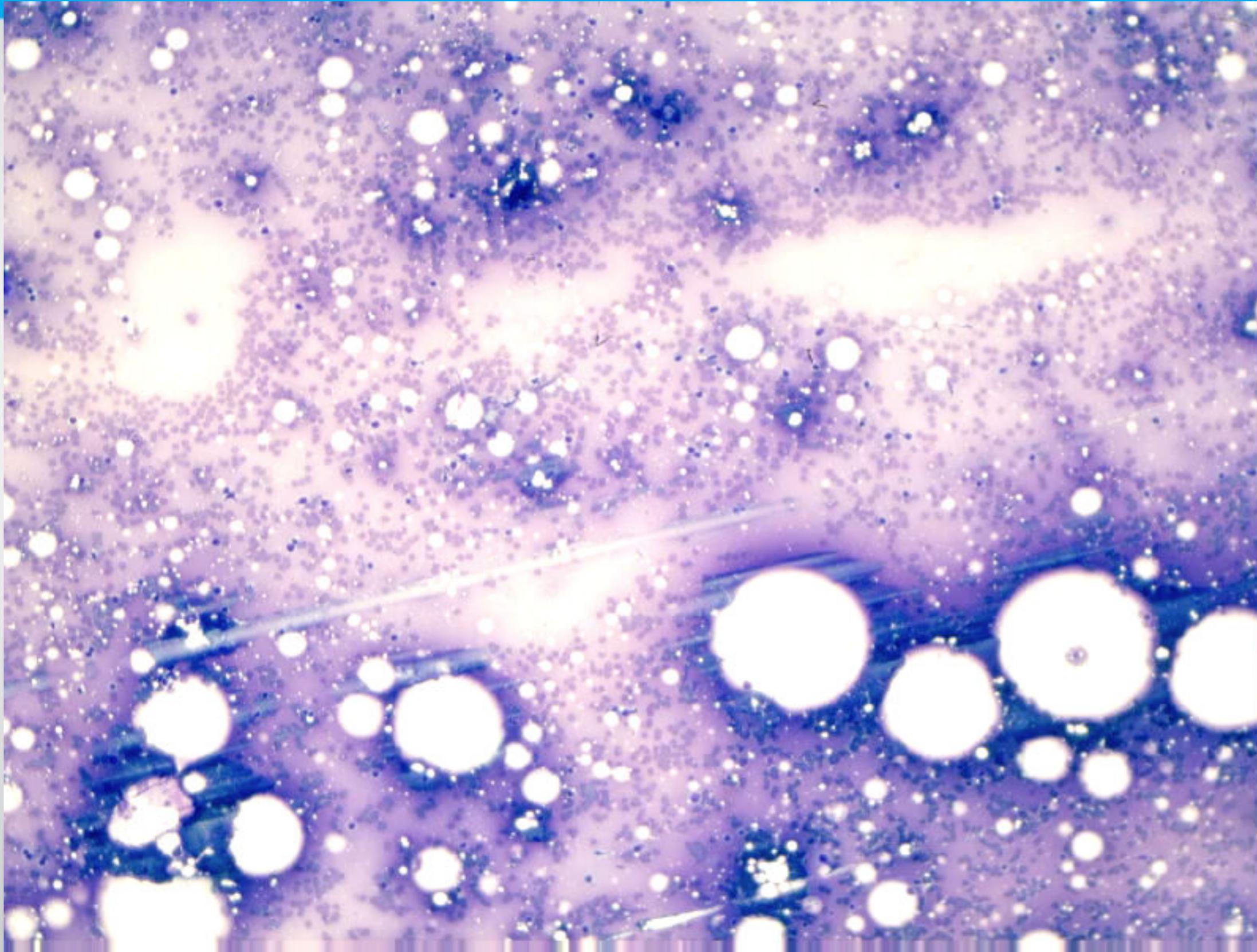
DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA



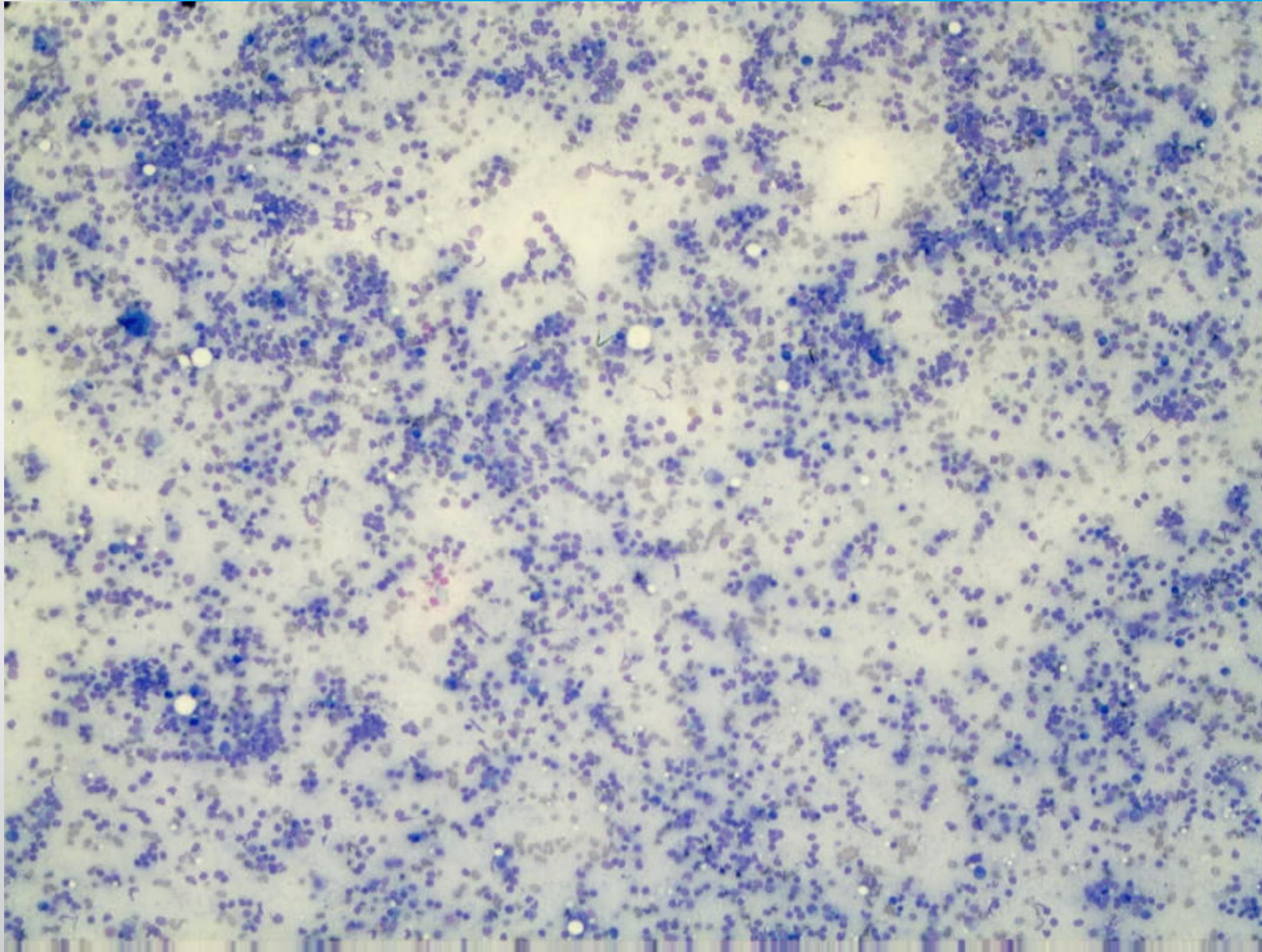
DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE LINFONODO



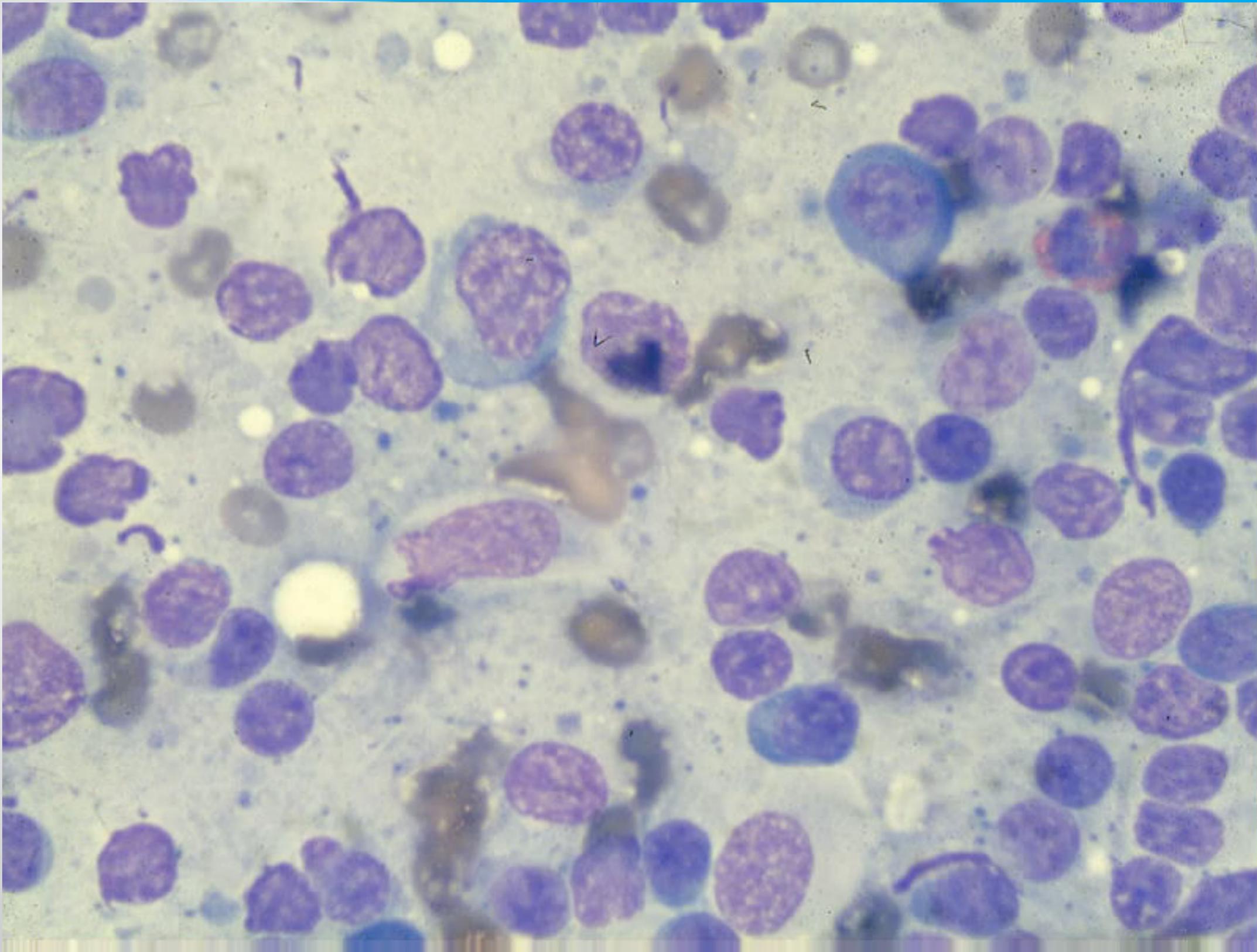
DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE LINFONODO



DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE LINFONODO



DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA

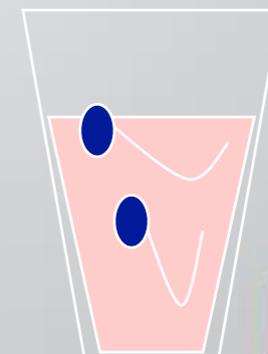
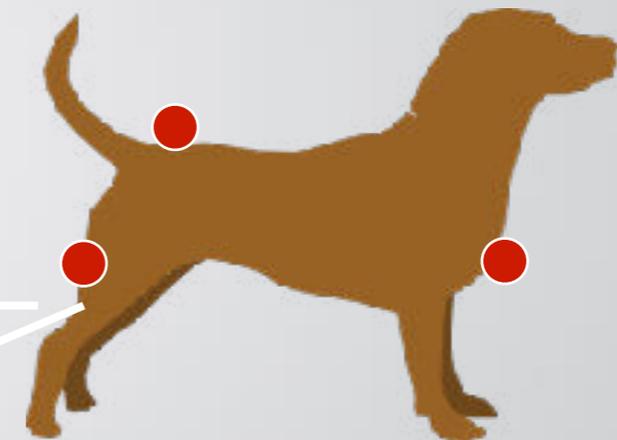
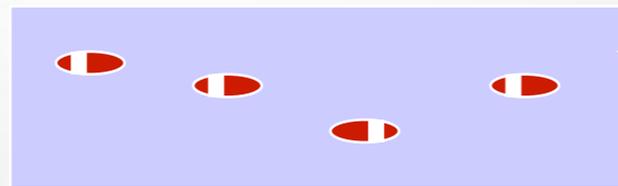


"Imprint" – Giemsa/Panótico

Mielograma



AMASTIGOTA



PCR

Mielocultura



Shaping the future of animal health

PROMASTIGOTA

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



2017/09/11 10:54:54

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



2017/09/11 11:28:49

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



2017/09/12 16:15:31

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



DIAGNÓSTICO NA LVC

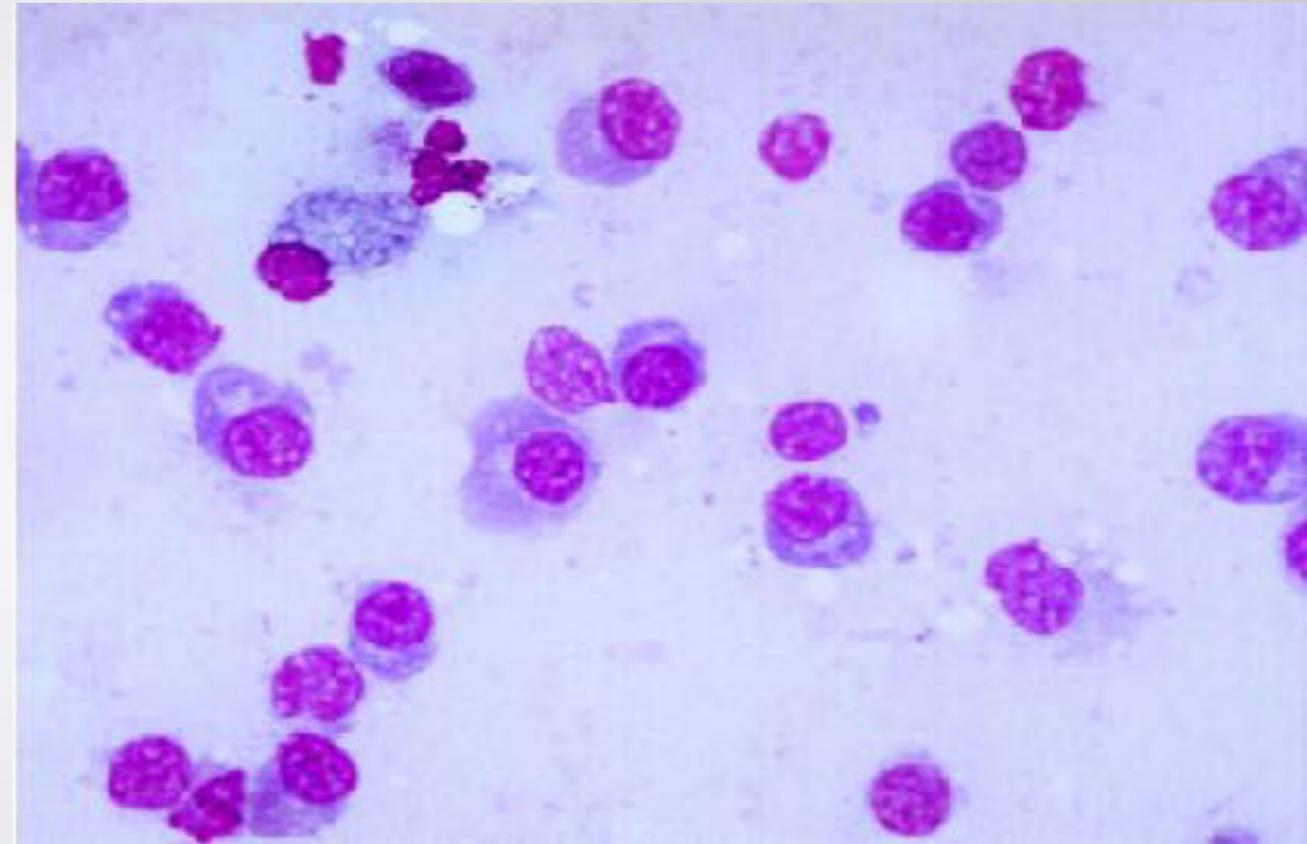
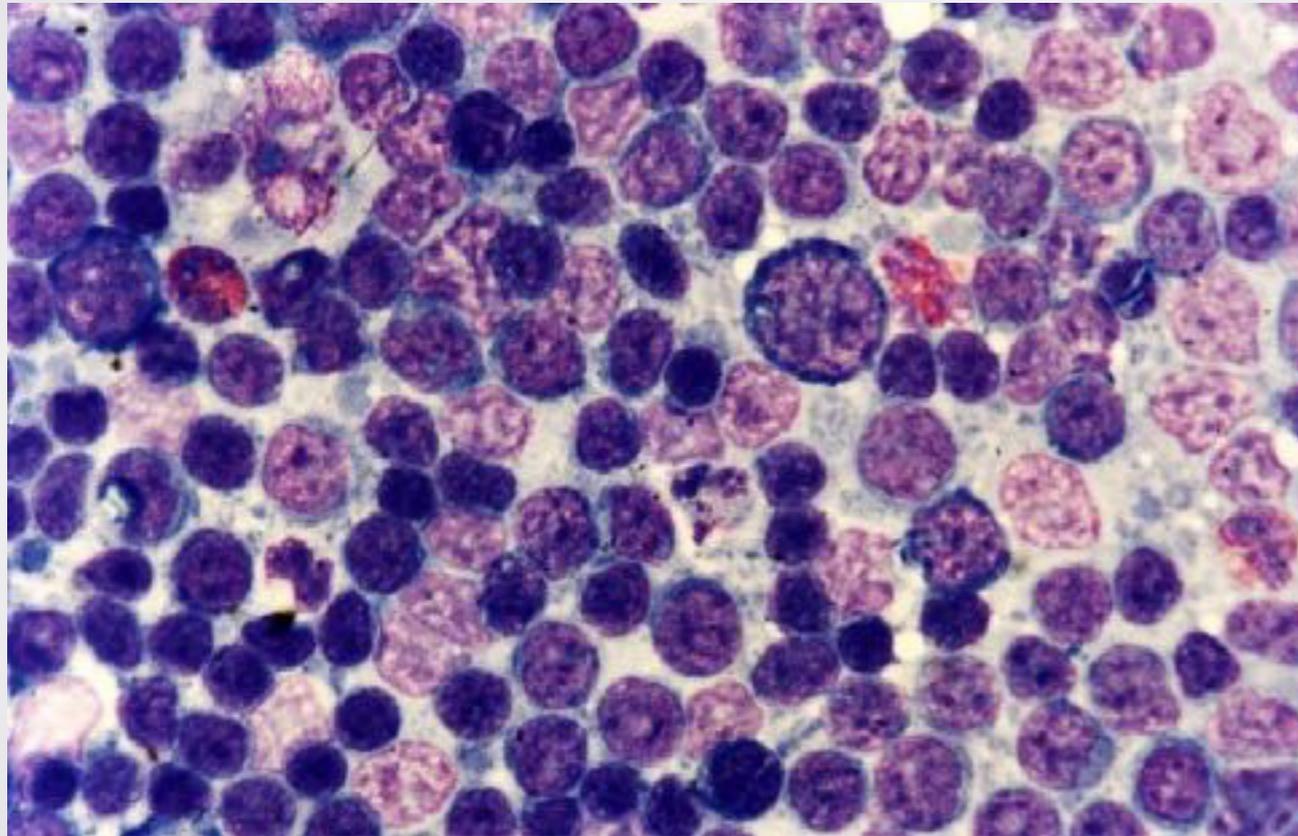
CITOLOGIA DE MEDULA ÓSSEA



2017/10/02 14:46:01

DIAGNÓSTICO NA LVC

CITOLOGIA



DIAGNÓSTICO NA LVC

CULTIVO



DIAGNÓSTICO NA LVC

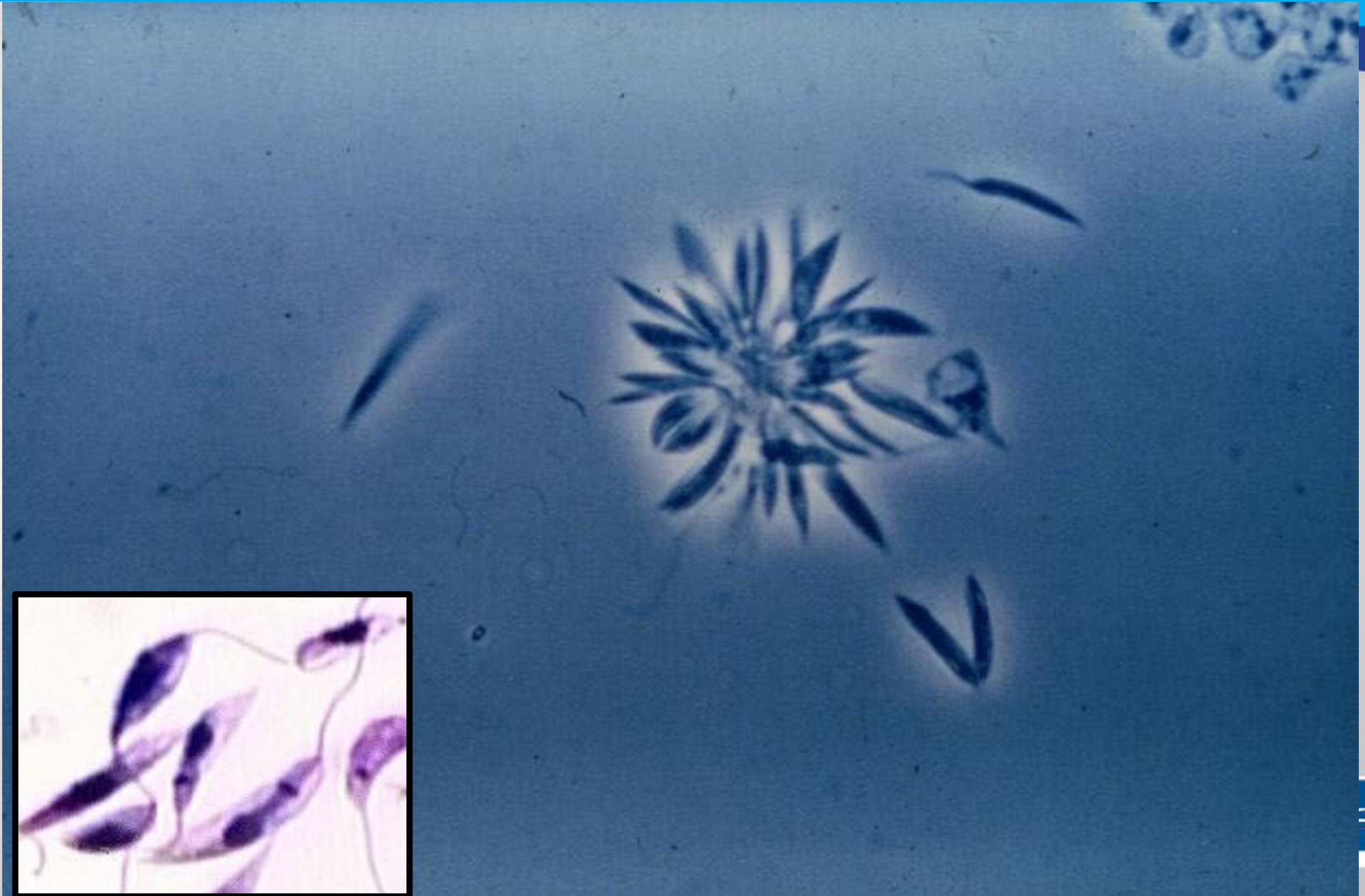


ISOLAMENTO DO PARASITO EM ANIMAL EXPERIMENTAL



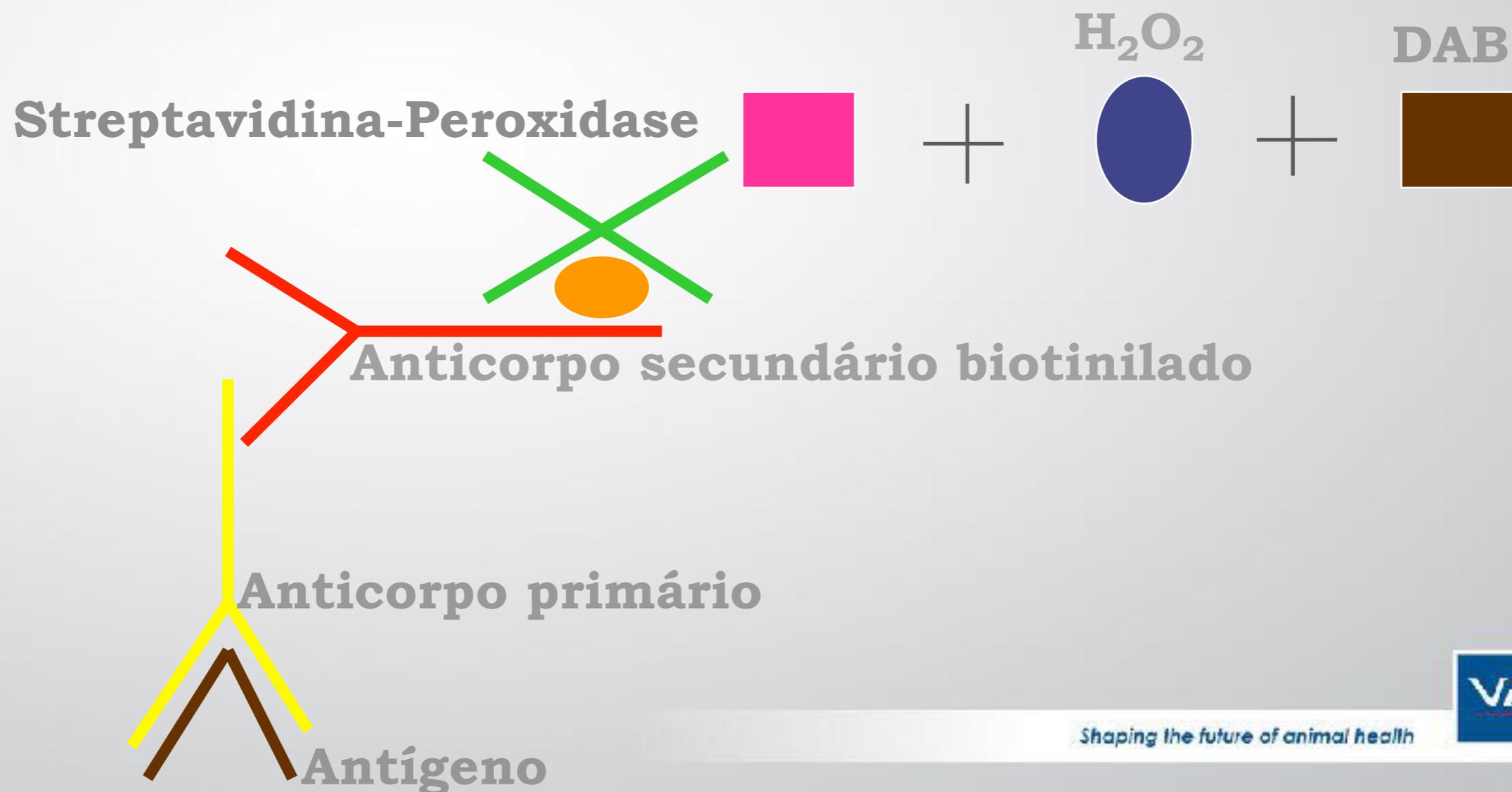
DIAGNÓSTICO NA LVC

CULTIVO



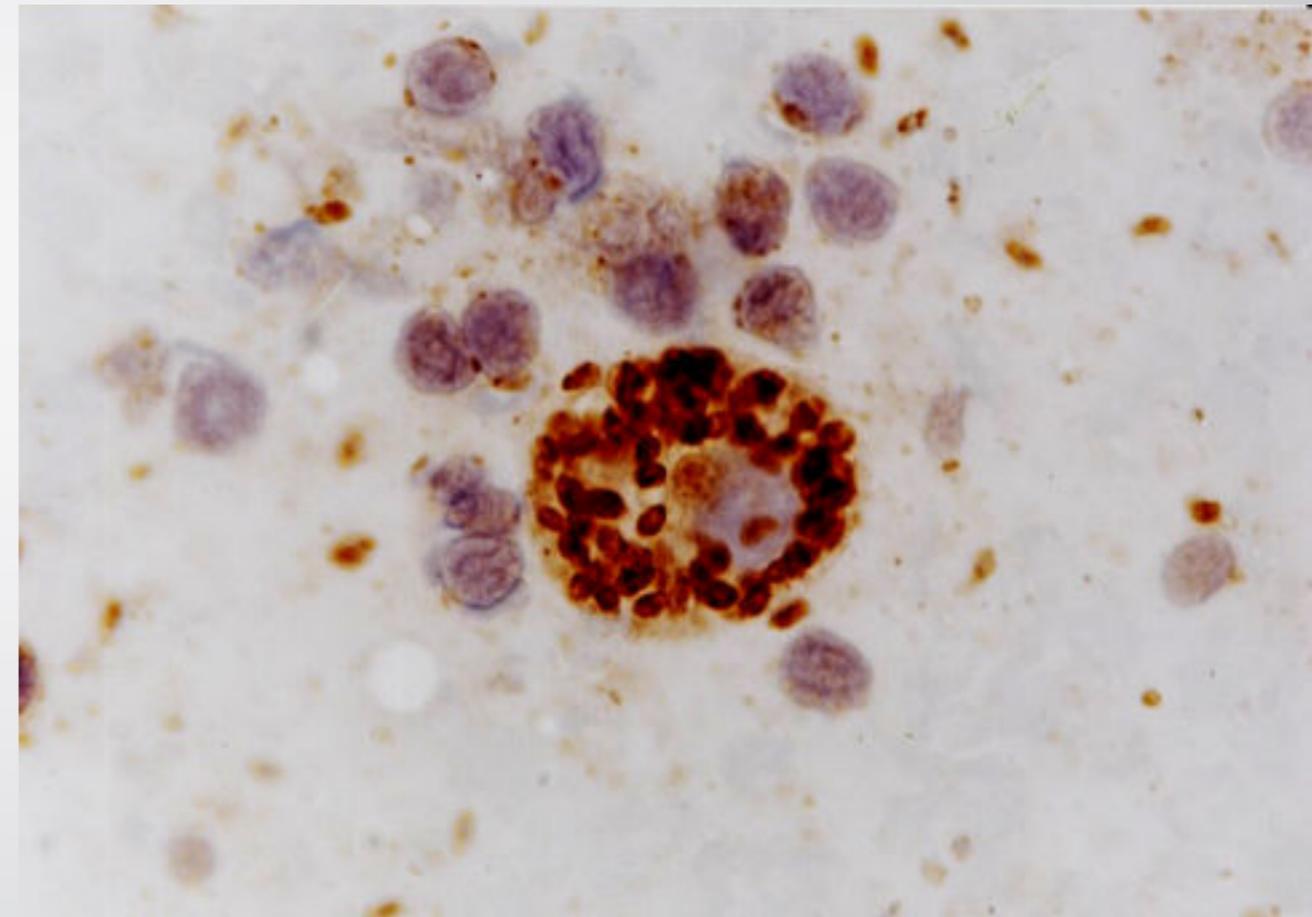
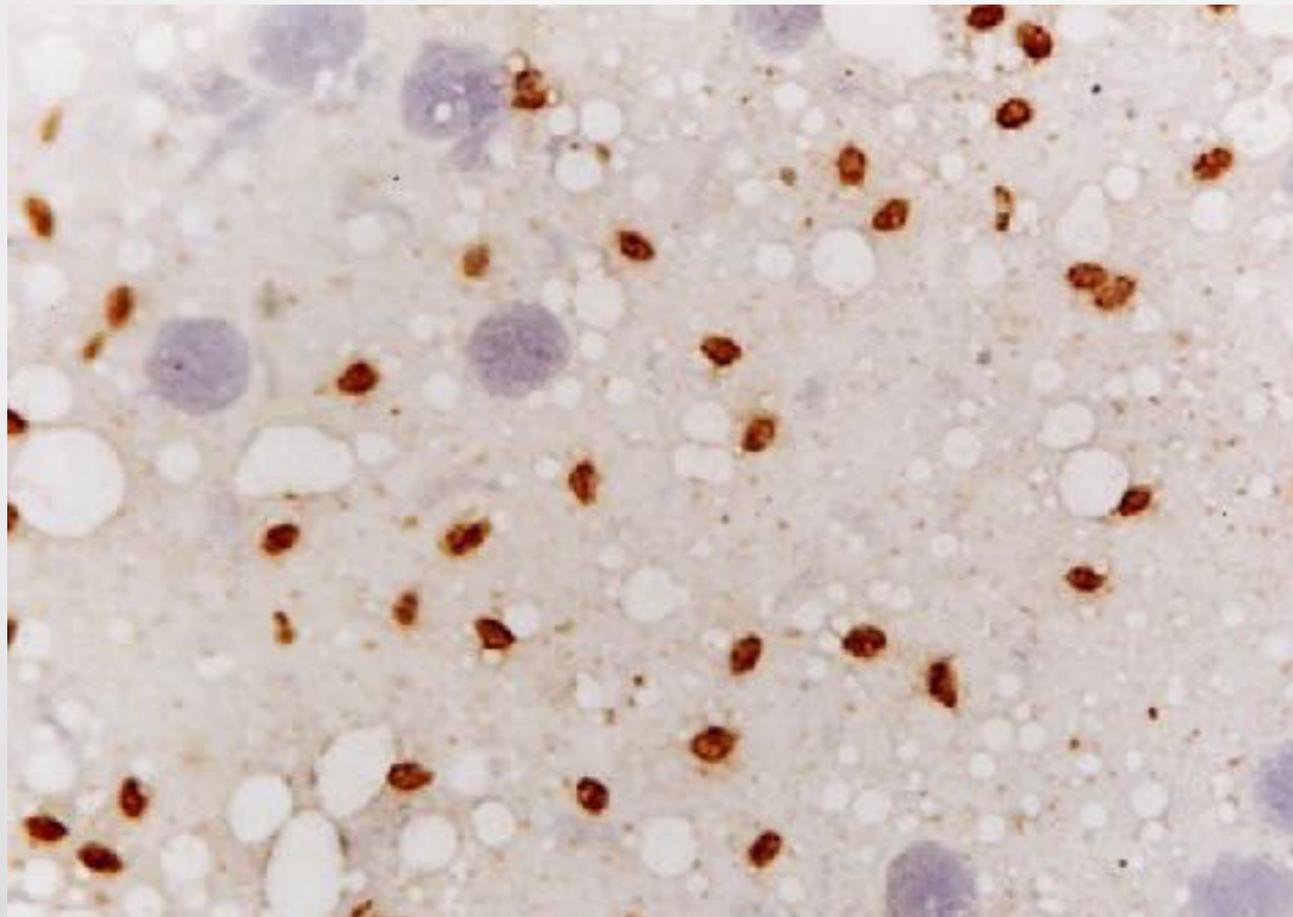
DIAGNÓSTICO NA LVC

IMUNOCITOQUÍMICA IMUNOISTOQUÍMICA



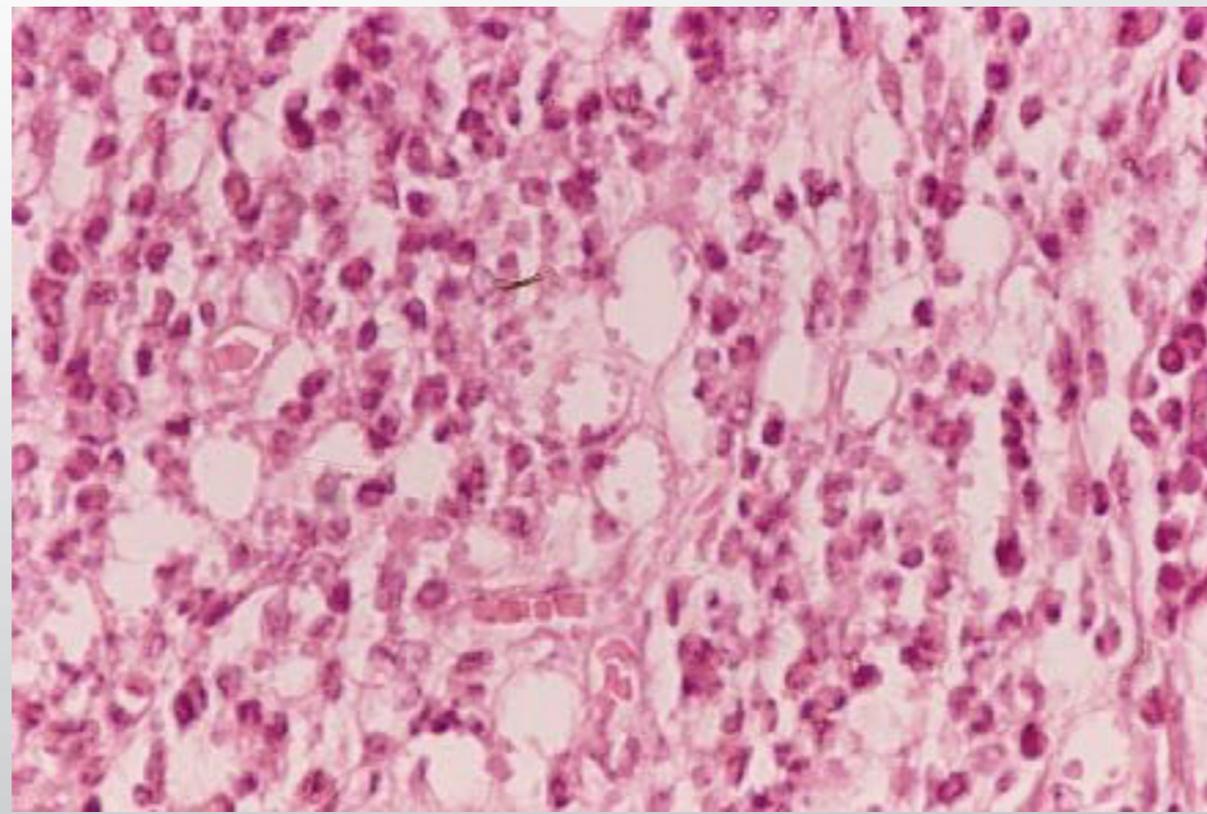
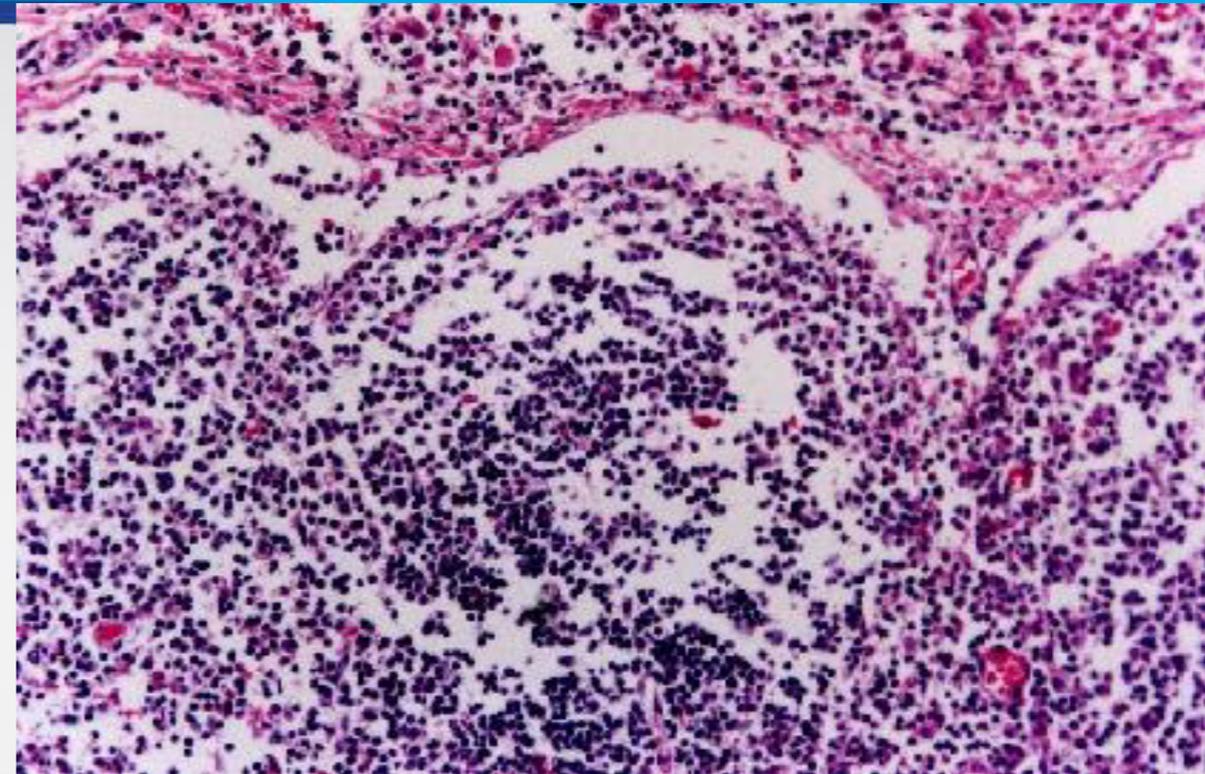
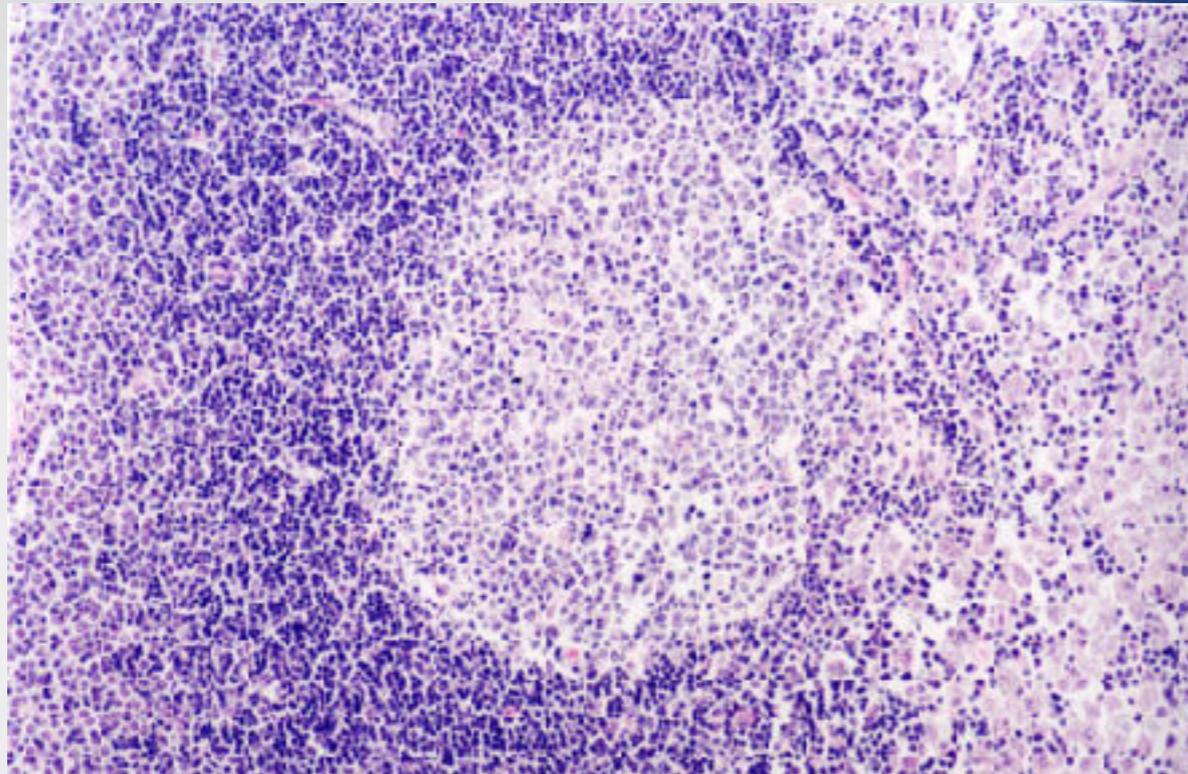
DIAGNÓSTICO NA LVC

REAÇÃO DE IMUNOCITOQUÍMICA (RICQ)



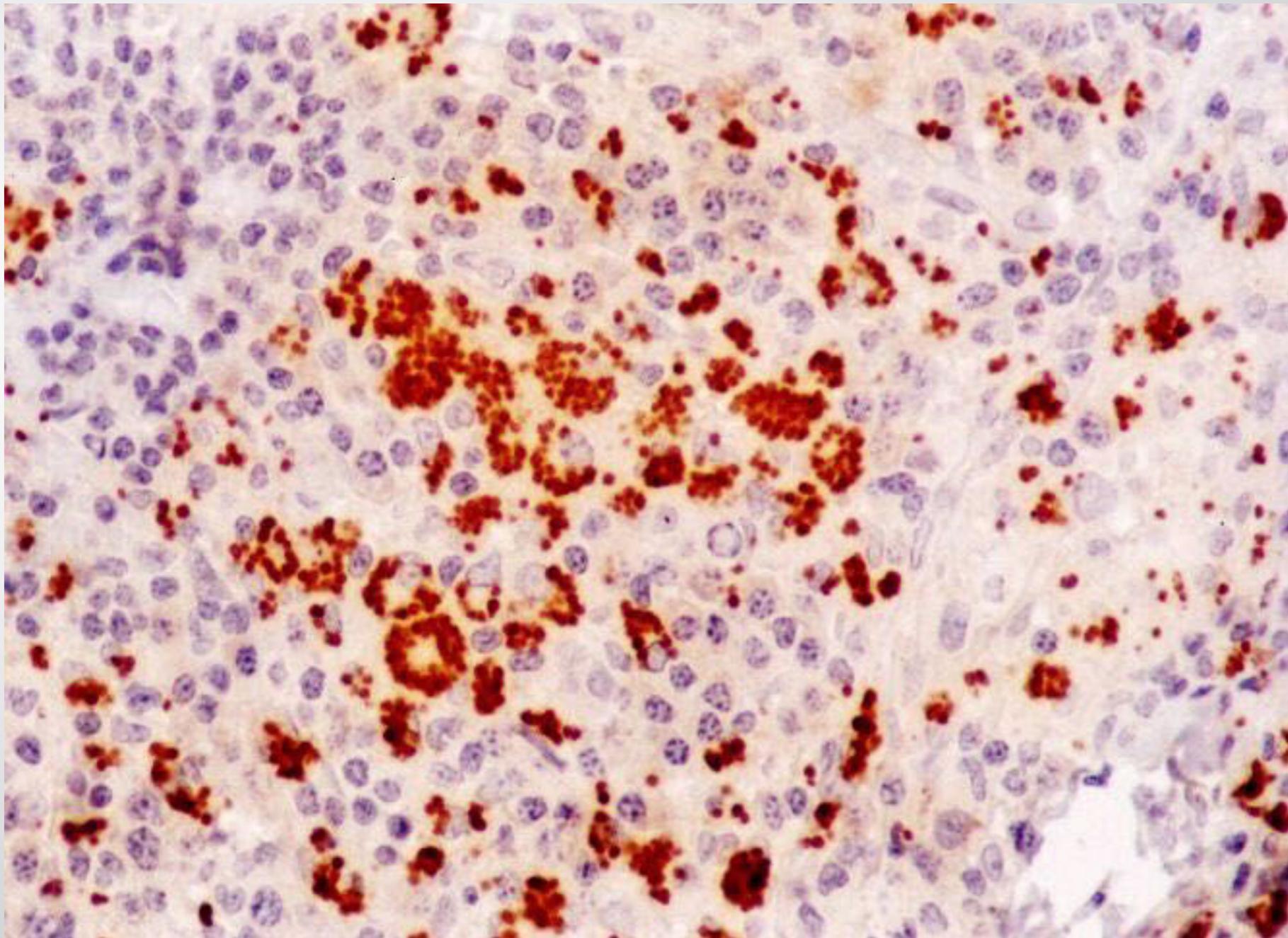
DIAGNÓSTICO NA LVC

HISTOPATOLOGIA (H&E)



DIAGNÓSTICO NA LVC

REAÇÃO DE IMUNOISTOQUÍMICA (RIHQ)



DIAGNÓSTICO NA LVC



Available online at www.sciencedirect.com



Veterinary Parasitology 145 (2007) 245–252

**veterinary
parasitology**

www.elsevier.com/locate/vetpar

Comparison of parasitological, immunological and molecular methods for the diagnosis of leishmaniasis in dogs with different clinical signs

M.A.B. Moreira^{a,b}, M.C.R. Luvizotto^b, J.F. Garcia^c,
C.E.P. Corbett^a, M.D. Laurenti^{a,*}

^aLaboratory of Infectious Diseases Pathology, Department of Pathology, Medical School, University of São Paulo (USP), São Paulo, Brazil

^bLaboratory of Pathology, Department of Animal Clinic, Surgery and Reproduction, School of Veterinary Medicine, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, Brazil

^cDepartment of Animal Production and Health, School of Veterinary Medicine, São Paulo State University (UNESP), Araçatuba, Brazil

Received 13 March 2006; received in revised form 23 November 2006; accepted 18 December 2006



Shaping the future of animal health

DIAGNÓSTICO NA LVC



HISTOPATOLOGIA H&E X IHQ

Órgãos	Teste	Formas Clínicas		
		Sintomático	Oligossintomático	Assintomático
Linfonodo	H&E	43,90%	40,00%	39,13%
	IHQ	65,85%	68,00%	72,73%
Baço	H&E	36,59%	28,00%	34,78%
	IHQ	60,98%	64,00%	69,57%
Medula Óssea	H&E	26,83%	12,00%	21,74%
	IHQ	58,54%	32,00%	47,83%
Fígado	H&E	26,83%	12,00%	13,04%
	IHQ	53,66%	40,00%	56,52%

A especificidade foi de 100%, no que se refere aos diferentes métodos empregados para o diagnóstico da LVC.

DIAGNÓSTICO NA LVC

Molecular



of animal health



DIAGNÓSTICO NA LVC

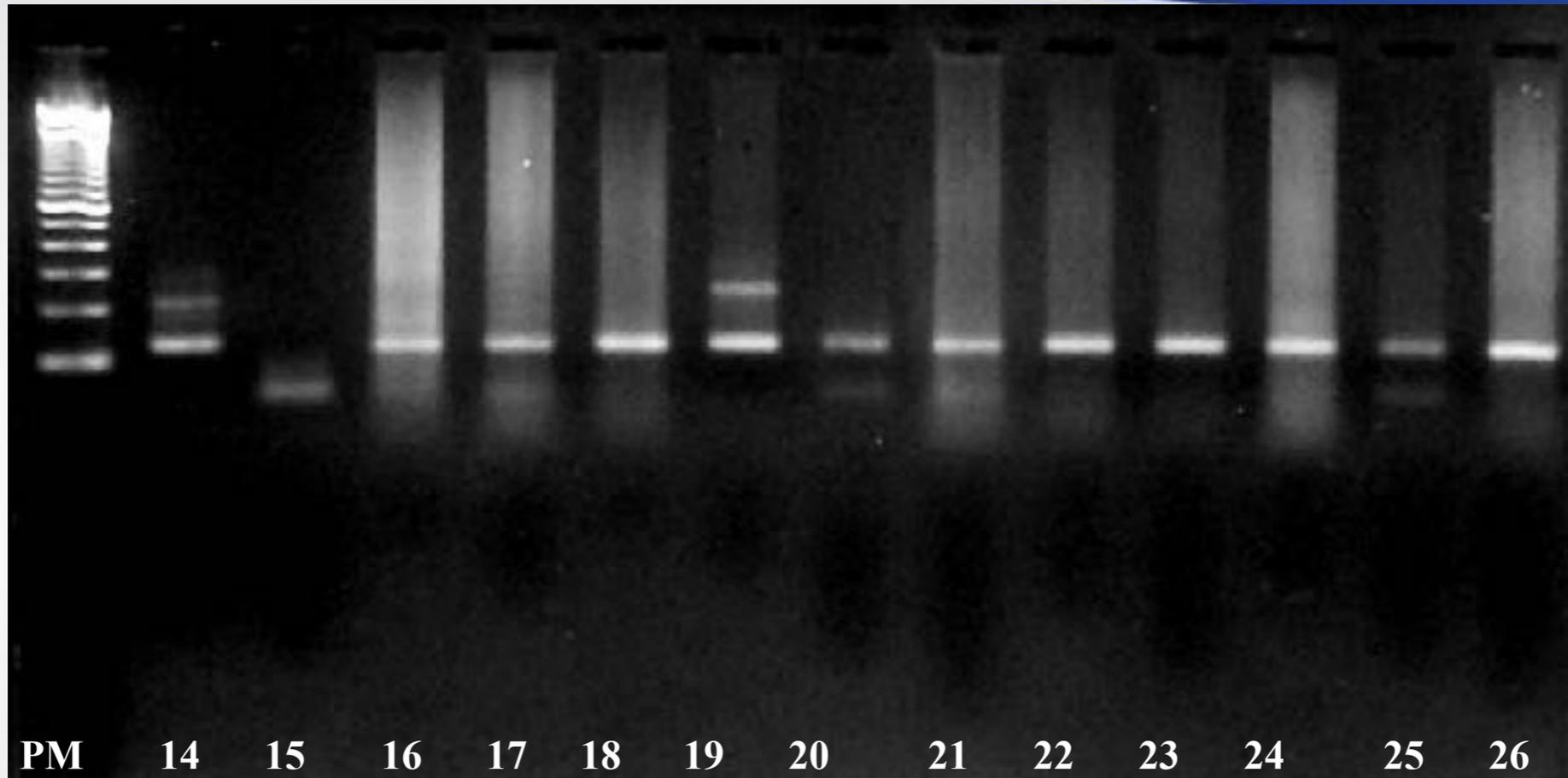


PCR – GEL DE AGAROSE

Molecular

PM 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13

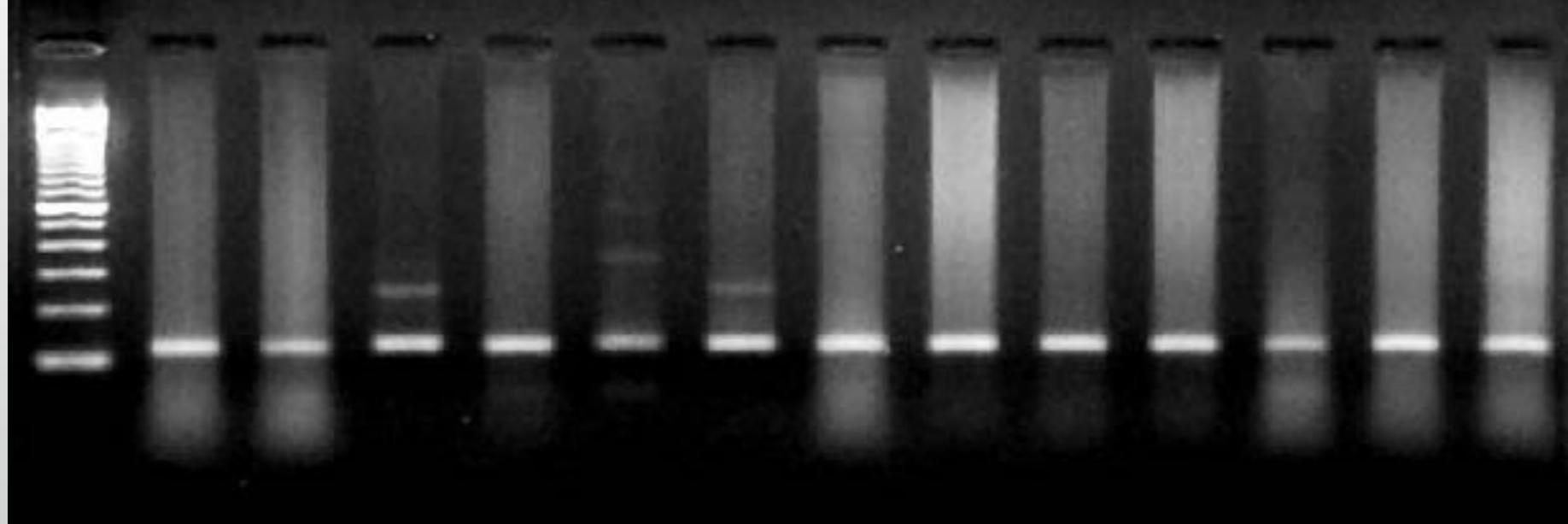
200pb
100pb



120pb

PM 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26

200pb
100pb



120pb



DIAGNÓSTICO NA LVC



Molecular

Grupos	Resultado
Sintomático	41/41 (100,00%)
Oligossintomático	24/25 (96,00%)
Assintomático	22/23 (95,65%)

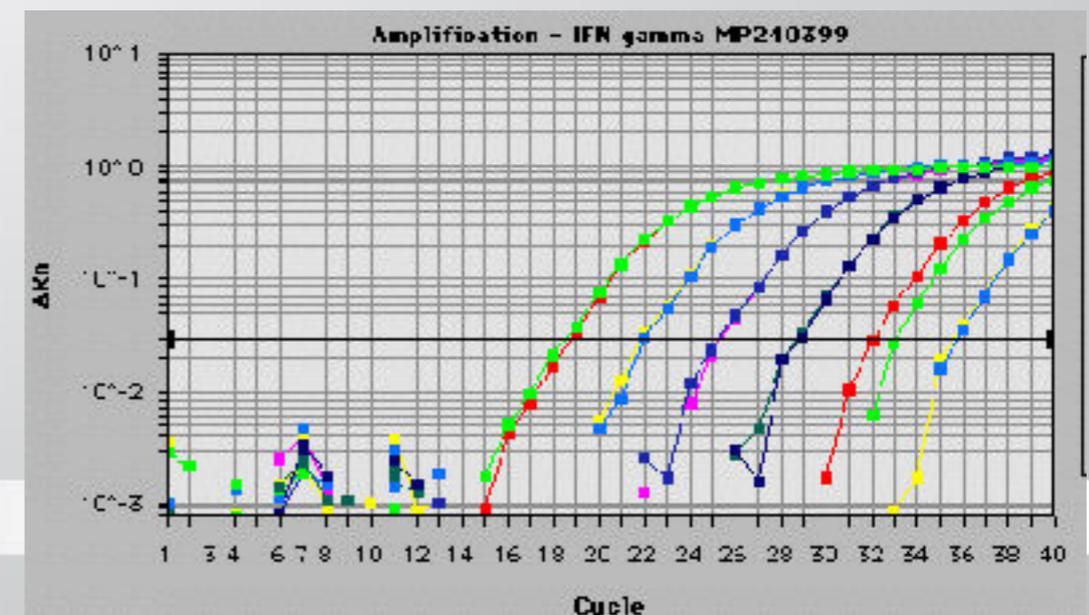
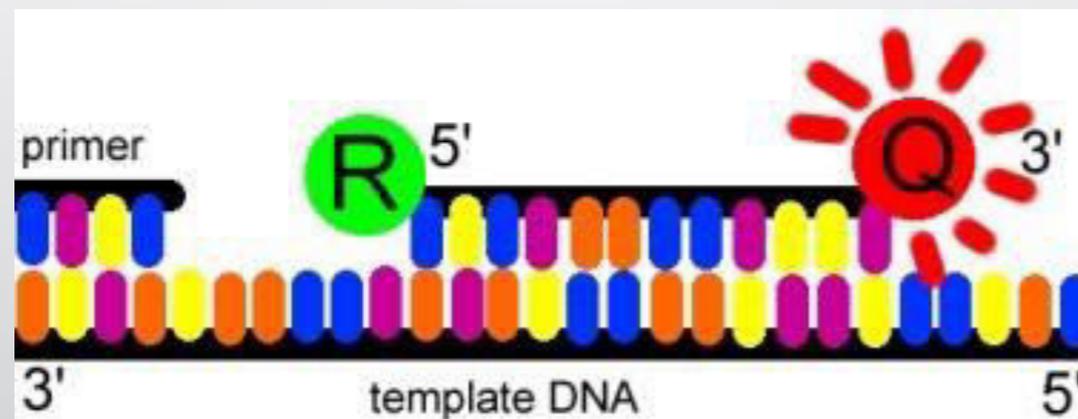
DIAGNÓSTICO NA LVC

Molecular

RT - PCR

qPCR

Amplificação do DNA em tempo real



DIAGNÓSTICO NA LVC

Molecular



Martínez et al. *Parasites & Vectors* 2011, 4:57
<http://www.parasitesandvectors.com/content/4/1/57>



SHORT REPORT

Open Access

Canine leishmaniasis: the key points for qPCR result interpretation

Verónica Martínez^{1*}, Javier Quilez¹, Armand Sanchez², Xavier Roura³, Olga Francino² and Laura Altet²

Abstract

Background: Diagnosis and follow up of CanL is difficult since the range of clinical signs is varied and seroprevalence is high in endemic areas. The aims of this study were: i) demonstrate the advantages of *Leishmania* qPCR to diagnose and control CanL and highlight its prognostic value and ii) propose guidelines for tissue selection and infection monitoring.

Findings: This study included 710 dogs living in an endemic area of leishmaniasis. Forty percent (285/710) exhibited clinical signs consistent with CanL. Infection was detected in 36.3% (258/710) of the dogs of which 4.5% (32/710) were detected by qPCR, 15.2% (115/710) detected by ELISA and 15.6% (111/710) tested positive for both tests. Only 17.9% (127/710) of the dogs were classified sick (affected) with CanL.

All symptomatic dogs with medium or high ELISA titers were qPCR-positive in blood samples. All dogs with inconclusive or low ELISA results with high or medium qPCR parasitemia values developed the disease. Seventy one percent of asymptomatic ELISA-positive dogs confirmed by qPCR (medium to high parasitemia) developed the disease. Bone marrow or lymph node aspirate should be selected to ensure the absence of the parasite in asymptomatic dogs: 100-1,000 parasites/ml in bone marrow are detectable in blood, whereas lower parasite loads are usually negative. Almost 10% of negative samples in blood were positive in conjunctival swabs.

Conclusions: Because qPCR allows parasite quantification, it is an effective tool to confirm a diagnosis of CanL in (i) cases of inconclusive ELISA results, (ii) when the dog has not yet seroconverted, or (iii) for treatment monitoring.



DIAGNÓSTICO NA LVC



Molecular

710 cães foram estudados

36,3% (285/710) detectada

4,5% (710/32) qPCR

16,2% (115/710) ELISA

15,6% (111/710) detectado pelos dois testes

17,9% (127/710) foram classificados como doentes

- Cães sintomáticos e com ELISA altos títulos - qPCR + amostras de sangue
- Cães com ELISA - baixos títulos ou indeterminado - qPCR + ; desenvolveram manifestações clínicas
- Aspirado de medula óssea e/ou linfonodo - deve ser usado para garantir a ausência do parasito em condições assintomáticas
- Para ser detectado pelo sangue 100/1000 parasitos por mL - mais de 10% dos casos negativos no qPCR de sangue foram positivas no SWAB conjuntiva
- qPCR pode ser utilizado:
 - Casos de resultados ELISA inconclusivos;
 - Quando ainda não ocorreu soroconversão;
 - Monitorar tratamento

DIAGNÓSTICO NA LVC

Molecular



Material a ser encaminhado para qPCR ?

SANGUE - EVITAR

MO

Linfonodo

Pele

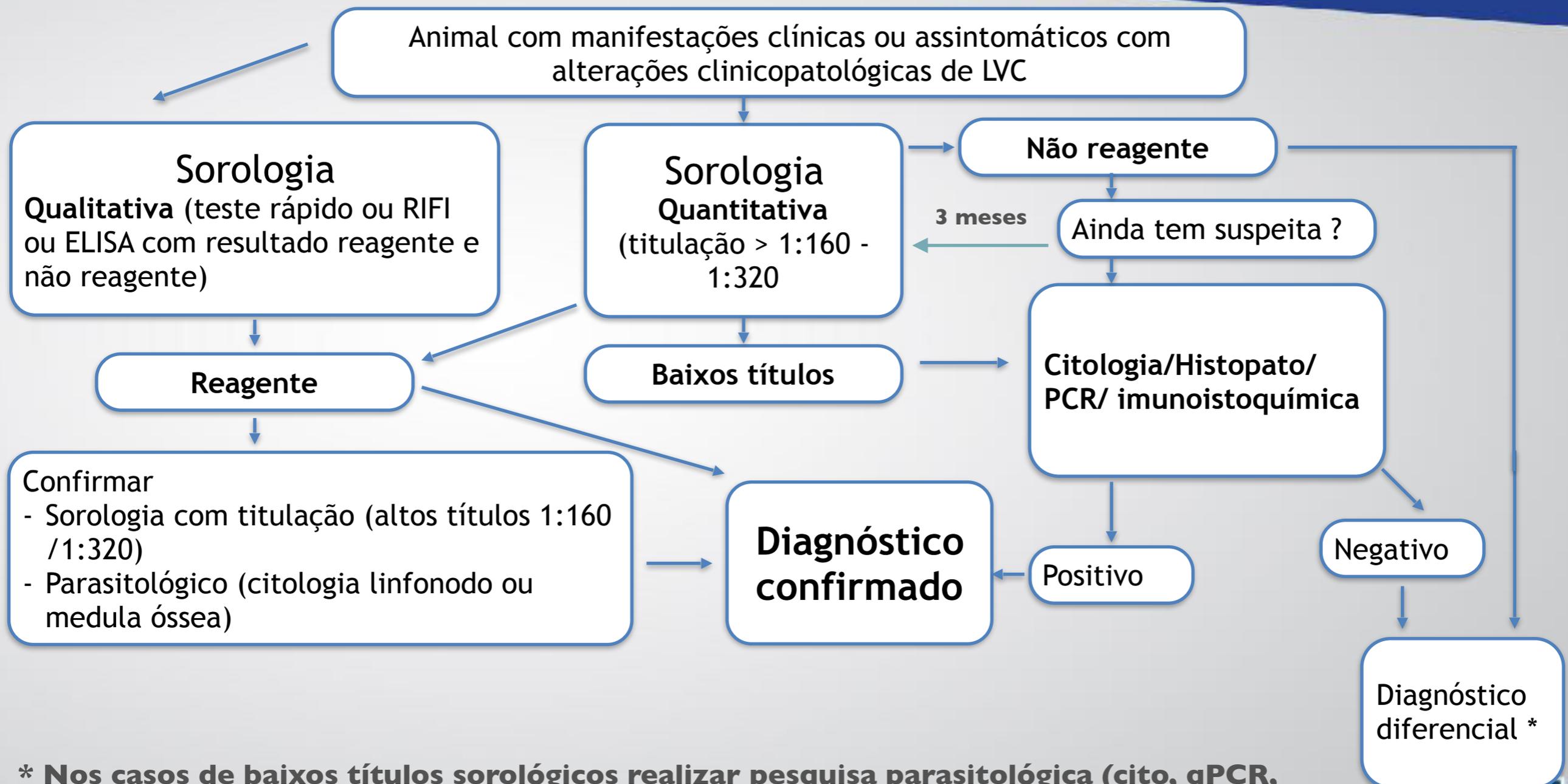
SWAB de conjuntiva

DIAGNÓSTICO NA LVC

XENODIAGNÓSTICO



DIAGNÓSTICO NA LVC



* Nos casos de baixos títulos sorológicos realizar pesquisa parasitológica (cito, qPCR, histopato, imunoistoquímica)

* QUANDO REALIZAR O DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL (NEGATIVO PARA LVC) REPETIR A PESQUISA A CADA 6 MESES POR 18 MESES

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

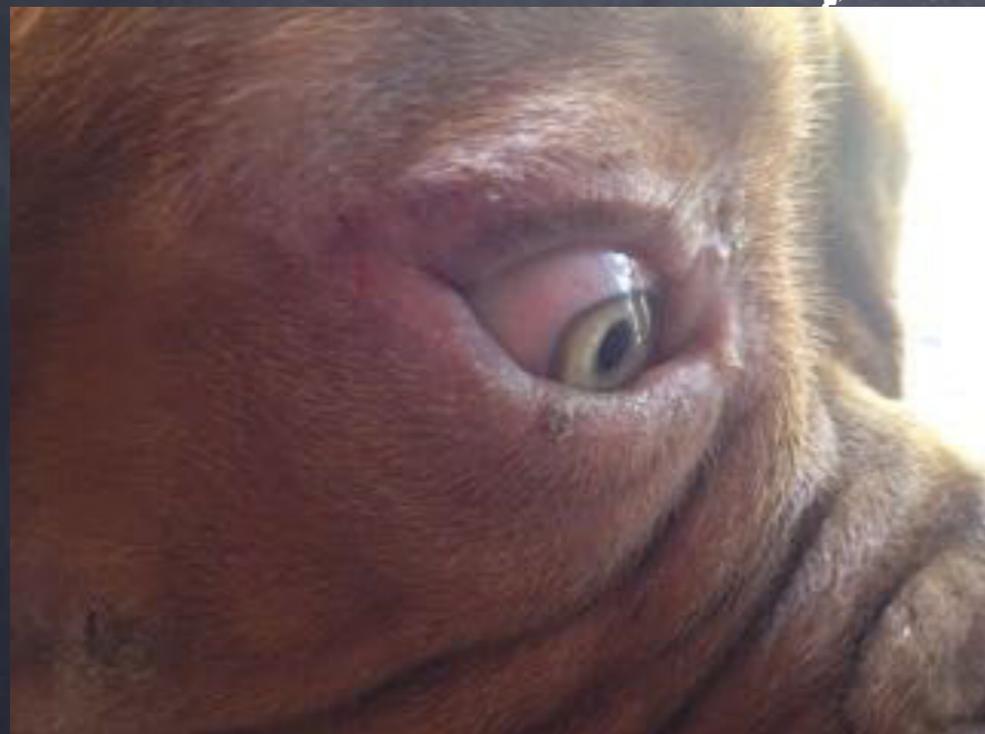
- Lesões em pele
circulares,
alopécicas,
crostosas,
algumas
hiperêmicas



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Manifestações Clínicas



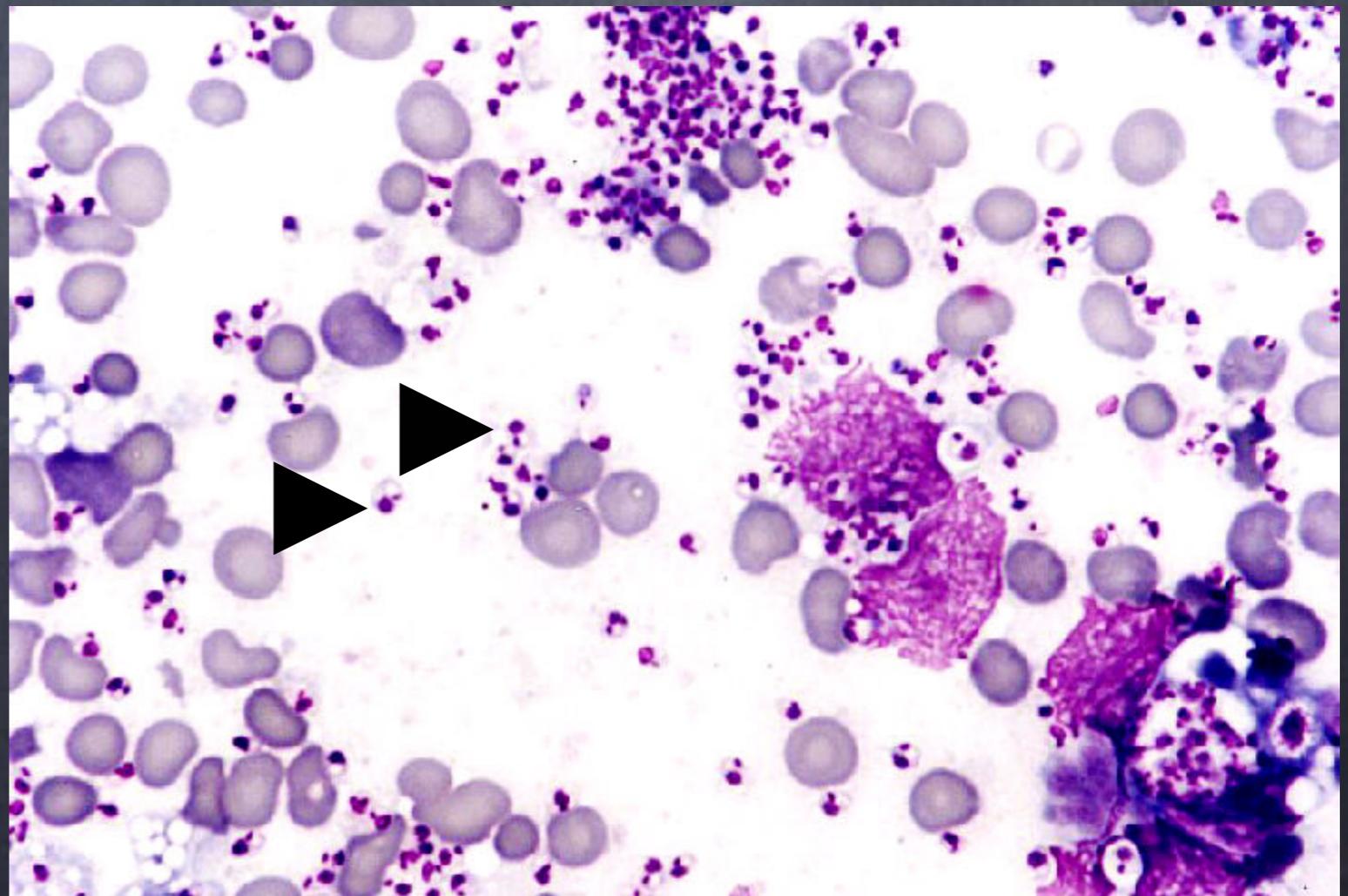
MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Evolução

Manifestações clínicas - graves
Linfadenomegalia - generalizada

Citologia
aspirativa



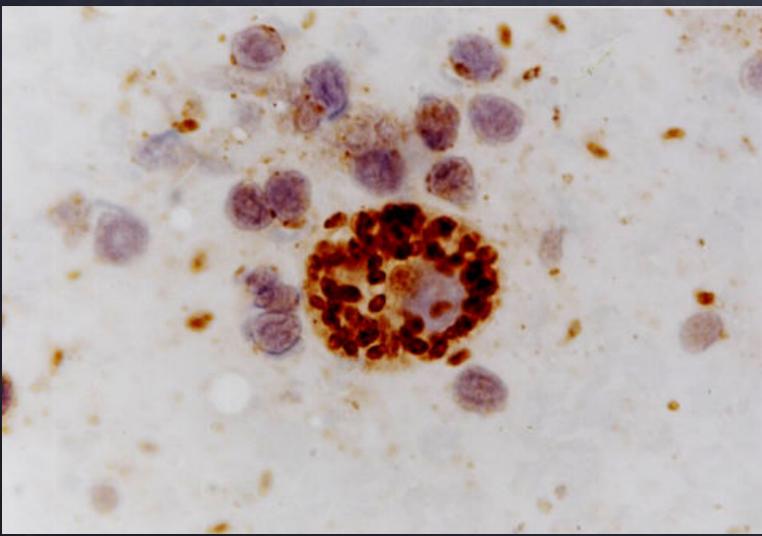
MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Outros exames

Sorologia RIFI/ELISA - 1:1280
DPP - Reagente

Histopatológico
Imunoistoquímica
PCR ou qPCR



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

Tratamento

- Milteforan 2 mg/Kg/SID - 30 dias
- Alopurinol 20 mg/kg/BID - 2 anos
- Fitoplus 6 meses
- Coleira (imidacloprida/flumetrina)
- Complexo vitamínico (ômega)
- Prednisona 1 mg/kg/SID - 30 dias
- Domperidona 0,5 mg/kg, BID, 90 dias
- Metronidazol 25mg/kg/24 horas/espíramicina 750.000 - 900.000UI/10kg/24 horas, 1 comprimido, SID, 90 dias (após término da doxiciclina)
- Doxiciclina 7 mg/kg/BID - 30 dias
- Após 30 dias do início deste protocolo - imunoterapia

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1



MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX,
ANO, MACHO

1

MONITORAMENTO DO TRATAMENTO

Exame Físico

Exames Laboratoriais

Exame físico

Hemograma

Relação albumina:globulina

Perfis hepático e renal

Sorologia com titulação (semestral / anual)

Citologia Linfonodo e/ou Medula óssea

qPCR - pele/MO/linfonodo (semestral / anual)

MUFFIN, CANINO, DOGUE DE BORDEAUX, ANO, MACHO

1

LEISHMANIA INFANTUM-CHAGASI - PCR QUALITATIVO

MATERIAL ANALISADO: PUNÇÃO DE MEDULA ÓSSEA.

HISTÓRICO CLÍNICO: AUSÊNCIA DE INFORMES NA REQUISIÇÃO DE EXAMES.

MÉTODO: PCR-AMPLIFICAÇÃO EM TEMPERATURA ALTA DE DNA QUALITATIVO

RESULTADO: NEGATIVO

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Resultados positivos confirmam a presença de *Leishmania infantum-chagasi* na amostra pesquisada.

Resultados negativos devem ser avaliados com cautela, pois há fatores que podem contribuir para a não detecção como MOMENTO DA INFECÇÃO / ESTÁGIO DA DOENÇA, tipo de material coletado e sua preservação dentre outros. Por isto é sempre necessário avaliar e correlacionar com exames específicos, exames diferenciais de outras patologias, além de exames complementares, dentre eles sorologia específica ELISA e RIFI (cod 083), sorologia para doenças transm. pelo carrapato (Perfil Doença Transmitida pelo Carrapato cod 668), histopatologia (cod 086), Imuno-

histoquímica (cod-456) e exames bioquímicos (Perfil Check Up Global de Funções

cod 570 e Eletroforese de Proteínas Séricas cod 264), sempre à avaliação clínica e epidemiológica.

No caso de obtenção de resultados positivos, sugere-se ainda quantificação de carga parasitária por meio da técnica de PCR REAL TIME (cod 680).

COMENTÁRIO TÉCNICO:

O método utilizado foi desenvolvido SOBREVIVENTE PARA A DETECÇÃO DA VITIS DE *L. infantum-chagasi*

DE amostras e as sequências de sondas utilizadas nos 100% de sensibilidade com uma ampla variedade de espécies de referência relevantes (bases de bioinformática abrangentes e disponíveis para as definições de sequências essenciais de *Leishmania*). A técnica possui especificidade e sensibilidade superiores a 99% em amostra adequadas mesmo em casos de amostras com baixa carga do agente. Em caso de dúvida para confirmação, recomendando-se caso de resultados diferentes do esperado, a realização e realização de novos exames a partir de nova coleta de amostra, sendo pelo menos 2 tipos diferentes de microrganismos. De acordo com a norma - buscar há requisição de cod 481) a um intervalo de 2-3 semanas.

CONTROLE DE QUALIDADE E VALIDAÇÃO:

Foram realizados os controles abaixo:

Controles positivo e controle negativo de detecção.....	Validos/Conformes
Controle interno de extração de DNA.....	Válido/Conforme
Controle interno de amplificação ACTB (Beta actina).....	Válido/Conforme
Controle de verificação ambiental:.....	Válido/Conforme

terceiro ano de monitoramento

DIAGNÓSTICO NA LVC



Virbac

Shaping the future of animal health

Dylan, canino, SRD, macho, 8 anos

- Suspeita de leishmaniose;
- Proprietário relata tratamento contra Erliquiose (doxiciclina);
- Piodermite recidivante;
- Animal chegou com diagnóstico terapêutico contra leishmaniose:
 - Milteforan 2 ml, SID
 - Domperidona 1mg/kg
 - Alopurinol 300 mg, SID



Manifestações clínicas

- Apatia;
- Perda de peso progressiva;
- Alopecia;
- Pele eritematosa;
- Hiperpigmentação;
- Edema, sensibilidade, e sangramentos esporádicos em coxim;
- Lesões disseminadas apresentando descamação e ulceração ;
- Crostas melicéricas;
- Intensa lambedura em membros.



Exames solicitados

- Hemograma;
- Bioquímica sérica;
- Sorologia;
- Coleta de material para mielograma.

Hemograma

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref	
Hemácias.....:	4,00	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	11,20	5,5 - 7,7 g/dL
Hemoglobina..:	9,30	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245 mg/dL
Hematócrito..:	28,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	58,00	200 - 500 x10 ³ mm ³
VCM.....:	70,00	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos..:		(%)
HCM.....:	23,25	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻³ g)	Eritroblastos..:		100 leuc.
CHCM.....:	33,21	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:		

Observações:

Presença de formação em rouleaux.

Presença de agregados plaquetários.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe	
Leucócitos.....:	11800	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos..:	44,00 %	5192,00	1500 - 5000 /μl
Mielócitos.....:	0,00	%	0,00	0,0 /μl	Monócitos...:	7,00 %	826,00	0 - 800 /μl
Metamielócitos:	0,00	%	0,00	0,0 /μl	Eosinófilos:	0,00 %	0,00	120 - 750 /μl
Bastonetes.....:	0,00	%	0,00	0 - 300 /μl	Basófilos...:	0,00 %	0,00	raros /μl
Segmentados...:	49,00	%	5782,00	300 - 11800 /μl	Outros.....:	0,00 %	0,00	/μl

Observações:

Morfologia celular normal.

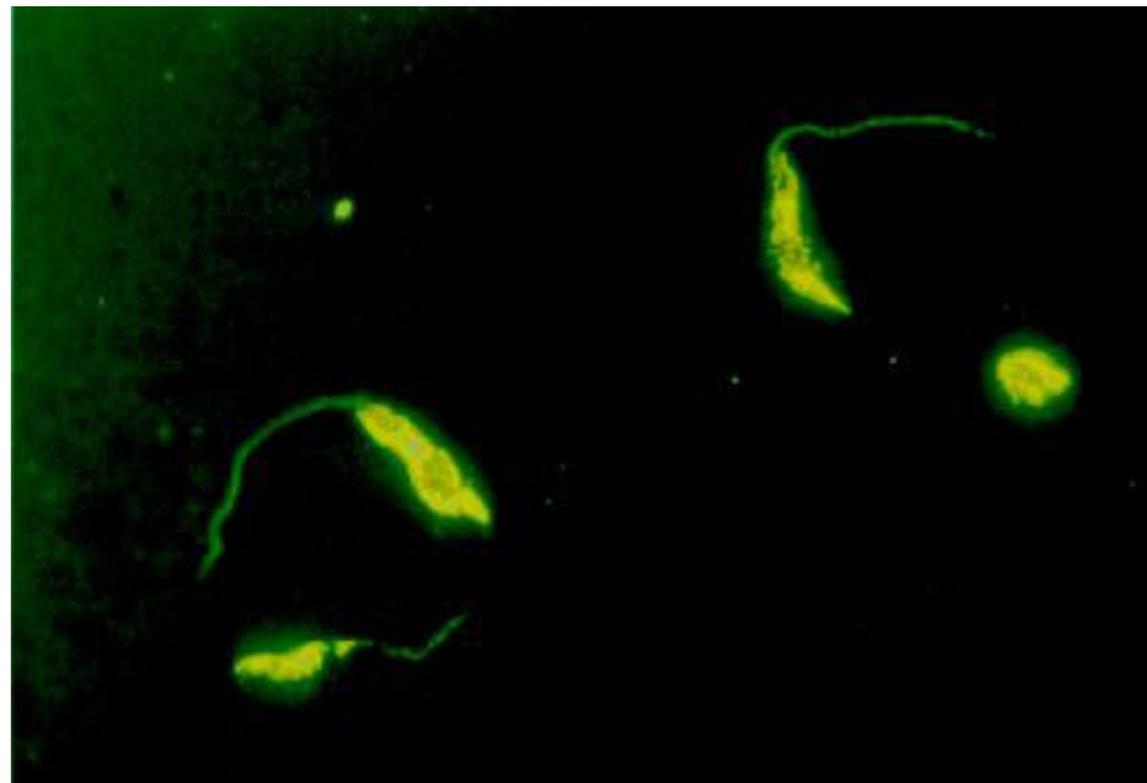
Bioquímica sérica

Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
Albumina - g/dL	1,16	2,3 - 3,8
ALT - U/L	36	7,0 - 92
Colesterol Total - mg/dL	91	116 - 300
Creatinina - mg/dL	0,8	0,5 - 1,6
Fosfatase alcalina - U/L	165	10 - 96
Proteína Total - g/dL	9,1	5,3 - 7,7
Triglicérides - mg/dL	42	15 - 150
Uréia - mg/dL	22	10 - 60
Observações:		
Globulinas: 7,94 g/dL.		

Relação Albumina:globulina : 0,14

Sorologia

- SNAP Leishmania Test-Idexx: não reagente
- RIFI : não reagente



AO 400x; HOVET-AM

Mielograma

- Diagnóstico: Amostra com pesquisa negativa para formas amastigotas de *Leishmania sp.*



Fonte: Lab Patologia Clínica Hovet AM / 2008

Biópsia de pele

- Encaminhamento para biópsia, para realização de histopatológico.

Histopatológico

Macroscopia

Recebidos três fragmentos de pele medindo 0,5 x 0,5 x 0,5 cm, cada. A superfície de corte é típica (B1/3Fr).

Microscopia

Foram analisados cortes histológicos de pele representados por epiderme, derme e hipoderme. A epiderme exhibe ortoqueratose laminar marcada, paraqueratose focal, crostas serocelulares e querato-leucocitárias neutrofílicas, exocitose de linfócitos e espongiose. Os infundíbulos foliculares apresentam hiperplasia marcada e os folículos estão colonizados por marcada quantidade de ácaros do gênero *Demodex* spp. Focos de foliculite profunda com furunculose e reação piogranulomatosa secundária a corpo estranho (fragmentos de *Demodex* spp e queratina), além de granulomas parafoliculares também são observados. A derme apresenta infiltrado inflamatório linfoplasmocitário perivascular, intersticial e perianexial marcado. Não foram observados indícios de dermatite auto-imune.

Diagnóstico

Foliculite profunda com furunculose secundária a demodiciose.

Tratamento

- Doxitrat 200 mg (1/2 comprimido, BID, 15 dias);
- Banhos com Shampoo a base de miconazol (3%) e clorexidine (20%) (1vez/semana);
- Suspensão de medicamentos receitados anteriormente contra Leishmaniose;

Retorno



Retorno para quadro hematológico...

- Melhora das lesões dermatológicas;
- Solicitado:
 - Hemograma
 - Sorologia com titulação contra *Ehrlichia canis*

Hemograma

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref	
Hemácias.....:	4,32	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	10,80 5,5 - 7,7	g/dL
Hemoglobina.:	10,00	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio..:		100 - 245
Hematócrito.:	30,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	84,00	200 - 500
VCM.....:	69,44	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:		(%)
HCM.....:	23,15	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻² g)	Eritroblastos.:		100 leuc.
CHCM.....:	33,33	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:		

Observações:

Discreta anisocitose por macrocitose e policromasia.

Moderada trombocitopenia.

LEUCOGRAMA

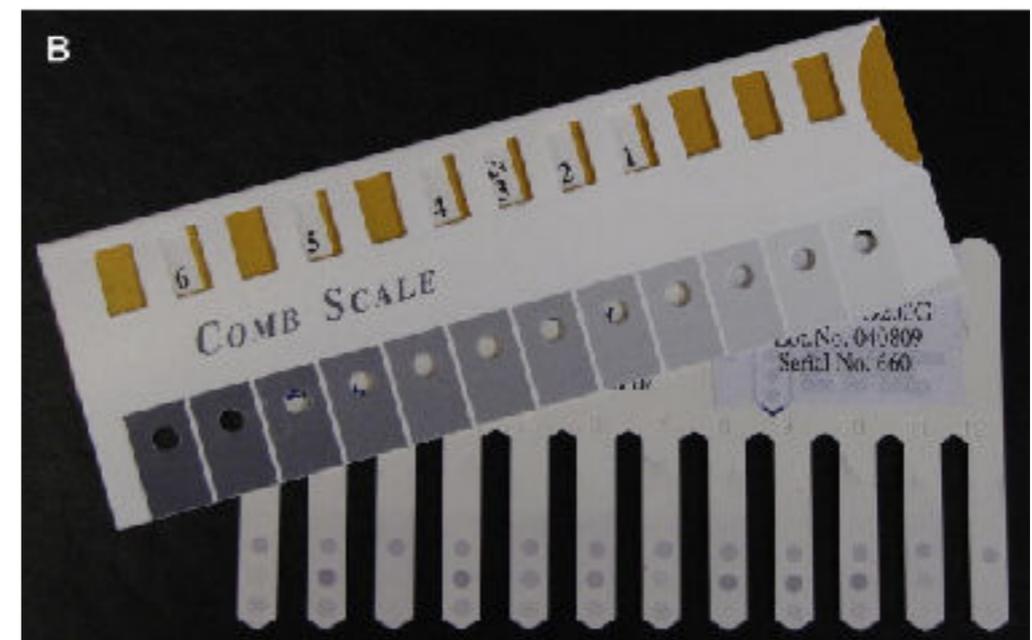
	Result	Absol	Refe	Result	Absol	Refe
Leucócitos.....:	9120	/μl	6000 - 15000 /μl	Linfócitos.:	19,00 %	1732,80 1500 - 5000 /μl
Mielócitos.....:	0,00	% 0,00	0,0 /μl	Monócitos..:	5,00 %	456,00 0 - 800 /μl
Metamielócitos:	0,00	% 0,00	0,0 /μl	Eosinófilos:	1,00 %	91,20 120 - 750 /μl
Bastonetes.....:	0,00	% 0,00	0 - 300 /μl	Basófilos..:	0,00 %	0,00 raros /μl
Segmentados...:	75,00	% 6840,00	300 - 11800 /μl	Outros.....:	0,00 %	0,00 /μl

Observações:

Morfologia celular normal.

Sorologia

- Immunocomb Canine Ehrlichia (Biogal's): Reagente.
- Titulação: 1:640



Tratamento

- Confirmado: Erliquiose
- Excluída suspeita de Leishmaniose (monitoramento) - três pesquisas sorológicas com intervalo de 6 meses/cada
- Manter:
 - Doxiciclina 100 mg, 1 comprimido, BID, 20 dias;
 - Prednisona 2mg/kg, SID, 30 dias.

Tratamento



DIAGNÓSTICO NA LVC



Virbac

Shaping the future of animal health

Lucy, can., fêmea, Schnauzer, 4 anos

- Lucy, can, fêmea, schnauzer, 4 anos
- Animal deu entrada no hospital com principal queixa de anorexia há 3 dias e emagrecimento progressivo há 3 meses.
- Encaminhado de colega com diagnóstico positivo para *Leishmania* sp em MO de Leishmaniose pois animal viajava para Buritama (próximo a Araçatuba).
- Sorologia RIFI: 1:80
- Animal tinha contactantes (cães e pombos).

Lucy, can., fêmea, Schnauzer, 4 anos



Exame físico

- Estado geral: Prostrado
- Mucosas: hipocoradas
- Linfonodos: discretamente reativos
- Hidratação: Levemente desidratado
- T° C: 37,5
- FC: 160 BPM
- FR: 24 MPM

Exames complementares

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref	
Hemácias.....:	2,01	5,5 - 8,5	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	4,20 5,5 - 7,7	g/dL
Hemoglobina.:	4,60	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245
Hematócrito.:	14,00	37 - 55	(%)	Plaquetas.....:	16,00	200 - 500
VCM.....:	69,65	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:		0 - 1,5
HCM.....:	22,89	19,5 - 24,5	pg (10 ⁻² g)	Eritroblastos.:		100
CHCM.....:	32,86	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:		leuc.

Observações:

Reticulócitos relativo: 0,8%

Contagem corrigida de reticulócitos: 0,24%

Reticulócitos absoluto: 16080/microlitro

Plaquetas normais em morfologia.

Intensa trombocitopenia.

Moderada anisocitose por macrocitose e microcitose.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe
Leucócitos.....:	30000	/μl	6000 - 17000	/μl	Linfócitos.:	2,00	% 600,00 1500 - 5000
Mielócitos.....:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Monócitos...:	6,00	% 1800,00 150 - 1350
Metamielócitos:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Eosinófilos:	0,00	% 0,00 100 - 250
Bastonetes.....:	1,00	% 300,00	0 - 300	/μl	Basófilos...:	0,00	% 0,00 raros
Segmentados....:	91,00	% 27300,00	300 - 11800	/μl	Outros.....:	0,00	% /μl

Observações:

Raros neutrófilos hipersegmentados.

EXAME BIOQUÍMICO

Identificação do Animal...: 44973 - LUCY
Espécie / Raça.....: CANINA/SCHNAUZER
Data Nasc. / Idade / Sexo.: 29/11/2012 / 4 anos, 4 meses e 1 dia / Fêmea
Proprietário.....: 33997 - MARCOS VINICIUS DOS SANTOS FRANÇA

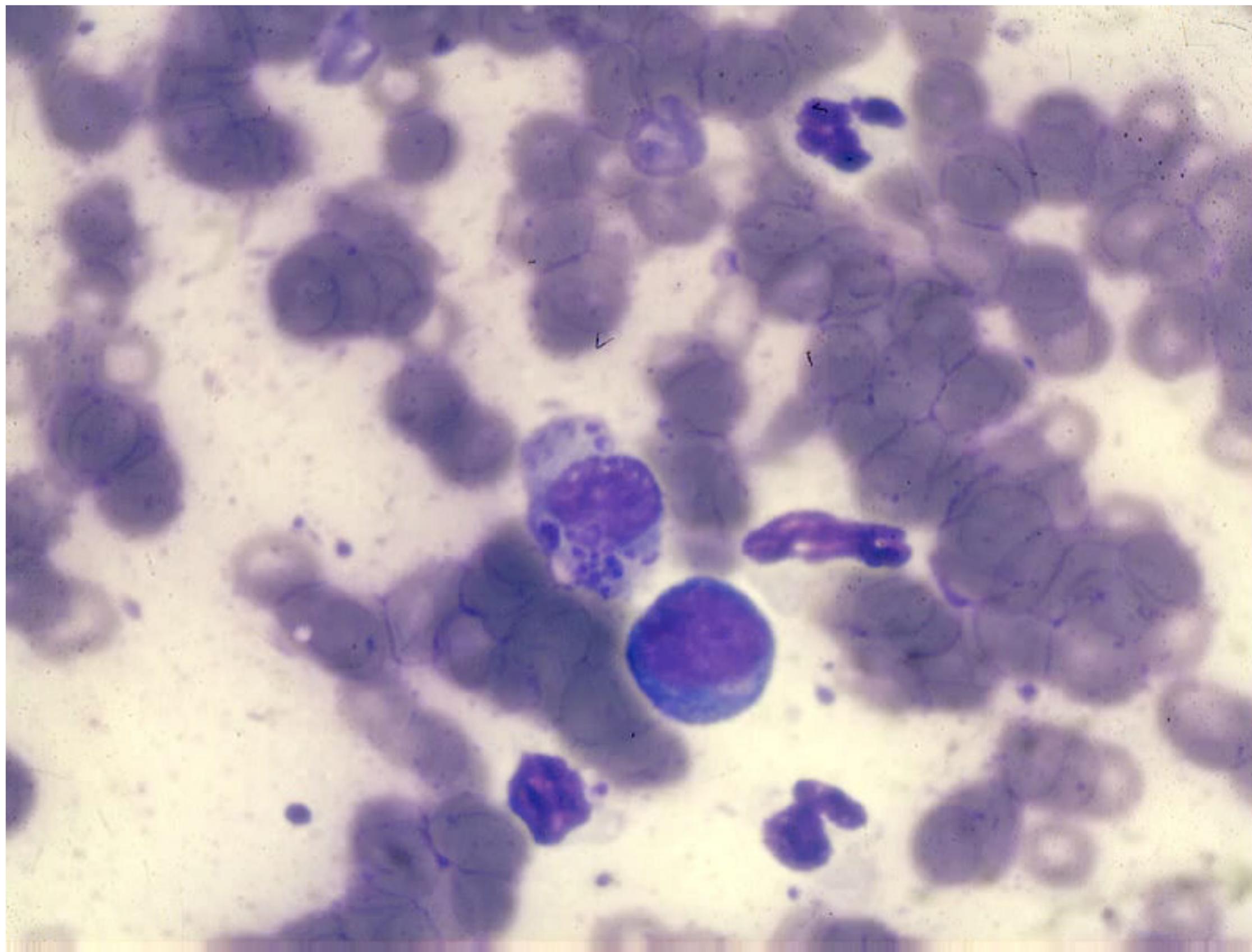
Requisitante.....: MARCIO ANTONIO B. MOREIRA

Data de Coleta.....: 29/11/2016

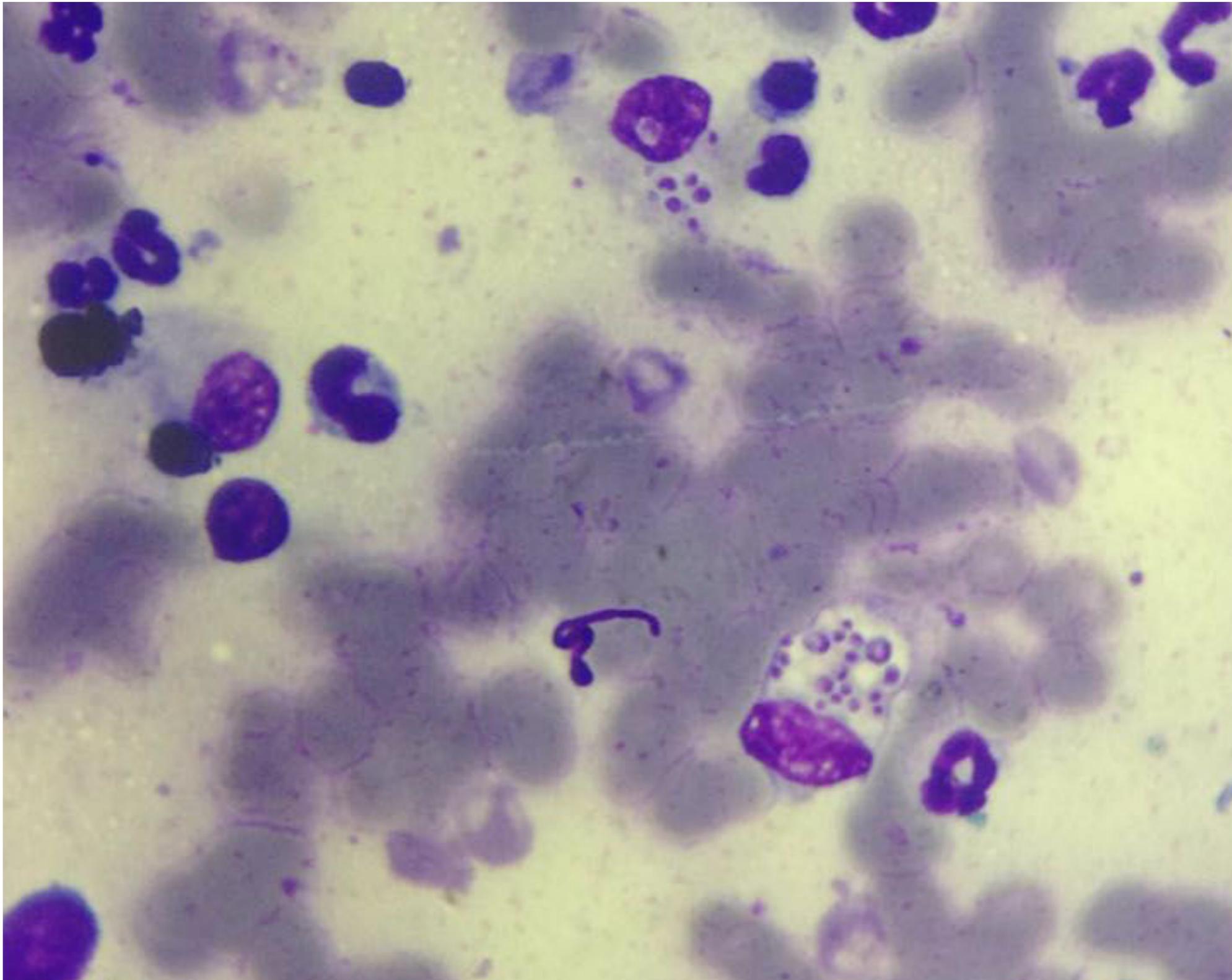
Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
Albumina - g/dL	1,21	2,3 - 3,8
ALT - U/L	29	7,0 - 92
Creatinina - mg/dL	0,5	0,5 - 1,6
Fosfatase alcalina - U/L	403	10 - 96
Proteína Total - g/dL	4,4	5,3 - 7,7
Uréia - mg/dL	131	10 - 60
Observações:		
Soro icterico +++		

Relação Albumina: Globulina = 0,37

Mielograma



Mielograma



Tratamento

- Itraconazol 10mg/kg bid 30d
- Prednisona 1mg/kg sid ANR
- Hemolitan
- Gaviz 10 mg sid 30d
- Cobavital sid

- Animal veio a óbito 2 dias após sua primeira consulta.

DIAGNÓSTICO NA LVC



Virbac

Shaping the future of animal health

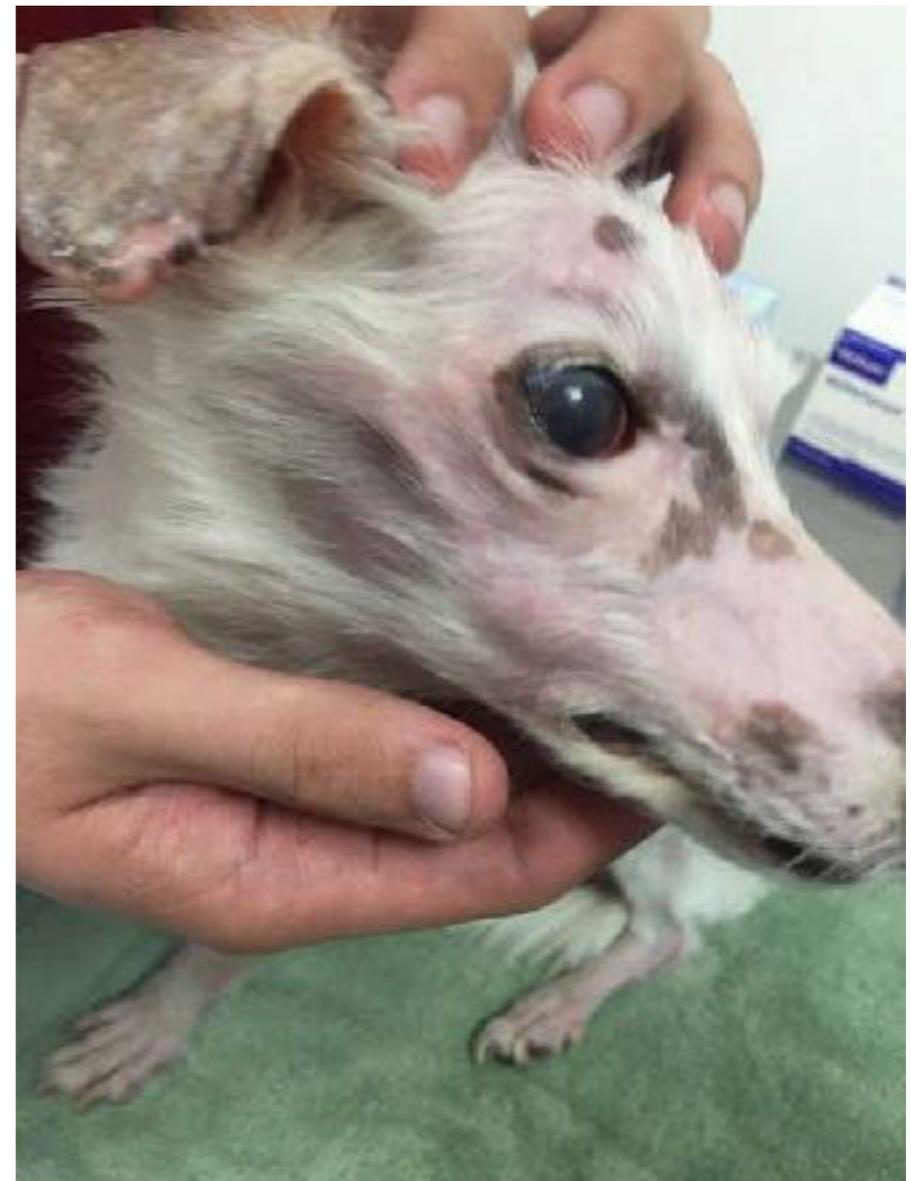
Suzi, canino, SRD, fêmea, 7 anos

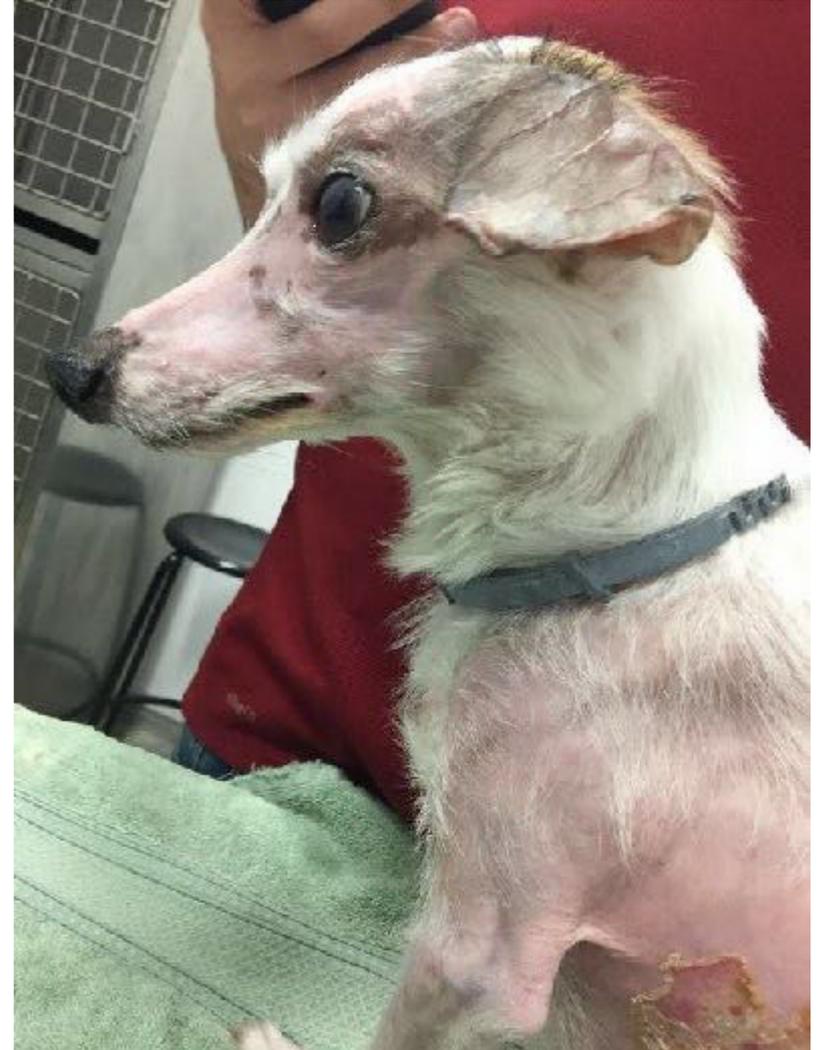
- Animal oriundo de Barra dos Mendes (BA);
- Lesões descamativas recidivantes por todo o corpo;
- Histórico de *Microsporum canis* e candidíase;
- Sorologia reagente para leishmaniose (1:640);
- Histórico de infestação por carrapatos
- Uso de vitaminas e ômega 3, Ranitidina 0,7 mg, omeprazol 10 mg, ondansetrona 8 mg, cloridrato de tramadol, Amoxicilina, complexo vitamínico com ferro, Ursacol, citrato de maropitant, Same.

- Alopecia em ponta de orelha, focinho, membros e face;
- Úlcera de córnea;
- Lesões descamativas disseminadas;



Antes do início das manifestações clínicas





Exames solicitados

- Hemograma;
- Bioquímica sérica;
- Sorologia para detecção de anticorpos contra *Ehrlichia canis*;
- Coleta de material: citologia de linfonodo e mielograma.

Hemograma 13/03

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias.....:	3,31	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	6,00 5,5 - 7,7	g/dL	
Hemoglobina..:	7,66	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito.:	23,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	187,00	200 - 500	x10 ³ mm ³
VCM.....:	69,49	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:			(%)
HCM.....:	23,14	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻² g)	Eritroblastos.:	5,00	100	leuc.
CHCM.....:	33,30	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Raras hemácias em alvo.

Plasma ligeiramente ictérico.

Discreta anisocitose por macrocitose.

Plaquetas normais em morfologia.

Discreta trombocitopenia.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe		
Leucócitos.....:	11740	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos.:	2,00 %	234,80 1500 - 5000	/μl	
Mielócitos.....:	0,00	%	0,00	0,0	/μl	Monócitos...:	0,00 %	0,00 0 - 800	/μl
Metamielócitos:	0,00	%	0,00	0,0	/μl	Eosinófilos:	0,00 %	0,00 120 - 750	/μl
Bastonetes.....:	0,00	%	0,00	0 - 300	/μl	Basófilos...:	%	raros	/μl
Segmentados....:	98,00	%	11505,20	300 - 11800	/μl	Outros.....:	%	/μl	

Observações:

Morfologia celular normal.

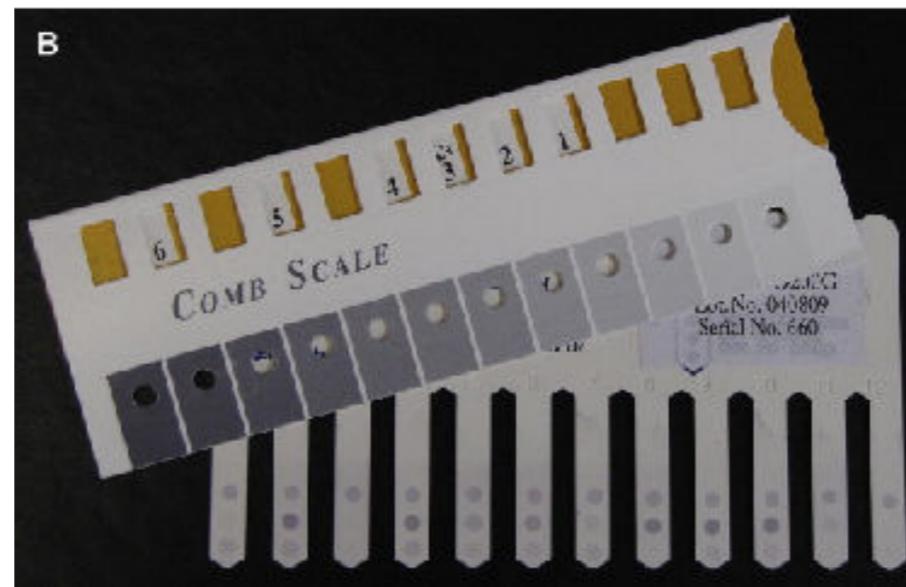
Bioquímica sérica 13/03

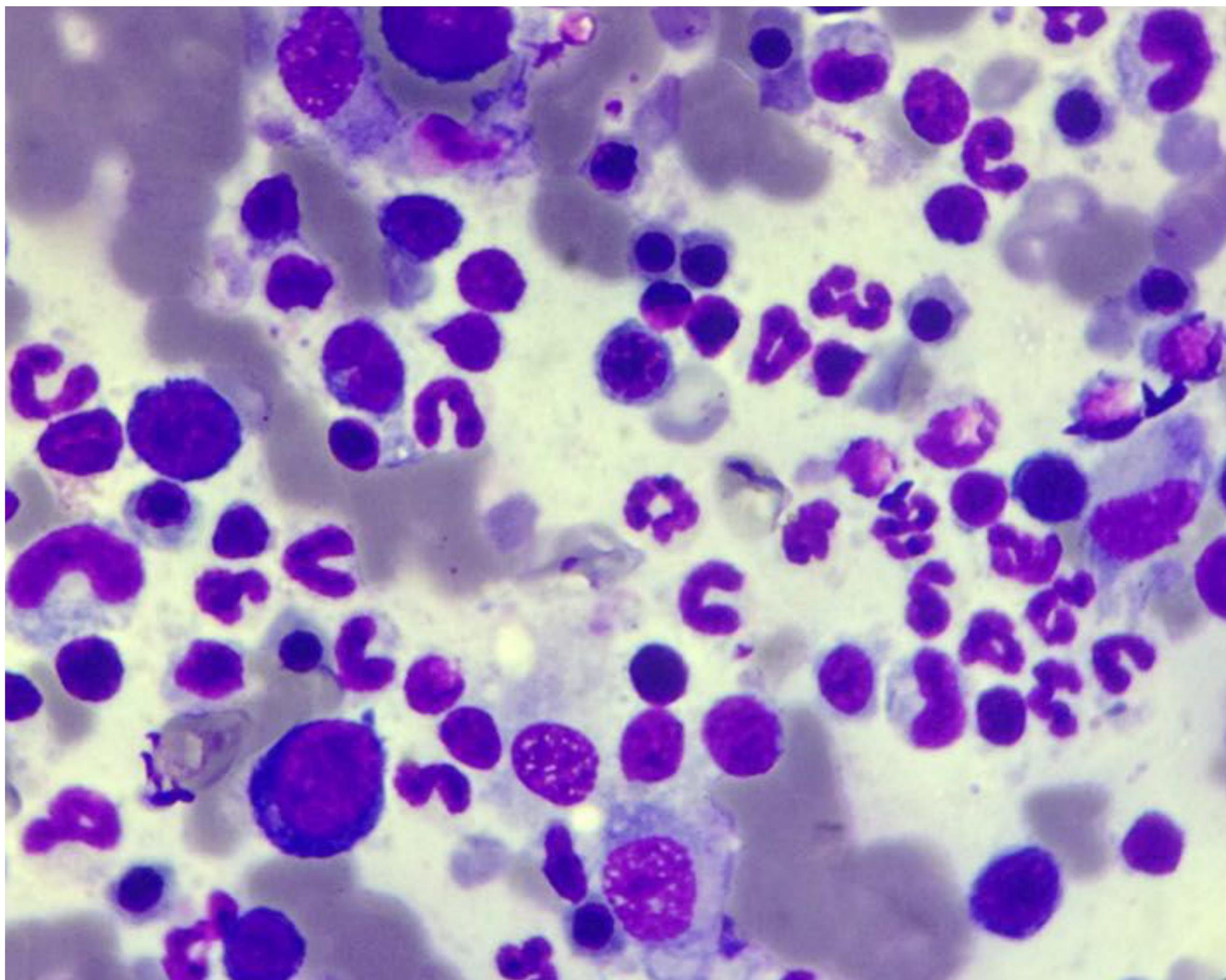
Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
Albumina - g/dL	1,2	2,3 - 3,8
ALT - U/L	41	7,0 - 92
Creatinina - mg/dL	0,3	0,5 - 1,6
Glicose - mg/dL	67	60 - 118
Proteína Total - g/dL	5,8	5,3 - 7,7
Fosfatase alcalina - U/L	234	10 - 96
Globulinas - g/dL	4,6	2,4 - 4,8
Observações:		
Soro icterico +++		
BUN: 8.0 (referência: 7- 25)		

Relação albumina : Globulina = 0,26

Resultado Sorologia

- Immunocomb Canine Ehrlichia(Biogal's): Reagente.
- Titulação: 1:320 - 1:640





Tratamento

- Milteforan 2 mg/Kg/SID - 30 dias
- Alopurinol 20 mg/kg/BID - 2 anos
- Fitoplus 6 meses
- Coleira (imidacloprida/flumetrina)
- Complexo vitamínico (ômega)
- Prednisona 1 mg/kg/SID - 30 dias
- Domperidona 0,5 mg/kg, BID, 90 dias
- Metronidazol 25mg/kg/24 horas/espíramicina 750.000 - 900.000UI/10kg/24 horas, 1 comprimido, SID, 90 dias (após término da doxiciclina)
- Doxiciclina 7 mg/kg/BID - 30 dias
- Após 30 dias do início deste protocolo - imunoterapia

Retorno 27/03

- Animal em bom estado geral
- Coleta para avaliação hematológica

Hemograma 27/03

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias.....:	4,17	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	10,40 5,5 - 7,7	g/dL	
Hemoglobina.:	9,66	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito.:	29,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	343,00	200 - 500	x10 ³ /mm ³
VCM.....:	69,54	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:			(%)
HCM.....:	23,17	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻² g)	Eritroblastos.:		100	leuc.
CHCM.....:	33,31	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Plaquetas normais em quantidade e morfologia.

Discreta anisocitose por macrocitose.

Presença de formação em rouleaux.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe	
Leucócitos.....:	24790	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos.:	2,00	% 495,80 1500 - 5000	/μl
Mielócitos.....:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Monócitos...:	3,00	% 743,70 0 - 800	/μl
Metamielócitos:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Eosinófilos:	0,00	% 0,00 120 - 750	/μl
Bastonetes.....:	0,00	% 0,00	0 - 300	/μl	Basófilos...:	0,00	% 0,00 raros	/μl
Segmentados...:	95,00	% 23550,50	300 - 11800	/μl	Outros.....:		% /μl	

Observações:

Raros neutrófilos tóxicos.

Bioquímica sérica 27/03

Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
Albumina - g/dL	2,24	2,3 - 3,8
ALT - U/L	350	7,0 - 92
Creatinina - mg/dL	0,6	0,5 - 1,6
Fosfatase alcalina - U/L	456	10 - 96
Uréia - mg/dL	23	10 - 60
Observações:		
Soro ligeiramente hemolisado		

Adição de medicamento:

- Vermifugação, repete após 15 dias.

Retorno 19/04

- Bom estado geral;
- Melhora em relação a pele, pêlos, ganho de peso;
- Aplicação de 1^o vacina em dose dupla (imunoterapia)

Hemograma 19/04

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias.....:	4,03	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	10,20 5,5 - 7,7	g/dL	
Hemoglobina..:	9,30	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito..:	28,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	183,00	200 - 500	x10 ³ mm ³
VCM.....:	69,48	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos..:			(%)
HCM.....:	23,08	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻³ g)	Eritroblastos..:		100	leuc.
CHCM.....:	33,21	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Discreta anisocitose por macrocitose.

Discreta trombocitopenia.

Plaquetas normais em morfologia.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe		
Leucócitos.....:	6450	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos..:	8,00	% 516,00 1500 - 5000	/μl	
Mielócitos.....:		%	0,0	/μl	Monócitos...:	8,00	% 516,00	0 - 800	/μl
Metamielócitos:		%	0,0	/μl	Eosinófilos:	1,00	% 64,50	120 - 750	/μl
Bastonetes.....:		%	0 - 300	/μl	Basófilos...:		%	raros	/μl
Segmentados....:	83,00	%	5353,50	300 - 11800	/μl	Outros.....:		%	/μl

Observações:

Morfologia celular normal.

Hemograma 29/05

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias.....:	3,88	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	11,40	5,5 - 7,7	g/dL
Hemoglobina.:	9,00	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio...:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito.:	27,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	200,00	200 - 500	x10 ³ mm ³
VCM.....:	69,59	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:			(%)
HCM.....:	23,2	22,0 - 27,0	pg (10 ⁻² g)	Eritroblastos.:		100	leuc.
CHCM.....:	33,33	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Hemácias em Rouleaux.

Plaquetas normais em quantidade e morfologia.

Morfologia celular normal dos eritrócitos.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe		
Leucócitos.....:	8200	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos.:	5,00	% 410,00	1500 - 5000	/μl
Mielócitos.....:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Monócitos...:	1,00	% 82,00	0 - 800	/μl
Metamielócitos:	0,00	% 0,00	0,0	/μl	Eosinófilos:	1,00	% 82,00	120 - 750	/μl
Bastonetes.....:	0,00	% 0,00	0 - 300	/μl	Basófilos...:	0,00	% 0,00	raros	/μl
Segmentados....:	93,00	% 7626,00	300 - 11800	/μl	Outros.....:		%	/μl	

Observações:

Morfologia celular normal.

Retorno 29/05

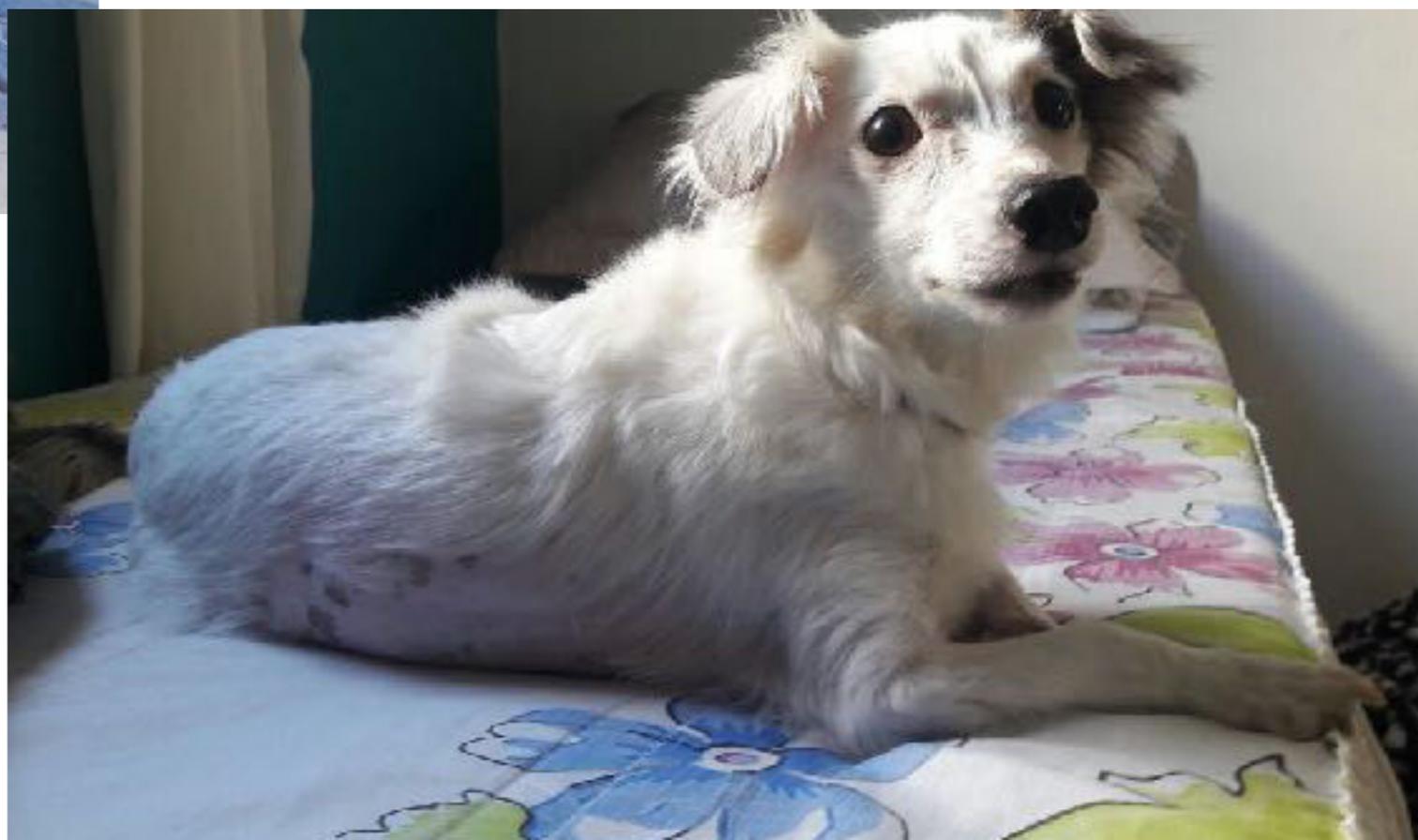
- Animal em bom estado geral.
- Adição da medicação:
 - Pentoxifilina 50 mg, 1 e ½ comprimido, BID, 30 dias.



Fotos 15/06



Foto 24/08



DIAGNÓSTICO NA LVC



Virbac

Shaping the future of animal health

Winnie, canino, bulldog inglês, fêmea, 3 anos

- 22/ 09/ 2015: Animal levado ao veterinário com queixa de claudicação, e foi diagnosticado displasia coxofemoral
- E foi recomendado Carprofeno, Dipirona, Condroitina, zinco, manganês e cobre



27/01/2016

- Retornou ao hospital apresentando:
- Emagrecimento
- Linfadenomegalia
- Lesões em região de boca, olhos
- Nódulos em maxilar, cotovelo
- Histórico de demodicose e giardíase.
- Animal de Brasília
- Animal em tratamento contra babesiose

Exames solicitados

- Hemograma;
- Bioquímica sérica;
- Sorologia
- Coleta de material: citologia de linfonodo
- PCRq

Hemograma 27/01

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias.....:	3,97	5,5 - 8,5	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	11,20	5,5 - 7,7	g/dL
Hemoglobina..:	8,00	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio..:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito..:	26,00	37 - 55	(%)	Plaquetas.....:	122,00	200 - 500	x10 ³ mm ³
VCM.....:	65,49	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos..:		0 - 1,5	(%)
HCM.....:	20,15	19,5 - 24,5	pg(10 ⁻² g)	Eritroblastos..:		100	leuc.
CHCM.....:	30,77	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Moderada anisocitose por macrocitose e microcitose.

Plaquetas normais em morfologia.

Discreta trombocitopenia.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe		
Leucócitos.....:	8400	/μl	6000 - 17000	/μl	Linfócitos..:	13,00	% 1092,00	1500 - 5000	/μl
Mielócitos.....:		%	0,0	/μl	Monócitos..:	3,00	% 252,00	150 - 1350	/μl
Metamielócitos:		%	0,0	/μl	Eosinófilos:	1,00	% 84,00	100 - 250	/μl
Bastonetes.....:		%	0 - 300	/μl	Basófilos..:		%	raros	/μl
Segmentados...:	83,00	%	6972,00	300 - 11800	/μl	Outros.....:		%	/μl

Observações:

Morfologia celular normal.

Bioquímica sérica 27/01

Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
ALT - U/L	10	7,0 - 92
Creatinina - mg/dL	0,95	0,5 - 1,6
Fosfatase alcalina - U/L	73	10 - 96
Proteína Total - g/dL	12,8	5,3 - 7,7
Uréia - mg/dL	20	10 - 60
Observações:		

Albumina : 2,1 g/dL
Relação albumina: globulina = 0,2

Citologia 27/01

- Nos preparados citológicos observou-se moderadas células redondas dispostas livres por esfregaço, apresentando citoplasma basofílico escasso, núcleo redondo a oval, cromatina densa e nucléolos indistintos, presença de discretas formas amastigotas de *Leishmania sp*, discretos eritrócitos e material protéico ao fundo da lâmina.

Sorologia 27/01

- RIFI: Reagente 1:640

PCRq

LEISHMANIA INFANTUM-CHAGASI

PCR EM TEMPO REAL QUANTITATIVO - qPCR

MATERIAL UTILIZADO: PUNÇÃO DE MEDULA ÓSSEA

INFORMES CLÍNICOS: AUSÊNCIA DE INFORMES NA REQUISIÇÃO DE EXAMES.

MÉTODO: PCR-RT (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL QUALITATIVO)

RESULTADO: POSITIVO

45,84 CÓPIAS DE DNA PATÓGENO POR UL DE AMOSTRA EXTRAÍDA.

VALOR DE REFERÊNCIA:

NEGATIVO: Não foram encontradas cópias de DNA de Leishmania na amostra analisada.

POSITIVO: Foram encontradas cópias de DNA de Leishmania na amostra analisada.

NOTA:

- Limite mínimo de detecção: 0,01 cópias de DNA de Leishmania/ml;

- Limite máximo de detecção: 500.000.000 cópias de DNA de Leishmania/ml;

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Resultados positivos confirmam a presença de *Leishmania infantum-chagasi* na amostra pesquisada.

Resultados negativos devem ser avaliados com cautela, pois há fatores que podem contribuir para a não detecção como MOMENTO DA INFECÇÃO / ESTÁGIO DA DOENÇA, tipo de material coletado e sua preservação dentre outros. Por isto é sempre necessário avaliar e correlacionar com exames específicos, exames diferenciais de outras patologias, além de exames complementares, dentre eles sorologia específica ELISA & RIFI (cod 083), sorologia para doenças transm. pelo carrapato (Perfil Doença Transmitida pelo Carrapato cod 668), histopatologia (cod 086), Imuno-histoquímica (cod 456) e exames bioquímicos (Perfil Check Up Global de Funções cod 570 e Eletroforese de Proteínas Séricas cod 264), somado à avaliação clínica e epidemiológica.

COMENTÁRIO TÉCNICO:

A técnica de PCR-RT apresenta resultados mais confiáveis que PCR convencionais, pois tem maior sensibilidade e acurácia. O método utilizado foi desenvolvido para a QUANTIFICAÇÃO in vitro de *L. infantum-chagasi*. Os iniciadores e as sequências de sondas utilizadas tem 100% de homologia com uma ampla variedade de sequências de referência relevante (análise de bioinformática abrangente) e desenvolvido para não detectar outras espécies correlatas de *Leishmania*. A técnica possui especificidade e sensibilidade superiores a 95% na amostra adequada (há detecção até mesmo em amostras com baixa carga do agente). Em caso de reteste para confirmação ou reconhecido ou caso de resultados diferentes do esperado, é recomendada a realização de novos exames a partir de nova colheita de amostras sendo pelo menos 2 tipos diferentes de material, (ex.: baço e medula - marcar na requisição 2x cod 680) e com intervalo de 2-3 semanas.

Liberado Tecnicamente: 277

Belo Horizonte , 20/04/2017

Tratamento

- Alopurinol 300 mg, BID, ANR
- Milteforan 60 ml, , SID, 30 dias
- Prednisona 20 mg, SID 30 dias
- Domperidona 0,5 mg/kg, BID, 90 dias
- Fitoplus
- Metronidazol 25mg/kg/Espiramicina 750.000 - 900.000UI/10kg, 1 comprimido, SID, 90 dias
- Complexo vitamínico
- Immunoterapia

Hemograma

Data	Hematócrito	Proteína	Plaquetas
17/02	30%	9,6	186.000
24/03	37%	9,2	335.000
25/04	40%	7,2	243.000
07/06	44%	7,8	336.000
08/08	41%	8,0	240.000
05/12	45%	9,0	390.000

Bioquímica sérica

Data	Albumina	ALT	Creatinina	FA	Uréia
17/02	3,29	43	0,7	116	41
24/03	2,31	29	0,6	58	39
26/04	2,08	14	0,9	43	27
08/08	2,3	20	1,01	88	23
05/12	2,32	13	1,2	93	68

Retorno 05/12

- Animal em bom estado geral
- Medicacões atuais: Alopurinol 300 mg

LEISHMANIA INFANTUM-CHAGASI

PCR EM TEMPO REAL QUANTITATIVO - qPCR-RT

MATERIAL UTILIZADO: *MEDULA ÓSSEA*

INFORMES CLÍNICOS: *AUSÊNCIA DE INFORMES NA REQUISIÇÃO DE EXAMES.*

MÉTODO: *qPCR-RT (REAÇÃO EM CADEIA DA POLIMERASE EM TEMPO REAL QUANTITATIVO)*

RESULTADO: *POSITIVO; 0,02 CÓPIAS DE DNA
PATÓGENO POR UL DE AMOSTRA EXTRAÍDA.*

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

Resultados positivos confirmam a presença de Leishmania infantum-chagasi na amostra pesquisada. Resultados negativos devem ser avaliados com cautela, pois há fatores que podem contribuir para a não detecção como MOMENTO DA INFECÇÃO / ESTÁGIO DA DOENÇA, tipo de material coletado e sua preservação dentre outros. Por isto é sempre necessário avaliar e correlacionar com exames específicos, exames diferenciais de outras patologias, além de exames complementares, dentre eles sorologia específica ELISA & RIFI(cod 083), sorologia para doenças transm. pelo carrapato (Perfil Doença Transmitida pelo Carrapato cod 668), histopatologia (cod 086), Imuno-histoquímica (cod 456) e exames bioquímicos (Perfil Check Up Global de Funções cod 570 e Eletroforese de Proteínas Séricas cod 264), somado à avaliação clínica e epidemiológica.

COMENTÁRIO TÉCNICO:

A técnica de PCR-RT apresenta resultados mais confiáveis que PCR convencionais, pois tem maior sensibilidade e acurácia. O método utilizado foi desenvolvido para a QUANTIFICAÇÃO in vitro de L. infantum-chagasi. Os iniciadores e as sequências de sondas utilizadas tem 100% de homologia com uma ampla variedade de sequências de referência relevante (análise de bioinformática abrangente) e desenvolvido para não detectar outras espécies correlatas de Leishmania. A técnica possui especificidade e sensibilidade superiores a 95% na amostra adequada(há detecção até mesmo em amostras com baixa carga do agente). Em caso de reteste para confirmação ou recomendado ou caso de resultados diferentes do esperado, é recomendada a realização de novos exames a partir de nova colheita de amostras sendo pelo menos 2 tipos diferentes de material, (ex.: baço e medula - marcar na requisição 2x cod 680) e com intervalo de 2-3 semanas.

DIAGNÓSTICO NA LVC



Virbac

Shaping the future of animal health

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos

- Reside no interior de São Paulo
- Feridas ulceravas
- Emagrecimento progressivo

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos

 Universidade Anhembi Morumbi <small>LAUREATE INTERNATIONAL UNIVERSITIES</small>	UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA HOSPITAL VETERINÁRIO	Usuário	mabmoreira
		15/09/2017	08:13:04
Status Exame: EXAME FOI REVISADO/LIBERADO - 16/12/2016			Pag N° 1

HEMOGRAMA

Identificação do Animal...: 45160 - URSO
 Espécie / Raça.....: CANINA/SRD - SEM RAÇA DEFINIDA
 Data Nasc. / Idade / Sexo.: 14/12/2006 / 10 anos, 9 meses e 1 dia / Macho
 Proprietário.....: 25601 - FATIMA DE SOUZA HENRIQUES
 Requisitante.....:
 Data de Coleta.....: 14/12/2016

ERITOGRAMA

	Result	Ref		Result	Ref		
Hemácias....:	4,00	5,0 - 8,0	x 10 ⁶ /μl	PT (plasma)....:	9,00	5,5 - 7,7	g/dL
Hemoglobina.:	9,30	12,0 - 18,0	g/dL	Fibrinogênio..:		100 - 245	mg/dL
Hematócrito.:	28,00	37 - 54	(%)	Plaquetas.....:	92,00	200 - 500	x10 ³ mm ³
VCM.....:	70,00	60,0 - 77,0	μ ³	Reticulócitos.:			(%)
HCM.....:	23,25	22,0 - 27,0	pg(10 ⁻² g)	Eritroblastos.:		100	leuc.
CHCM.....:	33,21	31,0 - 36,0	(%)	Outros.....:			

Observações:

Moderada trombocitopenia.
 Plaquetas normais em morfologia.
 Discreta anisocitose por macrocitose e microcitose.

LEUCOGRAMA

	Result	Absol	Refe		Result	Absol	Refe	
Leucócitos....:	14080	/μl	6000 - 15000	/μl	Linfócitos.:	18,00	% 2534,40	1500 - 5000 /μl
Mielócitos....:		%	0,0	/μl	Monócitos..:	4,00	% 563,20	0 - 800 /μl
Metamielócitos:		%	0,0	/μl	Eosinófilos:	10,00	% 1408,00	120 - 750 /μl
Bastonetes....:		%	0 - 300	/μl	Basófilos...:		%	raros /μl
Segmentados...:	68,00	%	9574,40	300 - 11800	/μl	Outros.....:	%	/μl

Observações:

Morfologia celular normal.

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos

 Universidade Anhembi Morumbi <small>LAUREATE INTERNATIONAL UNIVERSITIES</small>	UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA HOSPITAL VETERINÁRIO	Usuário mabmoreira
		15/09/2017 08:11:56
	Status Exame: EXAME FOI REVISADO/LIBERADO - 16/12/2016	Pag N° 1

EXAME BIOQUÍMICO

Identificação do Animal...: 45160 - URSO
Espécie / Raça.....: CANINA/SRD - SEM RAÇA DEFINIDA
Data Nasc. / Idade / Sexo.: 14/12/2006 / 10 anos, 9 meses e 1 dia / Macho
Proprietário.....: 25601 - FATIMA DE SOUZA HENRIQUES

Requisitante.....: NAO DEFINIDO
Data de Coleta.....: 14/12/2016

Tipo de Análise:	Resultado:	Valores Séricos Normais:
Albumina - g/dL	1,65	2,3 - 3,8
ALT - U/L	12	7,0 - 92
Creatinina - mg/dL	1,2	0,5 - 1,6
Fosfatase alcalina - U/L	24	10 - 96
Uréia - mg/dL	43	10 - 60
Observações:		

Proteína total: 8,82g/dL
Relação albumina:globulina: 0,23

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos

 Universidade Anhembi Morumbi <small>LAUREATE INTERNATIONAL UNIVERSITIES</small>	UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA HOSPITAL VETERINÁRIO	Usuário mabmoreira	
		15/09/2017 08:12:15	
Status Exame: EXAME FOI REVISADO/LIBERADO - 10/05/2017		Pag Nº 1	
<u>EXAME SOROLÓGICO</u>			
Identificação do Animal...: 45160 - URSO			
Espécie / Raça.....: CANINA/SRD - SEM RAÇA DEFINIDA			
Data Nasc. / Idade / Sexo.: 14/12/2006 / 10 anos, 9 meses e 1 dia / Macho			
Proprietário.....: 25601 - FATIMA DE SOUZA HENRIQUES			
Requisitante.....: MARCELO			
Data de Coleta.....: 14/12/2016			
Observação:			
Tipo Análise:	Técnica:	Resultado:	Valores Séricos Normais Cães / Gatos:
Erlichia canis	ELISA	Nao reagente	Não reagente

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos



UNIVERSIDADE ANHEMBI MORUMBI
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA
HOSPITAL VETERINÁRIO

Usuário mabmoreira
15/09/2017 08:13:36

Status Exame: **EXAME FOI REVISADO/LIBERADO - 10/05/2017**

Pag N°
1

EXAME CITOLÓGICO

Identificação do Animal....: 45160 - URSO
Espécie / Raça.....: CANINA/SRD - SEM RAÇA DEFINIDA
Data Nasc. / Idade / Sexo.: 14/12/2006 / 10 anos, 9 meses e 1 dia / Macho
Proprietário.....: 25601 - FATIMA DE SOUZA HENRIQUES

Requisitante.....: NAO DEFINIDO
Data de Coleta.....: 14/02/2017

Técnicas:

Fixação.....: Álcool

Coloração...: Panótico

Localização.: Linfonodo poplíteo.

Achados Citológicos:

Material.: Representativo Células Inflamatórias
 Não Representativo Células Neoplásicas

Grupo Diagnóstico:

I - Normal; II - Benigno; III - Suspeito;
IV - Atípias intensas mas não conclusivas de malignidade; Positivo para malignidade

Descrição e Conclusão:

Amostra composta por moderada quantidade de formas amastigotas de Leishmania sp.
Diag: Formas amastigotas da leishmania sp.

Tratamento

- Alopurinol 300 mg, BID, ANR
- Milteforan 60 ml, , SID, 30 dias
- Prednisona 20 mg, SID 30 dias
- Domperidona 0,5 mg/kg, BID, 90 dias
- Fitoplus
- Metronidazol 25mg/kg/Espiramicina 750.000 - 900.000UI/10kg, 1 comprimido, SID, 90 dias
- Complexo vitamínico
- Immunoterapia

Urso, canino, SRD, macho, 11 anos

**Após 4 meses de tratamento
alopurinol 20mg/kg/BID**



Urso, canino, SRD, macho, 11 anos



**30 dias após uso
prednisona 1 mg/kg/SID**

DIAGNÓSTICO NA LVC



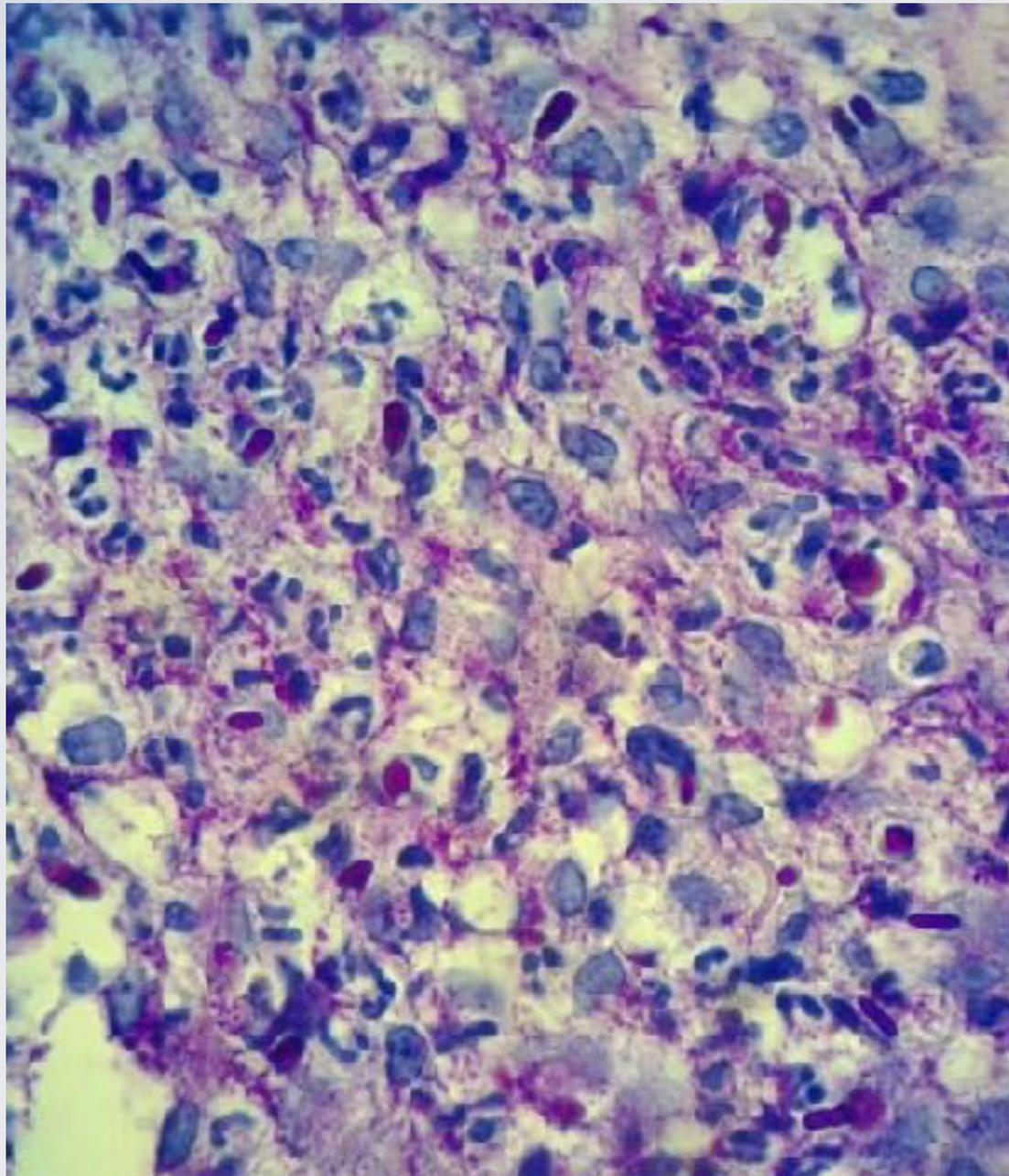
Virbac

Shaping the future of animal health

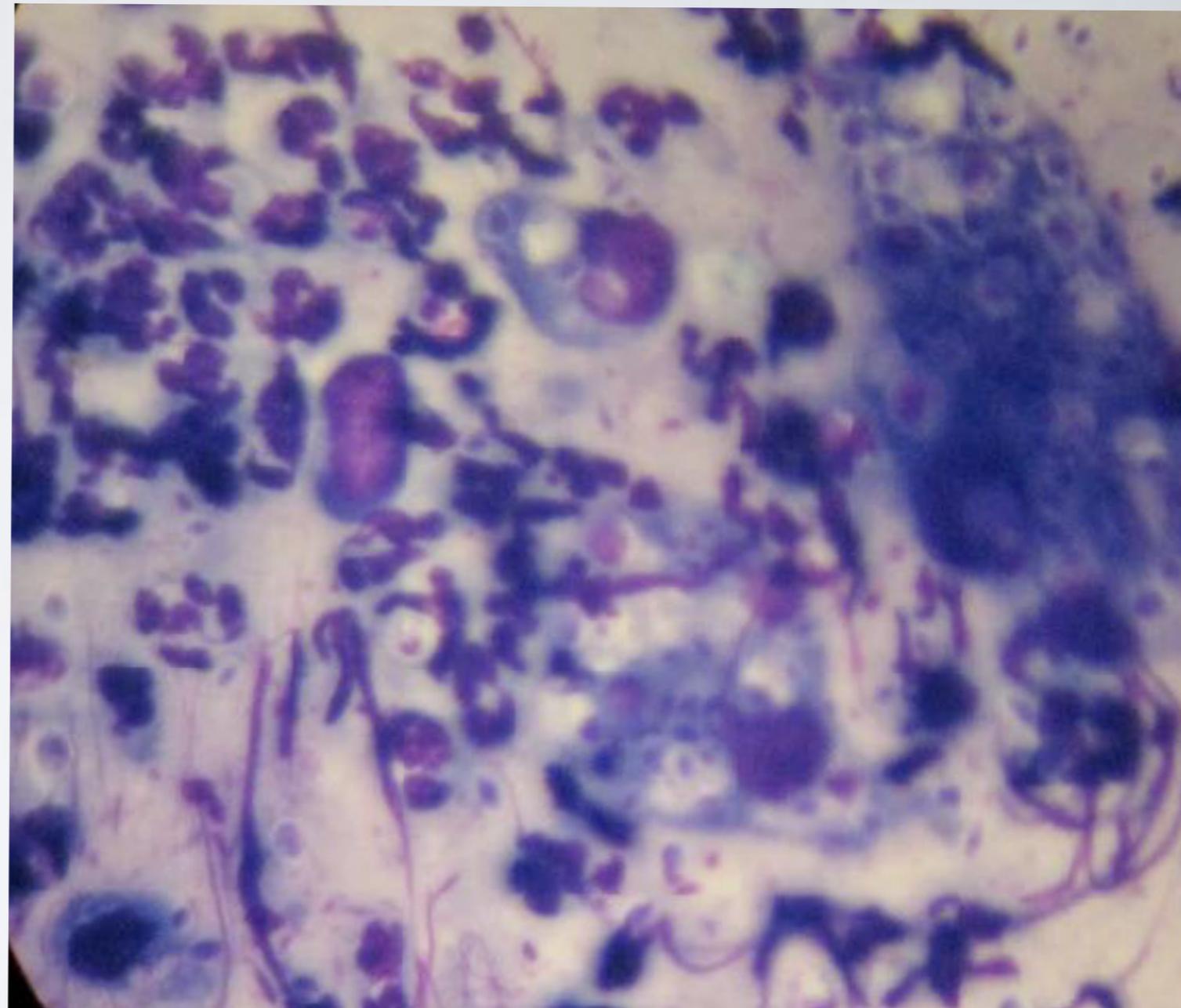


Tulipa, can, SRD, 13 anos

RESULTADOS DE EXAMES

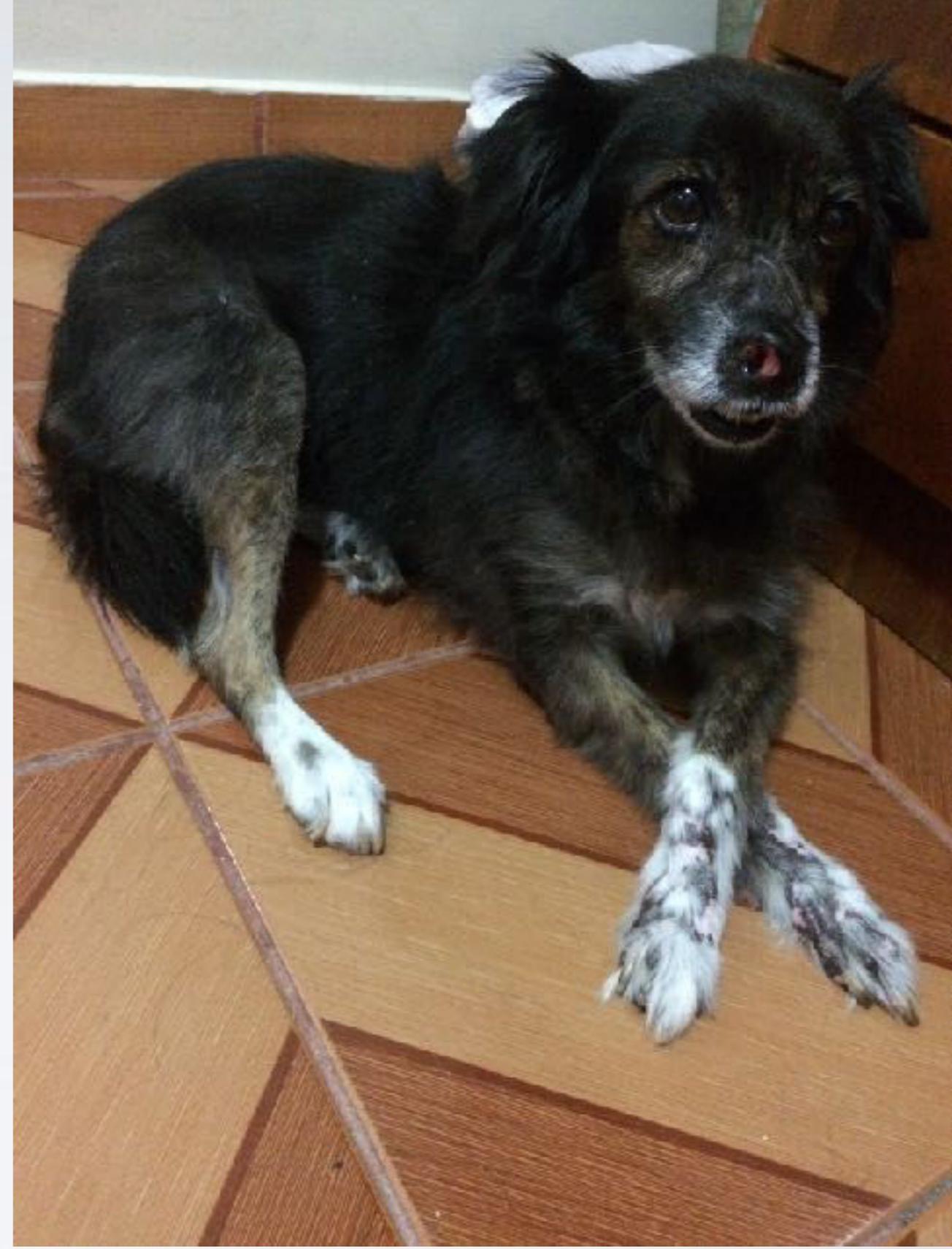


FOTOMICROGRAFIA 100X, H&E



FOTOMICROGRAFIA 100X, CORANTE RÁPIDO, HOVET-AM

Tulipa, can, SRD, 13 anos



Tulipa, can, SRD, 13 anos



Universidade Anhembi-Morumbi

Marcio Antonio Batistela Moreira

marcio@sanimvet.com.br