

UTILIZAÇÃO DA REAÇÃO DE IMUNOFLOURESCÊNCIA INDIRETA NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE FELINA

Gleice Marques Amaro¹; Juliana Macedo Raimundo²; Camila Flávia Magalhães Botelho³ & Cristiane Divan Baldani⁴

1. Bolsista PROIC, Discente do Curso de Medicina Veterinária, IV/UFRJ; 2. Doutoranda do Programa de Pós Graduação em Medicina Veterinária PPGMV/UFRJ; 3. Professora adjunta do DMVC/IV/UFRJ.

Palavras-chave: Diagnóstico; Zoonose; Leishmaniose felina.

Introdução

Popularmente conhecida no Brasil como Úlcera de Bauru, Ferida Brava ou Nariz de Tapir, as Leishmanioses representam um conjunto de enfermidades diferentes entre si, que podem comprometer pele, mucosas e vísceras, dependendo da espécie de *Leishmania* e da resposta do hospedeiro. O parasita apresenta ciclo de vida heteroxênico e vive alternadamente em hospedeiros vertebrados: mamíferos e insetos vetores: flebotomíneos. Todas as espécies do gênero *Leishmania* são transmitidas pela picada de fêmeas infectadas, pois, são inoculadas na pele dos mamíferos durante a picada. São considerados reservatórios da Leishmaniose várias espécies animais como roedores silvestres, marsupiais, cães e gatos. Devido a urbanização que a Leishmaniose vem apresentando recentemente, há uma crescente discussão sobre o papel dos gatos domésticos na epidemiologia da doença, apesar do cão ainda ser considerado o principal reservatório no ambiente urbano. E considerando o fato do atual crescimento da população felina e do conseqüente estreitamento da relação entre esta espécie e os humanos, estudos que visam o diagnóstico da leishmaniose visceral em gatos tornam-se relevantes. Portanto, o atual estudo, teve como objetivo, avaliar o potencial dos felinos como reservatório de Leishmaniose utilizando como método de diagnóstico a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI), técnica preconizada pelo Ministério da Saúde para o diagnóstico de Leishmaniose.

Metodologia

Foram obtidas 60 amostras de sangue de felinos domésticos provenientes de abrigos de municípios distintos da região metropolitana do Estado do Rio de Janeiro. As amostras de sangue foram centrifugadas à 3000 RPM para a obtenção do soro. O soro dos animais foram diluídos à 1:40 em PBS pH 7,2, conforme estudos anteriores realizados por Figueiredo et al (2009), Rosa (2009) e Sobrinho (2010). Foram depositados 10 µL do soro diluído em cada poço da lâmina com antígeno de *L. infantum chagasi*, reservando dois poços para a adição das amostras de soro controles positivo e negativo. As lâminas foram incubadas a 37°C durante 30 minutos em câmara úmida, em seguida, as lâminas foram lavadas com o PBS pH 7,2 durante 5 minutos. Foram realizadas três lavagens e as mesmas secas em temperatura ambiente. Adicionou-se 10µL do conjugado (anti-IgG) de gato marcado pelo isotocianato de fluoresceína, diluído conforme as recomendações do fabricante. Então, as lâminas foram incubadas novamente a 37°C por 30 minutos em câmara úmida e em seguida, foram lavadas em PBS pH7,2 durante 5 minutos, três vezes, e após, realizou-se uma última lavagem com água destilada. Posteriormente, secou-se as lâminas em temperatura ambiente e montou-se a lamínula sobre a lâmina com solução tamponada de glicerina. A leitura foi realizada em um microscópio de imunofluorescência com objetiva de 40X, lembrando que esta, deve ser comparativa, iniciando pelos controles positivo e negativo, considerando positivas as amostras de soro que reagiram a partir da diluição de 1:40.

Resultados e Discussão

Foi possível constatar que todas as amostras testadas no atual estudo, apresentaram-se negativas para *Leishmania*, tendo os controles da reação funcionado perfeitamente. Esses resultados podem estar associados ao fato do título de anticorpos detectados em felinos ser geralmente inferior do que em cães (POLI et al., 2002; GRAMICCIA & GRADONI, 2005; MAIA & CAMPINO, 2011 apud MARTINS, 2011). Adicionalmente, a baixa titulação de anticorpos encontradas pode estar relacionada com diminuição do estado imunológico, não havendo sobreprodução de anticorpos como acontece nos cães. (MAIA et al., 2010; MAIA & CAMPINO, 2011 apud MARTINS, 2011). Costa et al. (2010) mostrou que apesar de a RIFI ter uma especificidade semelhante para felinos à mostrada para canídeos (89%), a sensibilidade na detecção de anticorpos nesta espécie é bastante baixa (25%) (MARTINS, 2011).

Conclusão

A partir dos dados obtidos na atual pesquisa, evidenciou-se que os gatos amostrados não apresentam anticorpos IgG anti-*Leishmania*, apesar de poder haver animais positivos na região uma vez que a leishmaniose canina é endêmica no Rio de Janeiro. Associado a isso, está o fato de que apesar de a RIFI ser uma técnica de alta sensibilidade, ainda é insuficiente no diagnóstico da Leishmaniose Felina, havendo a necessidade de desenvolvimento de técnicas diagnósticas mais eficazes para tal. Logo, futuros estudos são necessários a fim de avaliar um maior número de animais, bem como outras técnicas de diagnóstico a fim de evitar os efeitos deletérios deste parasita.

Referências Bibliográficas

- FIGUEIREDO, F.B. et al. Avaliação sorológica para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* em cães e gatos no bairro de Santa Rita de Cássia, Município de Barra Mansa, Estado do Rio de Janeiro. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*. 42(2):141-145, mar-abr, 2009.
- MARTINS, T.S.O. Detecção de *Ehrlichia* spp./*Anaplasma* spp., *Rickettsia* spp., *Mycoplasma haemofelis* e *Leishmania infatum* em felinos errantes e sua Relação com a Presença de Retrovirus e com a Sintomatologia Manifestada. Dissertação: Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2011.
- ROSA, N.J.G.C. Rastreamento de Dirofilariose e de Leishmaniose em Gatos da Área Metropolitana de Lisboa. Dissertação: Mestrado. Faculdade de Medicina Veterinária - Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.
- SOBRINHO, L.S.V. Leishmaniose Felina e sua Associação com Imunodeficiência Viral e Toxoplasmose em Gatos Provenientes da Área Endêmica para Leishmaniose Visceral. Dissertação: Mestrado. Faculdade de Odontologia e Medicina Veterinária - Universidade Estadual Paulista UNESP, Araçatuba, 2010.