

AVALIAÇÃO DA BIÓPSIA DE MEDULA ÓSSEA ESTERNAL E ILÍACA NO DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

(Evaluation of sternal and iliac crest bone marrow biopsy in diagnosis of canine Visceral Leishmaniosis)

Rafael Antonio do Nascimento RAMOS^{1*}; Danilo de Souza PIMENTEL¹; Nadja Maria Silva de LIRA¹; Marília de Andrade SANTANA¹; Maria Aparecida da Glória FAUSTINO¹; Leucio Câmara ALVES¹

1. Laboratório de Doenças Parasitárias - Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

RESUMO

No Brasil, o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) tem sido realizado por meio de métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares. Apesar de o diagnóstico parasitológico ser um método de confirmação, a realização da biópsia de medula óssea em cães, comumente tem sido realizada na crista ilíaca. O objetivo deste trabalho foi avaliar a biópsia de medula óssea esternal (BME) e ilíaca (BMI) no diagnóstico da LVC. Foram utilizados vinte e oito animais com infecção natural por *Leishmania infantum* com e sem sinais clínicos de LVC e sorologicamente positivos. Os resultados mostraram não haver diferença significativa ($P > 0,05$) entre o local da biópsia quanto à detecção do parasito, no entanto recomenda-se a biópsia esternal pela sua simplicidade e praticidade no diagnóstico da LVC.

PALAVRAS CHAVE: diagnóstico parasitológico, calazar canino, amastigota

ABSTRACT

In Brazil, *Canine Visceral Leishmaniasis* (CVL) diagnosis has been made by parasitological, serological, and molecular methods. Although the parasitological diagnosis is the confirmatory method, the bone marrow biopsy has been carried out the biopsy of the iliac crest. The goal of this research was to evaluate the sternal (SMB) and iliac (IMB) bone marrow biopsy to diagnosis of CVL. A total of twenty eight animals naturally infected with *Leishmania infantum* (symptomatic and asymptomatic) and *serologically positive* were utilized. The results showed no statistical difference ($P > 0.05$) between the local of biopsy. The findings support the sternal biopsies use because is a simple and practical method to CVL diagnosis.

KEYWORDS: parasitological diagnosis, canine kala azar, amastigote

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) ou calazar é uma zoonose de distribuição cosmopolita, que apresenta diferentes perfis epidemiológicos no ambiente rural ou urbano, tendo

* Endereço para correspondência:

Laboratório de Doenças Parasitárias dos Animais Domésticos / Universidade Federal Rural de Pernambuco.
Av. Dom Manoel de Medeiros, s/n, Dois Irmãos – Recife, PE, Brasil, CEP: 52171-900. Fone: (81) 3320-6422
E-mail: rafaelanramos@yahoo.com.br

como agente etiológico no Brasil, a espécie *L. infantum* (GONTIJO, 2004).

Segundo Marzochi et al. (1985), do ponto de vista epidemiológico, a doença canina é considerada mais importante que a doença humana, pois, além de ser mais prevalente, apresenta grande contingente de animais assintomáticos, sendo considerado o principal reservatório no ambiente urbano.

O diagnóstico da LVC pode ser realizado através do método parasitológico, pela observação direta de formas amastigotas livres ou no citoplasma de macrófagos, em esfregaços de medula óssea, linfonodos e impressão em lâmina com fragmento de pele (BONATES, 2003). Contudo, apesar de ser um método simples e seguro apresenta limitações principalmente quanto à sensibilidade.

Em função destas limitações as técnicas sorológicas têm sido bastante utilizadas no diagnóstico da LVC, destacando-se principalmente a reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e o ensaio imunoenzimático (ELISA). Apesar de a RIFI ser um método bem difundido, pode apresentar reações cruzadas com outras doenças, além de possuir baixa sensibilidade (AGUIAR, 2010). Por outro lado, o teste ELISA é mais rápido e de fácil execução, apresentando maior sensibilidade do que a RIFI (GONTIJO, 2004).

Há também métodos moleculares, que baseiam-se na amplificação do DNA do parasito, particularmente a reação em cadeia de polimerase (PCR) com sensibilidade e especificidade próximas a 100% (ROURA et al., 1999).

Objetivou-se neste estudo comparar a sensibilidade do diagnóstico parasitológico a partir da Biópsia de Medula Óssea Esternal (BME) e Ilíaca (BMI) no diagnóstico da

Leishmaniose Visceral Canina.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 28 cães procedentes da Região Metropolitana de Recife com raças e idades variadas, e de ambos os sexos. Estes foram sorologicamente positivos ao Ensaio de Imunoabsorção Enzimática (ELISA)¹.

Os animais foram submetidos ao exame clínico que se constituiu inicialmente de anamnese com obtenção de dados referentes ao estado geral do animal, raça, sexo, idade, porte, estado nutricional e evolução do processo. O exame físico constou principalmente da inspeção da pele e pêlos, palpação dos linfonodos, observando a existência dos sinais sugestivos da LVC.

A biópsia de medula óssea foi realizada após a anti-sepsia local, e a medula óssea foi puncionada do osso esterno e do ilíaco com seringa de 20 mL e agulhas descartáveis (18G1 ½). Do material coletado confeccionaram-se esfregaços em lâminas de vidro para microscopia, que após secar foram coradas pelo método de coloração rápida (Panótico) e examinados em microscópio óptico com objetiva de imersão.

Foi utilizado o teste Qui-quadrado de McNemar (ZAR, 1996), para avaliar a significância dos resultados entre a (BME) e a (BMI), para essa análise foi utilizada o programa BioEstat (versão 5.0; Mamirauá/CNPq, Belém, PA, Brazil).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a realização do diagnóstico parasitológico observou-se a presença das formas amastigotas de *L. infantum* em 42,8% (12/28) dos animais.

A sensibilidade do teste parasitológico

¹ Kit para Diagnóstico do Calazar Canino ELISA/S7, BIOGENE

Tabela 1. Comparação entre Biópsia de medula esternal (BME) e Biópsia de medula ilíaca (BMI) no diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina

BIÓPSIAS		BME		
		Positivo	Negativo	Total
BMI	Positivo	10	1	11
	Negativo	1	16	17
Total		11	17	28

Qui-quadrado de McNemar ($P > 0,05$)

aqui observada foi inferior a descrita por Ferrer (1999) que afirmou ser de 60%, e Oliva et al. (2006) que relataram ser de 51,2%. Por outro lado, os dados mostraram-se semelhantes aos obtidos por Saridomichelakis et al. (2005) que obtiveram 45,7% de sensibilidade para biópsia de medula óssea na Grécia.

A presença de uma única forma amastigota livre ou no interior de macrófagos é altamente específica e confirmatória para o diagnóstico da LVC, no entanto este método além de pouco sensível, apresenta limitações, pois se trata de uma técnica invasiva e traumática, requerendo técnico treinado para realização da coleta e leitura do material (SUNDAR & RAI, 2002). Verificou-se que a coleta de medula óssea esternal apresenta relevante importância para o diagnóstico da LVC, tendo em vista a praticidade e rapidez com que é realizado este procedimento.

Dos animais positivos ao exame parasitológico apenas 7,14% (2/28) apresentaram-se positivo em apenas uma das biópsias, os demais foram positivos tanto na esternal quanto ilíaca. Os resultados das análises entre a BME e a BMI estão dispostos na Tabela 1.

Quando avaliadas as variáveis BME e BMI não foi observada diferença significativa ($P = 1$) ao teste do Qui-quadrado de McNemar (ZAR, 1996) com nível de significância de 5 %.

De acordo com o exame clínico verificaram-se a presença de 17 animais

sintomáticos e 11 assintomáticos. Quando se observou a taxa de positividade no diagnóstico parasitológico verificou-se que 83,33% (10/12) dos animais sintomáticos apresentaram as formas amastigotas na medula óssea, por sua vez, apenas 16,66% (2/12) dos animais assintomáticos apresentaram a presença do parasita. Isto ocorre provavelmente porque animais assintomáticos apresentam menor parasitismo, quando comparado com animais sintomáticos (CARDOSO et al., 1998).

Embora a literatura recomende a biópsia de medula ilíaca para diagnóstico parasitológico de LVC, conclui-se neste trabalho que também se pode optar pela a biópsia de medula esternal, tendo em vista a maior praticidade de realização da coleta de material nesta área.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, D.M.; OLIVEIRA, T.M.S.; CAVALCANTE, G.T.; LABRUNA, M.B.; CAMARGO, L.M.A.; MACHADO, R.Z.; GENNARI, S.M. Seroprevalence of anti-Leishmania spp. antibodies in rural dogs from the city of Monte Negro, State of Rondônia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n.1, p. 73-74, 2010.
- BONATES, A. Leishmaniose visceral (Calazar). *Veterinary News*, v. 10, n. 61, p.4-5, 2003.
- CARDOSO, L.; NETO, F.; SOUSA, J. C.; CABRAL, M. Use of a leishmanin skin test in

- the detection of canine Leishmania-specific cellular immunity. *Veterinary Parasitology*, v. 79, n. 1, p. 213-220, 1998.
- FERRER, L. Clinical Aspects of Canine Leishmaniasis. PROCEEDINGS OF THE INTERNATIONAL CANINE LEISHMANIASIS FORUM, 1999, Barcelona, Spain, p. 6-10, 1999.
- GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil: Quadro Atual, Desafios e Perspectivas. *Revista Brasileira de Epidemiologia*, v. 7, n. 3, p. 338-349, 2004.
- MARZOCHI, M. C. A.; COUTINHO, S. G.; SABROZA, P. C.; SOUZA, M. A.; SOUZA, P. P.; TOLEDO, L. M.; RANGEL FILHO, F. B. Leishmaniose Visceral Canina no Rio de Janeiro, Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*, v. 1, n. 4, p. 13-21, 1985.
- OLIVA, G.; SCALONE, A.; MANZILLO, V. F.; GRAMICCIA, M.; PAGANO, A.; MUCCIO, T.; GRADONI, L. Incidence and time course of *Leishmania infantum* infections examined by parasitological, serologic, and nested-PCR techniques in a cohort of naive dogs exposed to three consecutive transmission seasons. *Journal of Clinical Microbiology*, v. 44, n. 4, p. 1318-1322, 2006.
- ROURA, X.; SANCHEZ, A.; FERRER, L. Diagnosis of canine leishmaniasis by polymerase chain reaction technique. *The Veterinary Record*, v. 144, n. 10, p. 262-264, 1999.
- SARIDOMICHELAKIS, M. N.; MYLONAKIS, M. E.; LEONTIDES, L. S.; KOUTINAS, A. F.; BILLINIS, C.; KONTOS, V. I. Evaluation of lymph node and bone marrow cytology in the diagnosis of Canine Leishmaniasis (*Leishmania Infantum*) in symptomatic and asymptomatic dogs. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, v.73, n. 1, p. 82-86, 2005.
- SUNDAR, S.; RAI, M. Laboratory Diagnosis of Visceral Leishmaniasis. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v. 9, n.5, p. 951-958, 2002.
- ZAR, J.H. *Biostatistical analysis*. New Jersey, Upper Saddle River, Prentice Hall International, INC, 1996, 662p.