



## DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DE *Leishmania* spp. EM FELINOS E REAÇÃO CRUZADA/COINFECCÃO COM *Toxoplasma gondii* E *Trypanosoma* spp.

Caldart, E.T.<sup>1\*</sup>, Ferreira, F.P.<sup>1</sup>, Rorato-Nascimento, A.M.M.<sup>1</sup>, Brunieri, D.T.S.C.<sup>1</sup>, Monteiro, K.C.<sup>1</sup>, de Souza, M.<sup>1</sup>, Freire, R.L.<sup>1</sup>, Mitsuka-Breganó, R.<sup>1</sup>, Navarro, I.T.<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Departamento de Medicina Veterinária Preventiva, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil. \*e-mail: eloiza.vet@gmail.com

### Saúde Única

**Palavras-chave:** gatos, leishmaniose, toxoplasmose, tripanosomíase

### Introdução

A presença de anticorpos IgG anti-*Leishmania* spp. em gatos foi observada em diversos países (França, Itália, Suíça, Espanha e Brasil) (DANTAS-TORRES et al., 2006). Ainda que essa espécie animal seja susceptível e tenha contato direto com humanos, seu papel na epidemiologia das leishmanioses não está esclarecido. Felinos podem ser assintomáticos ou ter leishmaniose associada a doenças imunossupressoras (FIV e FeLV) (SHERRY et al. 2011). Mesmo em áreas endêmicas a prevalência da infecção em gatos é baixa e não está claro se isso ocorre por uma falha na detecção de anticorpos ou pelo fato de os gatos apresentarem uma resistência natural às leishmanioses (CHATZIS et al., 2014). O objetivo desse estudo foi detectar anticorpos IgG anti-*Leishmania* spp. em felinos atendidos por programas de controle de natalidade da Universidade Estadual de Londrina, cidade endêmica para leishmaniose tegumentar, de 2004 a 2014 e verificar a existência de reação cruzada/coinfecção com *Toxoplasma gondii* e *Trypanosoma* spp.

### Material e Métodos

O teste sorológico ELISA (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*) foi realizado para triagem dos animais para verificar a existência de anticorpos anti-*Leishmania* spp. e anti-*Trypanosoma* spp. Para tal teste, foi utilizado antígenos totais de *L. (L.) amazonensis* e de *Trypanosoma cruzi* (2,5µg/mL) e as amostras de soro diluídas a 1:100. Além disso, utilizou-se albumina sérica bovina a 2% para bloqueio e proteína A conjugada com peroxidase a 1:5000. Foram realizadas Reações de Imunofluorescência Indireta (RIFI) para confirmar anticorpos anti-*Leishmania* spp. e anti-*T. gondii*, dessa forma, utilizou-se formas promastigotas de *L. (L.) amazonensis* e taquizoítos de cepa RH para a sensibilização das lâminas, respectivamente. Foram considerados títulos positivos aqueles acima ou igual a 40 para *Leishmania* spp. e



acima ou igual a 16 para *T. gondii*. A associação estatística entre as soropositividades nos testes supracitados e as características dos gatos como gênero, raça, e idade foram analisadas com o programa Epi Info 3.4.1.

## Resultados e Discussão

Dentre os 672 gatos estudados, 48,4% eram fêmeas, 89,8% não tinham raça definida, a média de idade foi 1 ano e oito meses. Para leishmaniose, foram observados resultados positivos em 291/672 (43,3%) gatos no ELISA e 99/672 (14,7%) na RIFI. Um total de 53/672 (7,8%) gatos foram confirmados sororeagentes para *Leishmania* spp. por apresentarem resultados positivos em ambos testes (ELISA e RIFI) (Tabela 1). A falta de concordância entre os resultados da RIFI e do ELISA também foi reportada por outros autores (SOBRINHO et al., 2012) e pode ocorrer, segundo Chatzis et al. (2014), por causa de falso-positivos devido a limitações da técnica e não tanto por reação cruzada. No ELISA para *Trypanosoma* spp. foram obtidos 165/672 (24,6%) gatos positivos, dos quais 84/672 (12,5%) também foram positivos para *Leishmania* spp. Dentre os 53 gatos confirmados para infecção por *Leishmania* spp., 13 (24,5%) foram positivos para *T. gondii* e nove (16,9%) para *Trypanosoma* spp. (Tabela 1).

**Tabela 1.** Resultados comparativos do diagnóstico de *Leishmania* spp. e reação cruzada ou coinfeção com toxoplasmose e trypanosomíase obtidos de 672 gatos atendidos no programa de controle de natalidade da Universidade Estadual de Londrina de 2004 a 2014.

Diagnóstico	Frequência	Porcentagem
ELISA+ <i>Leishmania</i> spp.	291	43,30%
IFA+ <i>Leishmania</i> spp.	99	14,70%
IFA+ <i>T. gondii</i>	121	18,00%
ELISA+ <i>Trypanosoma</i> spp.	165	24,60%
ELISA+ e IFA+ <i>Leishmania</i> spp.	53	7,80%
IFA+ <i>T. gondii</i> e IFA+ <i>Leishmania</i> spp.	26	3,80%
ELISA+ <i>Trypanosoma</i> spp. e <i>Leishmania</i> spp.	84	12,50%
ELISA and IFA+ <i>Leishmania</i> spp. e IFA+ <i>T. gondii</i>	13	1,90%
ELISA e IFA+ <i>Leishmania</i> spp. e ELISA+ <i>Trypanosoma</i> spp.	9	1,30%
Positivos em todos os testes	3	0,40%

(+) amostras positivas; (-) amostras negativas

Houve associação estatística entre felinos positivos na RIFI para *T. gondii* e para *Leishmania* spp. ( $p = 0,029$ ;  $RP = 1,08 - 2,42$ ) o que sugere a ocorrência de reação cruzada e/ou coinfeção. Sobrinho et al. (2012), encontrou significância estatística entre *Leishmania* spp. e FIV, mas não com *T. gondii*. Entretanto, de acordo com Zanette et al. (2014), a presença de outros agentes infecciosos, incluindo *T. gondii*, pode levar a reação cruzada em testes para diagnóstico sorológico de leishmanioses quando a espécie em questão são os cães. Houve associação estatística



entre felinos positivos no ELISA para trypanosomíase e leishmaniose ( $p = 0,029$ ;  $PR = 1,03 - 1,49$ ) o que também sugere ocorrência de reação cruzada e/ou coinfeção. A reação cruzada, que pode ocorrer entre espécies da família *Trypanosomatidae* ou mesmo entre patógenos filogeneticamente distantes, pode ser devido à forma de obtenção dos antígenos, ou seja, de promastigotas em cultivos celulares, parasitos intactos ou de moléculas solúveis (SUNDAR e RAI, 2002). Martin (2013) observou soropositividade para *Leishmania* spp. em 62,7% (32/51) felinos na RIFI e 72,5% (37/51) no ELISA, e para *Trypanosoma* spp. 54,9% (28/55) pela RIFI e 39,2% (20/55) pelo ELISA. No entanto, observou redução no total de positivos ao usar antígeno recombinante no lugar de antígeno bruto.

### Conclusões

Reação cruzada em testes sorológicos para leishmaniose e tripanossomíase é reconhecida e ocorre por se tratarem de parasitos filogeneticamente próximos. Reação cruzada em testes sorológicos para leishmaniose e toxoplasmose foi demonstrada em cães e sugerimos sua ocorrência em felinos. Dessa forma, não somente pelo estudo do histórico e dos sinais clínicos apresentados pelo animal, a pesquisa por métodos acurados de diagnóstico para tais zoonoses é de extrema importância ao levar em consideração a saúde pública.

### Suporte Financeiro

CAPES, CNPq, PROEX

### Referências

CHATZIS, M.K. et al. Evaluation of indirect immunofluorescence antibody test and enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of infection by *Leishmania infantum* in clinically normal and sick cats. **Experimental Parasitology**, v. 147, p. 54–59, 2014.

DANTAS-TORRES, F. et al. Leishmaniose felina: revisão de literatura. **Clínica Veterinária**, n. 61, p. 32-40, 2006.

MARTINS, M. F. A. Avaliação diagnóstica para *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* em gatos domésticos procedentes da associação protetora dos animais do município de Ilha Solteira, SP, Brasil. (2013) 132-f. Dissertação (Doenças Tropicais). Botucatu. 2013.

SHERRY, K. et al. A Serological and Molecular Study of *Leishmania infantum* Infection in Cats from the Island of Ibiza (Spain). **Vector-borne and Zoonotic Diseases**, v. 11, 2011.



SOBRINHO, L.S.V. et al. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. **Veterinary Parasitology**, v. 187 p. 302– 306, 2012.

SUNDAR, Shyam; RAI, M. Laboratory diagnosis of visceral leishmaniasis. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 9, n. 5, p. 951-958, 2002.

ZANETTE, M.F. et al. Serological cross-reactivity of *Trypanosoma cruzi*, *Ehrlichia canis*, *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Babesia canis* to *Leishmania infantum chagasi* tests in dogs. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 47, 2014.