



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO E CULTURA – MEC
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PIAUÍ – UFPI
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO – PRPPG
Coordenadoria Geral de Pesquisa – CGP
Campus Universitário Ministro Petrônio Portela, Bloco 06 – Bairro Ininga
Cep: 64049-550 – Teresina-PI – Brasil – Fone (86) 215-5564 – Fone/Fax (86) 215-5560
E-mail: pesquisa@ufpi.br; pesquisa@ufpi.edu.br

IMUNOPATOGENICIDADE *IN VIVO* E *IN VITRO* DE CEPAS DE *Leishmania chagasi*

Kellen Matuzzy Silva (bolsista do ICV/ UFPI), Gabriela Santos-Gomes (IHMT / UNL), José Wilson Costa Azevedo Júnior (colaborador, UFPI), Maria do Socorro Pires e Cruz (Orientador, DMV/ CCA/ UFPI).

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Americana (LVA) é uma zoonose que acomete cerca de dois bilhões de pessoas em todo o mundo, com 1,5 a 2 milhões de novos casos a cada ano (ALMEIDA et al. 2009). No Brasil, 92% dos casos são encontrados na região nordeste, que segundo Sousa et al. (2009) tem alta letalidade em indivíduos não tratados ou tratados tardiamente, em indivíduos imunodeprimidos, principalmente crianças desnutridas, indivíduos acometidos com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), onde esta aparece como uma infecção oportunista.

A *Leishmania infantum chagasi*, principal agente etiológico da leishmaniose visceral (LV) no Brasil, é transmitida através da picada de fêmeas do inseto vetor *Lutzomyia longipalpis*. As fêmeas que realizam o hematofagismo ingerem células contendo a forma amastigota do protozoário, que posteriormente se transforma em promastigota no trato digestivo do inseto caracterizado como a forma infectante, que, ao ser realizado um novo repasto sanguíneo este parasita, é inoculado no hospedeiro vertebrado susceptível (IKEDA-GARCIA et al., 2007).

A LV tem o cão como principal reservatório, apresentando sinais clínicos que variam desde animais sintomáticos com alta parasitemia, até animais oligossintomáticos que aparentam poucos sintomas. A doença humana pode apresentar diferentes apresentações clínicas (TRONCARELLI et al. 2009).

Devido a este polimorfismo de apresentações clínicas da doença e à complexa interação parasito-hospedeiro este estudo teve por objetivo estudar as características de crescimento e patogenicidade de diferentes cepas de *L. infantum chagasi*, que induzem distintos padrões de doença clínica em humanos.

METODOLOGIA

O presente trabalho consistiu na inoculação intraperitoneal (IP) de 5×10^6 promastigotas de *Leishmania infantum chagasi*, diluídos em 0,1mL de meio Schneider's®. Foram usados diferentes perfis de cepas causadoras de leishmaniose em humanos, sendo classificadas em G-1, G-2, G-3 e G-4 (grupo controle, cura espontânea, calazar normal, e calazar grave respectivamente), estes animais foram mantidos no Biotério de Experimentação, pertencente ao Laboratório de Fisiologia e Farmacologia, do Departamento de Morfofisiologia Veterinária, do Centro de Ciências Agrárias, UFPI em gaiolas de polipropileno, recebendo água e ração balanceada *ad libitum*. Os animais de cada grupo foram mantidos em gaiolas distintas para cada cepa, cobertas com uma tela protetora, com finalidade de evitar possíveis contatos com vetores. Estes foram avaliados diariamente por 45 dias, para anotação das possíveis manifestações clínicas da doença.

Após 45 dias da infecção ocorreu a eutanásia dos animais, sendo coletado baço de forma asséptica, em placas de Petri estéreis, contendo meios Schneider's®. Posteriormente essas amostras foram maceradas, acondicionadas em microtubo a -20°C . Essas amostras foram utilizadas para extração e quantificação de DNA e posterior realização da Técnica de Reação da Cadeia de Polimerase (PCR).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a avaliação diária dos animais, após 16 dias da infecção, apenas três animais apresentaram sintomatologia característica de leishmaniose. Estes animais pertenciam ao G-4 perfil grave, apresentando sinais como alopecia na região cervical e dorso.

Os animais pertencentes aos outros grupos, G-2, G-3, não apresentaram nenhum sinal característico da doença.

A variação de sinais clínicos pode refletir a variabilidade da virulência do parasita ou do sistema imunológico do hospedeiro, permitindo o desenvolvimento de diferentes padrões de doença. (BAPTISTA-FERNANDES et al., 2007).

Na realização da PCR Convencional observou que das amostras testada cinco deram positivas, sendo quatro pertencentes ao perfil grave e uma ao perfil normal, comprovando que os animais estavam realmente infectados. Não houve nenhuma amostra positiva pertencente ao G-2 (cura espontânea), sugerindo que houve cura espontânea também nos animais.

Os métodos de PCR utilizados para *Leishmania* são confiáveis para determinar a presença e identificar o parasito, não somente em casos ativos da doença, mas também para monitorar os pacientes, além da vantagem de se trabalhar com pequenas quantidades de materiais, sendo capazes de detectar níveis baixos de parasitas nas amostras (TAVARES et al. 2003)

A variação da sensibilidade observada nos diferentes estudos pode ser explicada pela distribuição heterogênea do parasito nos tecidos ou órgãos, da carga parasitaria associada ao tropismo (BANETH et al. 2008).

CONCLUSÃO

Portanto pode-se concluir que de acordo com o perfil virulento da cepa, o indivíduo infectado pode apresentar diferentes sintomatologias, uma vez que os animais infectados com cepa de perfil grave apresentaram a doença de forma mais agressiva, sendo observados sinais clínicos como alopecia, além de ter sido verificado a presença de DNA do parasito, tendo um resultado positivo na PCR, sendo por esse motivo considerado animais sintomáticos para a doença.

Os animais infectados com uma cepa de perfil normal, mesmo tendo sido positivo na PCR não apresentaram sinais clínicos característicos, sendo, portanto considerado animais assintomáticos para a doença.

E finalmente os animais pertencentes à cepa de perfil de cura espontânea não foram observados nenhum sinal clínico ao longo da infecção, e ao ser realizado a PCR estes animais apresentaram resultado negativo comprovando que estes tiveram realmente cura espontânea para a leishmaniose, uma vez que não foi observado DNA do parasito nas amostras de baço destes animais.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALMEIDA, A. B. P. F., FARIA, R.P., PIMENTRE, M.F.A., DAHROUG, M. A. A., TURBINO, N. C. M. R., SOUSA, V. R.F., Inquérito soroepidemiológico de Leishmaniose Canina em áreas endêmicas de Cuiabá, estado de Mato Grosso, **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 42, p. 156-159, 2009.
- BANETH, G., AROCH, I. Canine leishmaniasis: a diagnostic and clinical challenge. **Vet. J.** v. 175, p.14-15, 2008.
- BAPTISTA-FERNANDES, T., MARQUES, C., ROOS-RODRIGUES, O. SANTOS-GOMES, G. Intra-specific variability of virulence in *Leishmania infantum* zymodeme MON-1 strains. **Comp. Immunol. Microbiol. Infect. Dis.** v. 30, p. 41–53, 2007.
- IKEDA-GARCIA, F.A e MARCONDES, M. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina, **Rev. Clín. Vet.**, n. 71, p. 34-42, 2007.
- SOUSA, G. D., SANTOS, E., ANDREDE FILHO, J. D., The first report of the main vector of visceral leishmaniasis in America, *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva) (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae), in the state of Rio Grande do Sul, Brazil, **Mem. Inst. Oswaldo Cruz**, v. 104, p. 1181-1182, 2009.
- TAVARES, C. A., FERNANDES, A. P., MELO, M. N., Molecular diagnosis of leishmaniasis. **Expert. Rev.Mol. Diagn.** V.3, p. 657-667.2003.
- TRONCARELLI, M. Z., LUCHEIS, S. B., CAMARGO, J. B., MACHADO, J. G., LANGONI, H., Análise clínica e laboratorial em cães eutanasiados no centro de zoonoses de Bauru-SP, com vistas ao diagnóstico da Leishmaniose Visceral, **Rev. Vet. Zoot.**, v.16, p. 343-53, 2009.