

Infecção Canina Por *Leishmania Braziliensis* na Área Endêmica de Corte de Pedra-Bahia

RESUMO

Introdução. A leishmaniose cutânea (LC) causada por *Leishmania braziliensis* é uma doença parasitária transmitida ao homem por flebótomo do gênero *Lutzomia*. Ainda não são bem conhecidos os reservatórios urbanos da *L. braziliensis*. O cão é um reservatório importante da *Leishmania infantum*, mas a participação desse animal na cadeia de transmissão da *L. braziliensis* não é documentada. **Objetivos:** Determinar a frequência da infecção por *L. braziliensis* em cães com úlceras cutâneas e mucosas, em uma área endêmica de leishmaniose tegumentar. Avaliar a sensibilidade da reação de hipersensibilidade tardia ao antígeno de *Leishmania* (DTH) e a sorologia no diagnóstico da infecção e determinar se os parasitos isolados no cão são geneticamente semelhantes aos encontrados no homem. **Métodos:** Foi um estudo de corte transversal, realizado na vila de Corte de Pedra, município de Tancredo Neves, Bahia, onde foram identificados cães com lesões ulceradas. Foi aplicado questionário aos proprietários dos animais e realizado o diagnóstico da infecção em 61 animais com lesões. No tecido das biópsias das lesões foi realizado estudo histopatológico e pesquisa de DNA de *L. braziliensis* pela Reação em Cadeia da Polimerase (qPCR). A detecção de anticorpos contra antígeno de *L. braziliensis* foi realizada pela técnica imunoenzimática (ELISA). O teste cutâneo de hipersensibilidade tardia (DTH) foi realizada injetando 0,1 ml do antígeno solúvel de *Leishmania* colocado na intraderme do abdômen do cão. A avaliação da semelhança entre *L. braziliensis* isoladas no cão e no homem foi realizada através da genotipagem do parasito pela técnica de sequenciamento. **Resultados:** As lesões ulceradas se apresentaram predominantemente na bolsa escrotal, focinho e orelha. Dos 61 cães estudados, DNA de *L. braziliensis* foi detectado em 41 (67,2%) e a sorologia foi positiva em 78% e o DTH (+) em 75% dos animais. A histopatologia foi caracterizada por reação inflamatória, necrose, fibrose e presença de parasitos em grande quantidade. A análise genotípica dos isolados de *L. braziliensis*, mostrou semelhança entre os isolados do cão e do homem. **Conclusões:** Esses dados revelam que a leishmaniose canina é frequente em uma área endêmica de *L. braziliensis*, a sorologia e o DTH tem boa sensibilidade para o diagnóstico, amastigotas podem ser observadas em grande número nas lesões e o cão pode ter um importante papel na cadeia de transmissão da LC.

Palavras-chave: *Leishmania braziliensis*, leishmaniose cutânea, leishmaniose cutânea canina, polimorfismo genético de *Leishmania braziliensis*.

Tabela 1: Características clínicas e demográficas de 61 cães com lesões de pele ou mucosas ulceradas na Vila de Corte de Pedra.

Características clínicas e demográficas	PCR positivo	PCR negativo	Valor P
	N= 41(67%)	N= 20(23%)	
Idade (anos), média, (DP)	5.7 ± 3.0	5.0 ± 3.6	0.4
Sexo			
Macho	36 (88%)	11 (55%)	0.008
Fêmea	5 (12%)	9 (45%)	
Duração da lesão			
<6 meses	10 (24%)	9 (45%)	ns
6-2 anos	22 (54%)	9 (45%)	
>2 anos	9 (22%)	2 (10%)	
Numero de lesão			
1	28 (68%)	14 (70%)	ns
1-3	8 (20%)	5 (25%)	
>3	5 (12%)	1 (5%)	
Local da lesão			
Testículo	17 (41%)	4 (20%)	0.04
Orelha	12 (29%)	12 (60%)	
Focinho	6 (15%)	0 (0%)	
Outros	6 (15%)	4 (20%)	

DP= Desvio padrão

Tabela 2: Achados histopatológicos em cães com lesões ulceradas

Características Histopatológicas	Amostra com documentação de amastigotas N= 26 (74%)	Amostra sem documentação de amastigotas N= 9 (26%)	Valor P
INFLAMAÇÃO			
Intensa	6 (23%)	1 (11%)	ns
Moderada ou leve	20 (77%)	8 (89%)	
NECROSE			
Presente	11 (42%)	5 (56%)	ns
Ausente	15 (58%)	4 (44%)	
GRANULOMA			
Presente	2 (8%)	1 (11%)	ns
Ausente	24 (92%)	8 (89%)	
FIBROSE			
Intensa	20 (77%)	7 (78%)	ns
Moderada ou leve	6 (23%)	2 (22%)	

Graus de inflamação e fibrose

≤ 30 (leve)

≥ 30 ≤ 50 (moderada)

≥ 50 ≤ 100 Alto

Tabela 3. Distribuição de frequência de sete alelos no locus *L. braziliensis* CHR28 / 425451 entre pacientes com LTA e cães domésticos de Corte de Pedra, Bahia, Nordeste do Brasil. Os alelos foram definidos com base em haplótipos de nucleotídeos polimórficos encontrados nas posições 30, 286 e 545 CHR28/425451.

Alelos	Frequência em pacientes LTA (%)	Frequência em cães (%)
TT-	35	28
TTT	11	0
TCT	1	0
TC-	2	0
CT-	1	0
CCT	75	66
CC-	11	21

Canine Infection By *Leishmania Braziliensis* in the Endemic Area of Corte de Pedra-Bahia

Abstract

Background: Cutaneous leishmaniasis (CL), caused by *Leishmania braziliensis*, is the most important presentation of tegumentary leishmaniasis (TL) in Latin American. While the role of dogs as reservoirs of *Leishmania infantum*, and the clinic features of canine visceral leishmaniasis are well described, little is known about the importance of dogs in the transmission of *L. braziliensis* to humans. In the present study, we determine the frequency of *L. braziliensis* infection in dogs with cutaneous and mucosal ulcers in an endemic area of CL. We also describe the clinical manifestations and histopathologic features, and determine if the parasites isolated from dogs are genetically similar to those found in humans. **Methodology:** This is a cross sectional study in which 61 dogs living in an endemic area of CL and presenting ulcerated lesions were evaluated. Detection of *L. braziliensis* DNA by polymerase chain reaction (PCR) in skin biopsies, serology and leishmania skin test (LST) with soluble *L. braziliensis* antigen were performed. The clinical and histopathologic features were described, and we compared the genotypic characteristics of isolates obtained from dogs and humans. **Principal findings:** The sensitivity of the three tests together to detect exposure was 89% and the concordance between the tests was high. The skin lesions were most frequent in the ears, followed by testicles. The PCR was positive in 41 (67%) of animals, and the lesions in the snout, followed by the testicles and ears were the sites where parasite DNA was most detected. There were genotype similarities between *L. braziliensis* isolates from dogs and humans. **Conclusions:** The high frequency of *L. braziliensis* infection in dogs with ulcers and the similarities between the isolates of *L. braziliensis* and cutaneous leishmaniasis in dogs

and humans in an endemic area of TL, raise the possibility of an important role of dogs in the transmission chain of *L. braziliensis*.

Keywords: *Leishmania braziliensis*; canine cutaneous leishmaniasis; human tegumentary leishmaniasis;

Table 1: Clinical and demographic features of 61 dogs with ulcerated skin or mucosal lesions in the village of Corte de Pedra.

Demographic and Clinical Features	PCR positive	PCR negative	<i>P</i> value
	N= 41	N= 20	
Age (years), mean, (SD)	5.7 ± 3.0	5.0 ± 3.6	0.4
Age (years)			
<5	16 (45%)	11 (55%)	ns
>5	25 (55%)	9 (45%)	
Sex			
Male	36 (88%)	11 (55%)	0.008
Female	5 (12%)	9 (45%)	
Duration of lesion			
<6 months	10 (24%)	9 (45%)	
6-2 years	22 (54%)	9 (45%)	ns
>2 years	9 (22%)	2 (10%)	
Number of lesions			
1	28 (68%)	14 (70%)	
1-3	8 (20%)	5 (25%)	ns
>3	5 (12%)	1 (5%)	
Site of the ulcer*			
Testicles	17 (41%)	4 (20%)	
Ears	12 (29%)	12 (60%)	0.04
Shouts	6 (15%)	0 (0)	
Others	6 (15%)	4 (20%)	

SD= Standard deviation

* Sites of the largest ulcer

Table 2: Histopathological findings in dogs with ulcerated lesions

Histopathological Findings	Samples with documentation of amastigotes	Samples without documentation of amastigotes	P value
	N= 26	N= 9	
Inflammation			
Intense	6 (23%)	1 (11%)	ns
Moderate or slight	20 (73%)	8 (88%)	
Necrosis			
Presence	11 (42%)	5 (56%)	ns
Absent	15 (57%)	4 (44%)	
Granulomas			
Presence	2 (8%)	1 (11%)	ns
Absent	24 (92%)	8 (89%)	
Fibrosis			
Intense	20 (76%)	7 (78%)	ns
Moderate or slight	6 (24%)	2 (22%)	

Gades of inflammation and fibrosis

^a ≤ 30 (light)

^b $\geq 30 \leq 50$ (moderate)

^c $> 50 \leq 100$ of fragment

Table 3. Frequency distribution of seven alleles in *L. braziliensis* locus CHR28/425451 among ATL patients and domestic dogs from Corte de Pedra, Bahia, Northeast Brazil.

Allele	Frequency in ATL patients (%)	Frequency in dogs (%)
TT-	35	28
TTT	11	0
TCT	1	0
TC-	2	0
CT-	1	0
CCT	75	66
CC-	11	21

Alleles were defined based on haplotypes of polymorphic nucleotide found in positions 30, 286 and 545 within CHR28/425451.