



Leishmaniose visceral canina: aspectos dermatológicos e dermatoses associadas

Canine Visceral Leishmaniasis: Dermatological Aspects and Associated Dermatoses

Nayara Benites Moreira¹, Arleana do Bom Parto Ferreira de Almeida⁴, Andressa Zelenski de Lara Pinto¹, Emmanuelle Rosa Mutzemberg³, Isabela de Godoy², Marcelo Marques da Silveira², Valéria Dutra⁴ & Valeria Régia Franco Sousa⁴

ABSTRACT

Background: Visceral leishmaniasis (VL) is a zoonotic disease caused by *Leishmania chagasi* (syn. *L. infantum*). The dog is the main reservoir for this infectious agent in the urban environment. Among the various systemic signs of viscerotropic infection by *L. chagasi*, cutaneous lesions, including exfoliative dermatitis, cutaneous ulcers and nodules, alopecia, papular or pustular dermatitis, and onychogryphosis, are the most common in dogs. This study aimed to describe the major cutaneous lesions, evaluate the skin parasite *L. chagasi* by PCR, and investigate the main dermatoses associated with this zoonosis.

Materials, Methods & Results: This study evaluated 50 seropositive dogs of various breeds and sizes for VL by ELISA and IFA and for the dermatological signs associated with VL. Moreover, molecular analysis of skin fragments was performed with primers 150 and 152 for the genus *Leishmania*, and the species was verified as *L. chagasi* with RV1 and RV2 primers. Deep skin scraping for mites and fungal culture analysis were performed in all dogs. Of the 50 dogs, 15 (30%) were free of systemic or cutaneous signs; however, changes in skin and annexes were observed in 35 (70%) dogs. Thirty-one dogs (62%) presented infection with dermatophytes, 26 (83.9%) with *Microsporum* sp., and 5 (16.1%) with *Trichophyton* sp.; only one dog showed parasitism by *Sarcoptes scabiei*. A statistically significant association was observed between skin alterations and dermatological infection by dermatophytes ($P = 0.61$). Of the 29 dogs from which skin fragments were used to perform PCR with specific primers, 19 (65.5%) showed *L. chagasi* DNA amplification.

Discussion: Symptomatic dogs are more common than asymptomatic ones; therefore, sampling was set up in the hospital for reagents dogs with clinical suspicion of this zoonosis. Dermatological signs accounted for 70% of the clinical symptoms presented by the dogs, which were evaluated as described by other authors. Exfoliative dermatitis was the most common skin lesion followed by onychogryphosis and alopecia. This is because of granulomatous or pyogranulomatous inflammation, inflammation in different structures of the skin, or deposition of immune complexes. Only few studies have described the co-existence of VL and dermatophytosis in dogs. We found dermatophyte fungal infection in more than half of the dogs (70%), most frequently *Microsporum* sp. followed by infection with *Trichophyton* sp. Regarding the clinical signs, no statistical difference was observed between the dogs with and without dermatophyte infection, which reinforces the lack of specificity in clinical signs that may hinder the diagnosis of both diseases when present as co-morbidities or in isolation. The high frequency of dermatophytosis in dogs with VL may result from a compromised immune system. *L. chagasi* DNA detected in 65.5% of samples tested by conventional PCR can be related to the host's immune response, as well as to the uneven distribution of the parasite in different tissues. These results support the high frequency of skin changes and concomitant skin diseases like ringworm observed in dogs with LV, highlighting the importance of researching other differential diagnoses in endemic areas.

Keywords: *Leishmania chagasi*, dermatophyte, *Microsporum*, *Trichophyton*, cutaneous lesions, dogs.

DOI: 10.22456/1679-9216.80954

Received: 25 September 2015

Accepted: 15 May 2016

Published: 10 July 2016

¹Programa de Iniciação Científica (CNPq), Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT), Cuiabá, MT, Brazil. ²Programa de Pós-graduação em Ciências Veterinárias, UFMT, Cuiabá. ³Programa de Residência em Medicina Veterinária, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, UFMT, Cuiabá. ⁴Departamento de Clínica Médica Veterinária, Faculdade de Agronomia, Medicina Veterinária e Zootecnia, UFMT, Cuiabá. CORRESPONDENCE: V.R.F. Sousa [valeriaregia27@gmail.com - Fax +55 (65) 3615-8664]. Departamento de Clínica Médica Veterinária, Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT), Av. Fernando Corrêa, s/n. Bairro Coxipó. CEP 78080-900 Cuiabá, MT, Brazil.

INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral nas Américas é uma zoonose causada pela *Leishmania chagasi* (syn. *L. infantum*), que tem o cão como o principal reservatório no ambiente urbano [15].

Vários sinais clínicos são observados nos cães com leishmaniose visceral secundariamente a inflamação decorrente da multiplicação do parasito nos diversos tecidos, provocando linfadenopatia, onicogribose, apatia, perda de peso e palidez de mucosas [11]. As alterações cutâneas (67 a 89% dos casos) são os principais sinais encontrados no exame físico dos cães com LV, assim como podem ser os únicos sinais observados [17]. Estes incluem alopecia, dermatite esfoliativa, ulcerativa, nodular ou pustular estéril, hiperqueratose nasal ou de coxim, onicogribose, paroniquia, ulceração de mucosa ou mucocutânea ou nódulos [12].

Muitas dermatoses têm sido descritas concomitante a LVC e podem complicar o quadro clínico e o diagnóstico, tais como piodermites, malasseziase, dermatofitoses e demodicose que ocorrem pela imunossupressão induzida pelo parasito ou por condições ambientais que favorecem a coinfeção [17]. Desta forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar as alterações dermatológicas em cães com LV assim como as principais dermatoses associadas a esta zoonose e o parasitismo cutâneo por *Leishmania chagasi* pela PCR.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para este estudo foram incluídos cães soror-reagentes para leishmaniose visceral por ELISA e RIFI (Biomanguinhos, FIOCRUZ), de raças e idades variadas, que foram avaliados quanto aos sinais dermatológicos. Adicionalmente, análise molecular de fragmento de pele foi realizada utilizando *primer* 150 5'-GGG(G/T)AGGGGCGTTCT(C/G)CGAA-3' e 152 5' (C/G)(C/G)(C/G)(A/T)CTAT(A/T)TTACAC-CAACCC-3' que amplificam fragmento de 120pb de uma região variável de kDNA do gênero *Leishmania* [8]. Posteriormente as amostras positivas foram testadas para o *primer* RV1 5'-CTTTTCTGGTCCC-GCGGGTAGG-3' e RV2 5'-CCACCTGGCTATTT-TACACCA-3' que amplifica fragmento de 145pb de *Leishmania chagasi* [10].

Raspado cutâneo profundo foi realizado em pelo menos cinco áreas da pele com ou sem lesão para pesquisa de ácaros. Para cultura fúngica, foram realizados raspados cutâneos na periferia das áreas le-

sionadas, os quais foram semeados em placas com Agar sabouraud e incubados à temperatura ambiente por um período de 7 a 14 dias. Após o crescimento fúngico, foi retirado um fragmento da colônia, acrescentado azul de algodão, para avaliação em microscopia de luz [16].

Os dados foram tabulados e analisados de forma descritiva quanto aos sinais clínicos dermatológicos. Em relação à presença de alterações dermatológicas e a infecção por dermatófitos utilizou o teste de associação qui-quadrado (EpiInfo 3.2, CDC), considerando significativo $P \leq 0,05$.

RESULTADOS

Dos 50 cães avaliados, em 15 (30%) cães não foram observados sinais sistêmicos ou cutâneos, enquanto em 35 (70%) foram observadas alterações de pele e anexos.

Em 31 (62%) cães com leishmaniose visceral foi constatada a infecção por fungos dermatófitos, sendo 26 (83,9%) com *Microsporium* sp. e 05 (16,1%) com *Trichophyton* sp. Em um canino foi visualizado o ácaro *Sarcoptes scabiei* no exame parasitológico direto.

Em oito (16%) cães sem alterações dermatológicas foram isolados *Microsporium* sp. (05) e *Trichophyton* sp (03), enquanto 23 (46%) apresentaram alterações dermatológicas que estão inseridos na Tabela 1. Não foi observada associação estatisticamente significativa entre ter alteração dermatológica e infecção por dermatófitos ($P = 0,61$).

De 29 cães foi realizada a PCR de fragmentos cutâneos, em 19 (65,5%) houve a amplificação de DNA de *Leishmania chagasi*, utilizando *primer* específico. Destes, 11 (57,9%) apresentaram infecção por dermatófito.

DISCUSSÃO

Na leishmaniose visceral os cães assintomáticos apresentam uma relevante importância epidemiológica, com prevalência variando de 23,4% a 46,3% [1,3]. No entanto, neste estudo os sintomáticos predominaram, pois, a amostragem foi obtida de população hospitalar encaminhada a partir de suspeita clínica de leishmaniose visceral.

Os sinais dermatológicos representaram 70% das alterações clínicas apresentadas pelos cães avaliados semelhante aos obtidos por Barroso *et al.* [4]. Dermatite furfurácea foi a alteração dermatológica mais observada seguida de onicogribose e alopecia.

Tabela 1. Alterações dermatológicas em cães com leishmaniose visceral com ou sem associação a dermatofitose.

Sinal clínico	Leishmaniose Visceral N (%)	Leishmaniose Visceral e Dermatofitose N (%)
Alopecia	05 (10)	02 (04)
Dermatite furfurácea	09 (18)	09 (18)
Úlcera ponta de orelha	03(06)	08 (16)
Onicogribose	03 (06)	10 (20)
Hiperqueratose	01 (02)	02 (04)
Pelame opaco	02 (04)	02 (04)

A dermatite furfurácea/esfoliativa é a mais comum e isso se deve à inflamação granulomatosa ou piogranulomatosa em diferentes estruturas da pele ou à deposição de imunocomplexos [17]. O segundo sinal mais observado, a onicogribose pode ser decorrente da ação do parasito na matriz ungueal [13] ou retardo do desgaste natural das unhas [17].

Os resultados da cultura fúngica mostraram que mais da metade dos cães (70%) apresentavam dermatófitos dos gêneros *Microsporum* sp. e *Trichophyton* sp. A infecção por *Microsporum* sp. apresentou maior frequência comparado à infecção por *Trichophyton* sp., como visto em estudo de prevalência geral destas dermatofitoses [14]. Infecção por *Aspergillus* sp. já foi relatado em cães com LV [5], porém poucos estudos descrevem a co-infecção entre LV e dermatofitose em cães [7], principalmente por *Trichophyton* sp.

Em relação aos sinais clínicos não se observou diferença estatística entre os cães com e sem infecção por dermatófitos, reforçando a inespecificidade dos sinais clínicos que podem dificultar o diagnóstico das duas doenças quando se apresentam como co-morbidades ou isoladamente. No entanto, a dermatofitose tem sido associada a casos de comprometimento do sistema imune por outras doenças como a leishmaniose visceral [4].

Infecção parasitária por *Demodex canis* já foi relatada na LVC [6], porém nesta pesquisa tal ácaro

não foi encontrado. Porém, um cão apresentou infecção pelo ácaro *Sarcoptes scabiei*, caracterizado pela formação de eritema, pápulas, escamas e crostas em associação com alopecia e prurido intenso [9].

Em 65,5% das amostras testadas pela PCR convencional foi detectada a presença de DNA de *Leishmania chagasi*, no entanto, a resposta imune individual, o fato do parasito não se distribuir de forma uniforme nos diferentes tecidos pode justificar o não encontro do agente em todos os fragmentos de pele testados [2].

CONCLUSÃO

A infecção mais frequente nos cães com LV foi a dermatofitose, principalmente pelo gênero *Microsporum*, fato que pode dificultar a identificação da doença de base tendo em vista a similaridade dos sinais dermatológicos entre as duas enfermidades, destacando a importância de se pesquisar outros diagnósticos diferenciais em áreas endêmicas.

Ethical Approval. All procedures were approved by the Ethics Committee of the Federal University of Mato Grosso (protocol number CEUA n° 23108.019868/09-9).

Declaration of interest. The authors report no conflicts of interest and alone is responsible for the content and writing of the paper.

REFERENCES

- 1 Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Cruz F.A.C.S., M.A.A., Figueiredo F.B. & Madeira M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*. 21(4): 359-365.
- 2 Almeida A.B.P.F., Sousa V.R.F., Gasparetto N.D., Silva G.F.R., Figueiredo F.B., Dutra V., Nakazato L. & Madeira M.F. 2013. Canine visceral leishmaniasis: diagnostic approaches based on polymerase chain reaction employing different biological samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 76(3): 321-324.
- 3 Barati M., Mohebal M., Alimohammadian M.H., Khamesipour A., Akhoundi B. & Zarei Z. 2015. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence survey of asymptomatic dogs in an endemic area of northwestern Iran. *Journal of*

Parasitic Disease. 39(2): 221-224.

- 4 Barroso P.A., Nevot M.C., Hoyos C.L., Locatelli F.M., Lauthier J.J., Ruybal P., Cardozo R.M., Russo P.D., Vassiliades C.N., Mora M.C., Estévez J.O., Hashiguchi Y., Korenaga M., Basombrío M.A. & Marco J.D. 2015.** Genetic and clinical characterization of canine leishmaniasis caused by *Leishmania (Leishmania) infantum* in northeastern Argentina. *Acta Tropica*. 150: 218-223.
- 5 Cavalcanti M.P., Faustino M.A.G., Alves L.C., Borba M.A.C., Silva L.B.G. & Mota R.A. 2004.** Infecções micóticas e bacterianas em lesões cutâneas de cães parasitologicamente positivos para *Leishmania chagasi*. *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*. 11(3): 160-162.
- 6 Cavalcanti M.P., Faustino M.A.G., Silva L.B.G. & Alves L.C. 2005.** Aspectos clínicos das dermatopatias infecciosas e parasitárias em cães com diagnóstico presuntivo de leishmaniose visceral. *Clínica Veterinária*. 58: 36-42.
- 7 Cerundolo R. 2004.** Generalized *Microsporum canis* dermatophytosis in six Yorkshire terrier dogs. *Veterinary Dermatology*. 15(3): 181-187.
- 8 Degrave W., Fernandes O., Campbell D., Bozza M. & Lopes U.G. 1994.** Use of molecular probes and PCR for detection and typing of *Leishmania*: a mini review. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 89(3): 463-469.
- 9 Feather L., Gough K., Flynn R.J. & Elsheikha H.M. 2010.** A retrospective investigation into risk factors of sarcoptic mange in dogs. *Parasitology Research*. 107(2): 279-283
- 10 Lachaud L., Marchergui-Hammami S., Chabbert E., Dereure J., Dedet J.P. & Bastien P. 2002.** Comparison of six PCR methods using peripheral blood for detection on canine visceral leishmaniasis. *Journal of Clinical Microbiology*. 40(1): 210-215.
- 11 Leite R.S., Souza N.A., Barbosa A.D., Ferreira A.L.C. & Andrade A.S.R. 2015.** Evaluation of conjunctival swab as a mass-screening tool for molecular diagnosis of canine visceral leishmaniasis. *Parasitology Research*. 114(6): 2255-2262.
- 12 Lombardo G., Pennisi M.G., Lupo T., Chicharro C. & Solano-Gallego L. 2014.** Papular dermatitis due to *Leishmania infantum* infection in seventeen dogs: diagnostic features, extent of the infection and treatment outcome. *Parasites & Vectors*. 7: 120.
- 13 Marzochi M.C.A., Coutinho S.G., Sabroza P.C., Souza M.A., Souza P.P., Toledo L.M. & Rangel Filho F.B. 1985.** Leishmaniose visceral canina no Rio de Janeiro - Brasil. *Cadernos de Saúde Pública*. 1(4): 432-446.
- 14 Palumbo M.I.P., Machado L.H.A., Paes A.C., Magia S.H. & Motta R.G. 2010.** Estudo epidemiológico das dermatofitoses em cães e gatos atendidos no serviço de dermatologia da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Botucatu. *Semina: Ciências Agrárias*. 31(2): 459-468.
- 15 Peixoto H.M., Oliveira M.R.F. & Romero G.A.S. 2015.** Serological diagnosis of canine visceral leishmaniasis in Brazil: systematic review and meta-analysis. *Tropical Medicine and International Health*. 20(3): 334-352.
- 16 Quinn P.J. 1994.** *Clinical Veterinary Microbiology*. London: Mosby, 648p.
- 17 Saridomichelakis M.N. & Koutinas A.F. 2014.** Cutaneous involvement in canine leishmaniosis due to *Leishmania infantum* (syn. *L. chagasi*). *Veterinary Dermatology*. 25(2): 61-e22.