



=

**Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Campus de Patos – PB**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, LABORATORIAIS E
MÉTODOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO DE
TRIPANOSSOMATÍDEOS EM CÃES PROVENIENTES DO SERTÃO
PARAIBANO**

ATTICUS TANIKAWA

**PATOS – PB
AGOSTO – 2017**

**Universidade Federal de Campina Grande
Centro de Saúde e Tecnologia Rural
Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária
Campus de Patos – PB**

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, LABORATORIAIS E
MÉTODOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO DE
TRIPANOSSOMATÍDEOS EM CÃES PROVENIENTES DO SERTÃO
PARAIBANO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária do Centro de Saúde e Tecnologia Rural da Universidade Federal de Campina Grande, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor.

ATTICUS TANIKAWA

Orientador: Prof. Dr. Almir Pereira de Souza

**PATOS – PB
AGOSTO – 2017**

T17a

Tanikawa, Atticus

Aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, e métodos complementares de diagnóstico de tripanossomatídeos e em cães provenientes do sertão paraibano / Atticus Tanikawa. – João Pessoa, 2018.

76f.;il.

Orientador: Prof. Drº Almir Pereira de Souza

Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Campina Grande

**ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS, CLÍNICOS, LABORATORIAIS E
MÉTODOS COMPLEMENTARES DE DIAGNÓSTICO DE
TRIPANOSSOMATÍDEOS EM CÃES PROVENIENTES DO SERTÃO
PARAIBANO**

ATTICCUS TANIKAWA

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Almir Pereira de Souza

Instituição: Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Profa. Dra. Rosangela Maria Nunes da Silva

Instituição: Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. Severino Silvano dos Santos Higino

Instituição: Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária/CSTR/UFCG

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. Patrício Marques de Souza

Instituição: Unidade Acadêmica de Ciências Médicas /CCBS/UFCG

Assinatura: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. Vinícius Longo Ribeiro Vilela

Instituição: Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia da
Paraíba- Campus Souza

Assinatura: _____

Julgamento: _____

DEDICATÓRIA

*A minha mãe Harumi
Tanikawa por todo
amor, confiança e apoio a mim
dedicados.*

AGRADECIMENTOS

A Deus que me acompanhou nesta longa jornada, me dando paz e iluminando o meu caminho durante todo este período.

A Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, pela minha formação profissional.

Ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, da Universidade Federal de Campina Grande pela oportunidade a mim cedida.

Ao secretário da Pós-Graduação *Jonas Alves* pelo auxílio nos trâmites necessários para a conclusão da dissertação.

Ao meu orientador Prof. Dr. *Almir Pereira de Souza* a quem ofereço a minha imensa gratidão por tudo que fizeste por mim, pela confiança cedida durante todo o doutorado, principalmente nos momentos de dificuldades pessoais e profissionais.

Ao Prof. Dr. Fernando Vaz, pelo auxílio imenso nas realizações das análises laboratoriais, realizadas na UFCG.

Ao colega de apartamento *Dinamérico Junior* e Rômulo Soares pelos momentos descontração e harmonia.

Aos colegas de pós graduação, Auricélia, Raquel, Aline, Rodrigo e em especial a Vanessa e Olívia, que auxiliaram nas coletas, que incentivaram nos momentos conturbados e que sempre estiveram sempre do meu lado nos momentos difíceis.

Aos colegas de Graduação e Residência Francisco Charles, Angelina, Danilo, Suelton e Aline pelos ensinamentos e pela ajuda prestada na coleta de dados.

Aos professores Drs. *Pedro Isidro, Rosangela Nunes,, Eldinê de Miranda, Sara Vilar, Gildenor Xavier, João Moreira* pelos ensinamentos, convívio e atenção aos animais.

A Médica Veterinária Rosileide Carneiro por todos os ensinamentos prestados durante a minha toda a minha formação profissional.

Aos meus conterrâneos e amigos *Adalton (Adalto), Cesinha, Evaristo (Chico), Danilo (Dinho), Ciro (Cirola), Bruno (Aranha) Glauber (Baixinho) e Marcus (Marquinho)* torcedores fanáticos do Esporte Clube Bahia. “Bora Bahea”.

A minha *batchan Mina e querida tia Hitomi* e primos *Yuri e Kenji* pelo apoio amizade e companheirismo conferido durante todos estes anos.

Aos demais membros da família *Tanikawa* a quem eu devo a minha origem.

RESUMO

TANIKAWA, A. Aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, e métodos alternativos de diagnóstico de tripanossomatídeos em cães provenientes do sertão paraibano. Tese (Doutorado em Medicina Veterinária) **115f.** – Programa de Pós-graduação em Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Universidade Federal de Campina Grande, Patos- PB, 2017.

Esta tese consiste de três capítulos que abordam os aspectos epidemiológicos, clínicos, laboratoriais, e métodos alternativos de diagnóstico de tripanossomatídeos em cães provenientes do sertão paraibano. Objetivou-se com este estudo identificar a situação da Doença de Chagas no sertão paraibano avaliando a potencialidade da mesorregião de Patos através dos indicadores entomológicos mediante a um estudo retrospectivo na microrregião de Patos entre os períodos de 2009 até 2015. Ao mesmo tempo identificou-se as concentrações plasmáticas de haptoglobina, proteína C reativa e ceruloplasmina em cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania* spp, como também determinar as possíveis correlações dessas com variáveis hematológicas e bioquímicas séricas. Para os cães chagásicos, anemia, trombocitopenia, foram as variáveis significativas ($p < 0,05$) no hemograma. Na avaliação bioquímica, registrou-se hiperproteinemia, hiperglobunemia e inversão da relação albumina/globulina ($p < 0,05$). Concentrações sérias de haptoglobina ($p = 0,04$) e proteína c reativa ($p = 0,001$) foram significativamente maiores nos cães com *Trypanosoma cruzi* em relação ao grupo controle, ocorrendo correlação entre a haptoglobina e anemia ($r = -0,6641$). Por sua vez, cães naturalmente infectados com *Leishmania* spp, apresentaram diferença significativa entre as médias dos grupos apenas para haptoglobina entre o Grupo Leishmania Geral (GLG) ($p \leq 0,0001$) e o Grupo Controle (GC). Quando analisados os grupos Grupo Leishmania Assintomático (GLA) e Grupo Leishmania Sintomático (GLS) separadamente do GLG houve associação estatística entre a Hpt para os GLA ($p = 0,0089$) e GLS ($p = 0,0238$), enquanto que a PCR exclusivamente para o GLA ($p = 0,0047$). Anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, foram as variáveis significativas ($p < 0,05$) no hemograma para o grupo GLG. Na avaliação bioquímica, registrou-se hiperproteinemia, hiperglobunemia e inversão da relação albumina/globulina ($p < 0,05$). Na análise de correlação houve significância estatística entre a haptoglobina e anemia ($r = -0,2832$). De acordo com os indicadores entomológicos as espécies que apresentaram maior frequência de captura foram

Triatoma brasiliensis totalizando 3934 exemplares (54,8%) seguida respectivamente pelo *Triatoma pseudomaculata* 2957 exemplares (41,2%), *Panstrongylus lutzi* 171 exemplares (2,4 %), *Rhodnius neglectus* 48 exemplares (0,7%), *Rhodnius nasutus* 46 exemplares (0,6%), *Triatoma petrochiae* 17 exemplares (0,2%) e *Panstrongylus megistus* 4 exemplares (0,1%). De acordo com os dados obtidos conclui-se que cães naturalmente infectados por *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* sem sintomatologia clínica apresentaram valores significativos de haptoglobina e proteína c reativa principalmente nos pacientes anêmicos atuando como ferramentas auxiliares na avaliação de morbidade e de diagnóstico em regiões que apresentam índices de infecção para ambos tripanossomatídeos como a microrregião de Patos. Conclui-se também que esta região apresenta uma taxa de dispersão triatomínica maior em ambientes peridomiciliares que se encontram com baixos índices de infecção natural, o que não descarta a necessidade—da atenção dos órgãos competentes com a potencialidade vetorial de infectividade para *T.cruzi* em ecótopos intradomiciliares na região estudada.

Palavras-chave: Proteínas de fase aguda, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp triatomíneos, cães, Nordeste paraibano.

ABSTRACT

TANIKAWA, A. Epidemiological, clinical, laboratorial, and alternative methods of diagnosis of trypanosomatids in dogs from the Paraíba hinterland. Thesis (Doctorate in Veterinary Medicine) 115f. - Postgraduate Program in Veterinary Medicine, Center for Health and Rural Technology, Federal University of Campina Grande, Patos-PB, 2017.

This thesis consists of three chapters that address epidemiological, clinical, laboratorial, and alternative methods of diagnosis of trypanosomatids in dogs from the Paraíba hinterland. The objective of this study was to identify the situation of Chagas disease in the Paraíba hinterland by assessing the potentiality of the Patos mesoregion through entomological indicators through a retrospective study in the Patos microregion between the periods of 2009 and 2015. At the same time it was identified The plasma concentrations of haptoglobin, C reactive protein and ceruloplasmin in dogs naturally infected with *Trypanosoma cruzi* and *Leishmania* spp, as well as to determine their possible correlations with hematological and serum biochemical variables. For chagasic dogs, anemia, thrombocytopenia, were the significant variables ($p < 0.05$) in the hemogram. In the biochemical evaluation, hyperproteinemia, hyperglobunemia and inversion of the albumin / globulin ratio ($p < 0.05$) were recorded. Serum concentrations of haptoglobin ($p = 0.04$) and c-reactive protein ($p = 0.001$) were significantly higher in dogs with *Trypanosoma cruzi* than in the control group, with a correlation between haptoglobin and anemia ($r = -0.6641$). In contrast, dogs naturally infected with *Leishmania* spp presented a significant difference between the means of the groups only for haptoglobin between the *Leishmania* General Group (GLG) ($p \leq 0.0001$) and the Control Group (CG). When analyzing the groups *Leishmania* Asymptomatic (GLA) and Group *Leishmania* Symptomatic (GLS) separately from GLG, there was statistical association between Hpt for GLA ($p = 0.0089$) and GLS ($p = 0.0238$), whereas PCR Exclusively for the GLA ($p = 0.0047$). Normocytic normochromic anemia, thrombocytopenia, were the significant variables ($p < 0.05$) in the hemogram for the GLG group. In the biochemical evaluation, hyperproteinemia, hyperglobunemia and inversion of the albumin / globulin ratio ($p < 0.05$) were recorded. In the correlation analysis there was statistical significance between haptoglobin and anemia ($r = -0.2832$). According to the entomological indicators, the species that presented the highest frequency of capture were *Triatoma brasiliensis* totaling 3934 specimens (54.8%), followed respectively by *Triatoma pseudomaculata* 2957 specimens (41.2%),

Panstrongylus lutzi 171 specimens (2.4%), *Rhodnius neglectus* 48 specimens (0.7%), *Rhodnius nasutus* 46 specimens (0.6%), *Triatoma petrochiae* 17 specimens (0.2%) and *Panstrongylus megistus* 4 specimens (0.1%). According to the data obtained, dogs naturally infected with *Leishmania* spp and *Trypanosoma cruzi* without clinical symptoms showed significant values of haptoglobin and c-reactive protein, mainly in the anemic patients acting as auxiliary tools in the evaluation of morbidity and diagnosis in regions presenting Infection rates for both trypanosomatids such as the Patos microregion. It is also concluded that this region presents a higher triatomic dispersion rate in peridomiciliary environments that have low rates of natural infection, which does not rule out the need. Of the attention of the competent organs with the vectorial potential of infectivity for T.cruzi in intradomiciliary ecotypes in the studied region.

Key words: Acute phase proteins, *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania* spp triatomines, dogs, northeastern paraibano.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	XI
LISTA DE TABELAS	XII
1. INTRODUÇÃO	15
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	17
3. CAPÍTULO I: Proteínas de fase aguda em cães naturalmente infectados por <i>Trypanosoma cruzi</i> e suas relações com as variáveis hematológicas e bioquímicas.....	21
3.1. Resumo	22
3.2. Abstract.....	23
3.3. Introdução	24
3.4. Material e Métodos.....	26
3.5. Resultados e Discussão.....	25
3.6. Conclusão.....	30
3.7. Referências	31
4. CAPÍTULO II Proteína C reativa e haptoglobina em cães com <i>Leishmania</i> spp, e suas correlações com as variáveis hematológicas e bioquímicas.....	35
4.1. Abstract.....	35
4.3. Resumo.....	36
4.4. Introdução.....	37
4.4. Material e Métodos.....	38
4.5. Resultados e Discussão.....	39
4.6. Conclusão.....	41
4.7. Referências	42
5. CAPÍTULO III: Diagnóstico Situacional dos Triatomíneos (<i>Hemiptera: Reduviidae: Triatominae</i>) infectados por <i>Trypanosoma cruzi</i> : e sua distribuição no sertão paraibano.....	47
5.1. Resumo	48
5.2. Abstract.....	49
5.3. Introdução	50
5.4. Material e Métodos.....	51
5.5. Resultados.....	52
5.6. Discussão.....	53
5.7. Conclusão.....	54
5.8. Referências	55

LISTA DE ABREVIATURAS

RIFI	Reação de imunofluorescência indireta
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
PCR	Polymerase chain reaction
GC	Grupo controle
HV	Hospital Veterinário
UFCG	Universidade Federal de Campina Grande
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
AST	Aspartato aminotransferase
JALT	Alanino aminotransferase
PT	Proteína Total
Cr	Ceruloplasmina
HP	Haptoglobina
PCR	Proteína C reativa
PFAs	Proteínas de Fase aguda
mg/dl	Miligramas/decilitro
µL	Microlitro
IG	Imunoglobulina
Hb	Hemoglobina
g/dl	Gramas/decilitro
VGM	Volume globular médio
GGT	Gama glutamil aminotransferase
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
TIN	Taxa de infecção natural
TINE	Taxa de infecção natural por espécie

LISTA DE TABELAS

	pág.
CAPÍTULO I	
Proteínas de fase aguda em cães naturalmente infectados por <i>Trypanosoma cruzi</i> e suas relações com as variáveis hematológicas e bioquímicas	
Tabela 1. Concentrações plasmáticas de haptoglobina, ceruloplasmina e proteína c reativa em cães naturalmente infectados pelo <i>Trypanosoma cruzi</i>	26
Tabela 2. Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, ceruloplasmina e proteína c reativa dos cães com <i>Trypanosoma cruzi</i> e do grupo controle.	27
Tabela 3. Valores das médias e medianas das variáveis hematológicas dos cães com <i>Trypanosoma cruzi</i> e do grupo controle.	29
Tabela 4. Valores das médias das variáveis bioquímicas relacionadas a proteína total, albumina, globulina e relação albumina e globulina dos cães com <i>Trypanosoma cruzi</i> e do grupo controle.	30

CAPÍTULO II

pag.

Proteína Creativa e Haptoglobina de cães com *Leishmania* spp, e suas correlações com as variáveis hematológicas e bioquímicas

- Quadro 1.** Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, e proteína c reativa dos cães com *Leishmania* spp (GLG) e do grupo controle (GC). **43**
- Quadro 2.** Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, e proteína c reativa dos cães do grupo *Leishmania* spp assintomático (GLA), grupo *Leishmania* spp sintomático (GLS) e do grupo controle (GC) **43**
- Quadro 3.** Valores das médias e medianas das variáveis hematológicas e bioquímicas dos cães com *Leishmania* spp e do grupo controle. **43**
- Quadro 4.** Valores das médias das variáveis bioquímicas relacionadas a proteína total, albumina, globulina e relação albumina e globulina dos cães com *Trypanosoma cruzi* e do grupo controle. **44**

**Diagnóstico Situacional dos Triatomíneos (*Hemíptera: Reduviidae: Triatominae*)
infectados por *Trypanosoma cruzi*: e sua distribuição no sertão paraibano**

Tabela 1.	Distribuição de triatomíneos por espécie e com infecção natural por <i>Trypanosoma cruzi</i> capturados em municípios da microrregião de Patos no período 2009 – 2015	58
Tabela 2.	Distribuição por espécie peri e intradomiciliar dos triatomíneos capturados na microrregião de Patos nos períodos de 2009-2015	60
Tabela 3.	Distribuição por espécie peri e intradomiciliar dos triatomíneos positivos para <i>T.cruzi</i> capturados na microrregião de Patos nos períodos de 2009-2015.	61

INTRODUÇÃO

A Doença de Chagas e a Leishmaniose Visceral são importantes endemias de caráter zoonótico, potencialmente fatais causadas pelos protozoários *Trypanosoma cruzi* e *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* e, têm como principais vetores insetos hematófagos (triatomíneos e *Lutzomya spp* respectivamente (MENDES et al., 2008). Os tripanossomatídeos apresentam uma ampla distribuição geográfica e grande diversidade de hospedeiros, infectando animais invertebrados e vertebrados de praticamente todas as ordens (VICKERMAN, 1976; STEVENS et al., 2001; SIMPSON et al., 2006). Abriga gêneros heteroxênicos (*Trypanosoma*, *Leishmania*), cujos ciclos ocorrem alternância entre hospedeiros invertebrados (geralmente artrópodes hematófagos) e vertebrados (VICKERMAN, 1976; CAMARGO, 1998).

Na Doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana a infecção é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* podendo ser transmitida primariamente por meio de insetos hematófagos da subfamília *Triatominae*, como também por outros mecanismos de transmissão, tais como transfusão sanguínea, transmissão congênita, transplante de órgãos e por via oral (Santana et al., 2012; Mendes et al., 2013) Os triatomíneos vetores participantes da doença podem estar distribuídos em diferentes habitats afetando inúmeras espécies de animais uma vez que participam de diferentes ciclos epidemiológicos para *T. cruzi*, dentre esses, o ciclo doméstico e peridoméstico, onde participam o homem e outros animais. Seu início ocorreu a partir da ocupação humana em ecótopos silvestres, em vivendas rurais, oferecendo abrigo e alimento abundante aos vetores servindo com elo entre o ciclo doméstico e silvestre (SCHMUÑIS 2000). Das 65 espécies, somente cinco são relevantes para a transmissão domiciliar: o *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida* e *Pastrongylus megistus* (Costa et al, 2009). Atualmente o *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* são as espécies mais frequentes principalmente nos ambientes intradomiciliar especialmente no nordeste brasileiro (Silva, et al., 2015, Barbosa-Silva et al. 2016; Vasconcelos et al., 2013) onde os altos índices de infecções a humanos inclusive no estado Paraíba são verificados pelos os dados obtidos pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN, inclusive no estado da Paraíba (Brasil, 2017).

Os cães são a única espécie capaz de desenvolver as formas clínicas semelhantes às observadas na população humana exercendo a forma aguda, crônica indeterminada, subaguda e crônica determinada, podendo manifestar alterações clínicas associadas com frequência a lesões cardíacas, digestivas e nervosas (Brener et al., 2000, Camacho et al. 2003). Contudo deve-se salientar que tais manifestações clínicas são dependentes do período de exposição ao agente e podem variar de acordo com estágio clínico da doença. A fase aguda da doença é facilmente observada em cães

jovens, entre cinco dias e seis meses de idade. Normalmente os animais afetados desenvolvem infecção generalizada, com lesões extensas, de forma predominante no miocárdio podendo ocorrer morte súbita decorrente da arritmia grave. A doença crônica ocorre oito a 36 meses após a infecção e o paciente pode manter-se assintomático ou com sinais clínicos relacionados aos distúrbios de ritmo cardíaco (LAPPIN, 1997)

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma zoonose, causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, que acomete cães e humanos com ampla distribuição geográfica. No Brasil, a LVC apresenta características endêmicas em diferentes regiões inclusive no estado da Paraíba (Silva et al, 2016). Cães expostos aos insetos infectados podem permanecer sintomáticos como assintomáticos. Ambos os cães são portadores do parasita e são fontes de infecção para a doença podendo ser transmitida aos seres humanos através dos flebotomíneos durante o repasto sanguíneo (MARTINEZ-SUBIELA et al, 2011). Na forma sintomática da Leishmaniose Visceral Canina, os animais acometidos apresentam lesões cutâneas, principalmente descamação e eczema, em especial no espelho nasal e orelha, além de pequenas úlceras rasas, localizadas mais frequentemente ao nível das orelhas, focinho, cauda e articulações e pêlo opaco. Nas fases mais adiantadas da doença, observa-se, com grande frequência, onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia, alopecia, dermatites, úlceras de pele, ceratoconjuntivite, coriza, apatia, diarreia, hemorragia intestinal, edema de membros, vômito, além da hiperqueratose. Na fase final da infecção, ocorre em geral a paresia das membros pélvicos, caquexia, inanição e morte. (Brasil, 2014).

O diagnóstico para Leishmaniose Visceral e Tripanossomíase Americana baseia-se das características clínicas, métodos parasitológicos, sorológicos e moleculares. Dentre os métodos, a Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) é considerada como teste confirmatório para ambas enfermidades (BRASIL 2008). Todavia apesar de existirem estudos com soroprevalência no Brasil para infecção por *Leishmania* spp. e *Trypanosoma cruzi* (LAURICELLA et. al. 1998; COSTA et. al., 2003; TRONCARELLI et. al., 2003) existe a possibilidade de resultados falso-positivos em decorrência de reações cruzadas entre ambos os agentes (LUCIANO et al., 2009; SOUZA et al., 2009) devido a proximidade filogenética entre os parasitas sendo recomendado o uso de técnicas laboratoriais complementares como a Reação em Cadeia Polimerase (TRONCARELLI et al., 2008; LUCIANO et al., 2009). Contudo em diferentes estudos realizados na medicina humana e na veterinária demonstram que as proteínas de fase aguda podem contribuir como marcadores biológicos para diferentes agentes infecciosos, inclusive para o *T. cruzi* e *Leishmania chagasi*. Em processos infecciosos uma reação imunológica mediada por células inflamatórias dentre elas as citocinas, tendem a reduzir a carga parasitária, auxiliando na defesa do organismo. Estas células além da modulação da resposta imunológica tem importante papel como mediador de síntese de proteínas de fase aguda inflamatória (PFAs) onde tais proteínas como, a haptoglobina (Hpt),

ceruloplasmina (Cr) proteína c reativa (PCR) fornecem auxiliam no diagnóstico, prognóstico e monitoramento em diversos processos patológicos e infecciosos, (MARTINEZ-SUBIELLA et al 2002, CERON et al. 2005; MUNHOZ et al., 2012;; ANZILIERO et al., 2013)

Neste contexto, diante da situação epidemiológica da Doença de Chagas na Paraíba e a escassez de dados da ação destes parasitas em cães domésticos utilizando marcadores biológicos inflamatórios, o estudo tem como objetivo determinar o perfil da Doença de Chagas no sertão paraibano através de indicadores entomológicos e da utilização de métodos alternativos de determinação de diagnóstico para contribuir na melhor compreensão da situação destas endemias no estado, na qual ambos tripanossomatídeos são importantes problemas de saúde pública.

REFERÊNCIAS

ANZILIERO, D.;BASSI, E.;PAIN, K.M. VALLE, S.F.; KREUTZ, C. Determinação dos níveis séricos de proteína creativa (crp) em cães com alterações dos parâmetros hematológicos. Ci. Anim. Bras., Goiânia, v.14, p. 265-272, 2013.

BARBOSA-SILVA, A.N, CAMARA, A.C., MARTINS, K. NUNES, D.F. OLIVEIRA, P.I.C., AZEVEDO, P.R.M., CHIARI, E.,GALVÃO, M.C. Characteristics of Triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the State of Rio Grande do Norte, Brazil Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, v. 49, p.57-67, 2016.

BRENER, Z;ANDRADE, Z.A.; BARRAL-NETO M. *Trypanosoma cruzi* e doença de Chagas. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, p. 430, 2000.

CAMACHO, A.A.; MUCHA,C.J.;BELERENIAN, G.C. Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais. Interbook, São Paulo, p. 328, 2003.

CAMARGO ,E.P. *Phytomonas* and other Trypanosomatid parasites of plants and fruit. Adv Parasit.; v. 29, p.112-115, 1998

CERON, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTINEZ-SUBIELLA, S.. Acute phase proteins in dogs and cats; current knowledge and future perspectives. Veterinary Clinical Pathology v34, p. 85–99, 2005.

COSTA , J; LORENZO, M. BIOLOGY, Diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines – Chagas diseases vectors. Mem. Inst. Oswaldo Cruz; v. 104, p. 406-451, 2009.

COSTA, R.T. ; FRANÇA, J.C.; MAYRINK, W.; NASCIMENTO, E.; GENEARO, O. CAMPOS-NETO, A. Standardization of immunochromatographic test with the recombinant antigens K 39 and K 26 for the diagnosis of canine visceral leishmaniasis. Trans. R.Soc. Trop.Med. Hyg., v.97. p. 678-682.2003.

- LAPPIN, M.R.. Infecções protozoárias e mistas, p.431-440. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), Tratado de Medicina Veterinária Interna: doenças do cão e do gato. São Paulo, 1997, Vol.1. 4ª ed. Manole, p.1039
- LAURICELLA, M.A. et al. Immunodiagnosis of *Trypanosoma cruzi* (Chagas' Disease) infection in naturally infected dogs. Mem. Int.. Oswaldo Cruz, v.93, p.501-507, 1998.
- LUCIANO, R.M.; LUCHEIS S.B.; ZAMPOLI, M.; TRONCARELLI, M.Z.; LUCIANO, D.M.; LANGONI, H.; Avaliação da reatividade cruzada entre antígenos de *Leishmaniaspp* e *Trypanosoma cruzi* na resposta sorológica de cães pela técnica de imunofluorescência indireta (RIFI) Braz. J. vet. Res. anim. Sci., São Paulo, v. 46. p. 181-187, 2009
- MARTINEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; ECKERSALL, P.D.; CERON, J.J. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. Veterinary Record, v.150, p.241–244, 2002.
- MENDES, P.C; LIMA, S. D; Chagas Disease and the space distribution of captured triatomines in uberlândia, minas gerais – brazil. Hygeia v.:176, p. 204, 2008.
- MENDES, R.S SANTANA, V.L JANSEN, A.M. XAVIER, S.C.C., IVANA F. VIDAL, TEREZA E.F. ROTONDANO E SOUZA, A.P. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. Pesq. Vet. Bras. 33. 2013
- MENEZES, A.M.S, BALBINO, V.Q, LOROSA, E.S, FARIAS, M.C.G, FREITAS, M.T.S, SILVA, A, PORTELA, V.M.C, JURBER, J. Importância da distribuição geográfica dos vetores da doença de chagas em pernambuco, brasil, em 2012. Rev Patol Trop Vol. 44 (2): 195-206. abr.-jun. 2015.
- MUNHOZ,T.D.;FARIA, J.L.M.; VARGAS-HÉRNANDEZ. G. et al.,Experimental *Ehrlichia canis* infection changes acute-phase proteins. Rev. Bras. Parasitol. Vet.,Jaboticabal, v. 21, p. 206-212, 2012.
- SANTANA, V.L, SOUZA, A.P, LIMA, A.S.D.D, ARAÚJO,A.L., JUSTINIANO,S.V., DANTAS,R.P, GUEDES, P.M.M E MELO, M.A. Caracterização clínica e laboratorial de cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi* no semiárido nordestino. Pesq. Vet. Bras. 32. 2012.
- SILVA, B.S.R MENDES, R.S., SANTANA, V.L., SOUZA, H.C, RAMOS, C.PS.,SOUZA, A.P., ANDRANDEP.P.A., MELO, M.A. Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral caninana zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico. Pesq. Vet. Bras. 36. 2016
- SIMPSON AGB, STEVENS JR, LUKES J. The evolution and diversity of kinetoplastid flagellates. Trends Parasitol. 2006; 22(4):168-74.
- SOUZA, A.I; OLIVEIRA. T.M.F.S;MACHADO, R.Z.;CAMACHO, A.A. Soroprevalência da infecção por *Trypanosoma cruzi* em cães de uma área rural do Estado de Mato Grosso do Sul. Pesq. Vet. Bras. 29(2):150-152, fevereiro 2009

STEVENS JR, NOYES HA, SCHOFIELD CJ, GIBSON W. The molecular evolution of Trypanosomatidae. *Adv Parasit.* 2001; 48:1-56.

TRONCARELLI , M.Z. et. al. Associação entre os resultados sorológicos no diagnóstico da leishmaniose e da tripanossomíase canina, pela técnica de imunofluorescência indireta, *Vet. Zootec.* V.15, n.1, abr., p. 39-46, 2008.

VASCONCELOS, A.S.O.B, Chaves, E. FREITAS, ANDRADE, M.C., LIMA, M.M PEREIRA,L.S., GOMES, K.C.M.S.,COELHO, H.L.L., OLIVEIRA, M.F Chagas Disease: vector status in the city of Limoeiro do Norte – CE, during the period from 2006 to 2009 *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2013;

VICKERMAN, K. The diversity of the kinetoplastid flagellates. In: Lumdsen, WHR, Evans DA. Editors. *Biology of the kinetoplastida.* New York: Academic; Press 1976. p. 1-34.

CAPÍTULO I

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *Trypanosoma cruzi* E SUAS RELAÇÕES COM AS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Manuscrito submetido à Revista “ARQUIVO
BRASILEIRO DE MEDICINA VETERINÁRIA E
ZOOTECNIA” – ISSN 1678-4162, Qualis A2.

**PROTEÍNAS DE FASE AGUDA EM CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR
Trypanosoma cruzi E SUAS RELAÇÕES COM AS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E
BIOQUÍMICAS**

A. Tanikawa¹, V. L. Santana¹, O. M. M. Borges¹, F.C. Santos², V.M. Gonçalves³, A.L. Araújo⁴, A. F.M.Vaz⁵ e A. P. Souza⁵

¹Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos. Av. Universitária s/n, Santa Cecília, Cx. P. 61, CEP:58708-110, Patos, PB.

²Graduação na Universidade Federal de Campina Grande (UFCG), Campus de Patos

³Residência Multiprofissional, Hopsital Veterinário, UFCG, Campus de Patos

⁴Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, IFPB, Campus de Sousa.

⁵Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, UFCG, Campus de Patos.

RESUMO

Objetivou-se com este estudo identificar as concentrações plasmáticas de haptoglobina, proteína c reativa e ceruloplasmina em cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi*, como também determinar as possíveis correlações dessas com variáveis hematológicas e bioquímicas séricas. Foram avaliados 10 cães assintomáticos, sem predileção racial, com idade de 4,2 + 1,4 anos positivos para *T.cruzi* oriundos da zona rural de Patos-PB que compuseram o grupo *T.cruzi* (GTC). Todos os cães considerados positivos foram diagnosticados mediante análises sorológicas da RIFI, ELISA, microscopia direta e hemocultura. Para descartar distúrbios cardiovasculares todos os cães foram submetidos à avaliação eletrocardiográfica, radiográfica de tórax. Para o grupo controle (GC) foram aleatoriamente selecionados 4 cães saudáveis de diferentes raças, com idade de 1,6 + 0,5 anos. Em ambos os grupos realizou-se hemograma, dosagens séricas de proteína total, albumina, globulina, proteína c reativa, haptoglobina e ceruloplasmina. Anemia, trombocitopenia, foram as variáveis significativas ($p < 0,05$) no hemograma. Na avaliação bioquímica, registrou-se hiperproteinemia, hiperglobunemia e inversão da relação albumina/globulina ($p < 0,05$). Concentrações sérias de haptoglobina ($p = 0,04$) e proteína c reativa ($p = 0,001$) foram significativamente maiores nos cães com *Trypanosoma cruzi* em relação ao grupo controle, ocorrendo correlação entre a haptoglobina e anemia ($r = -0,6641$). Concluiu-se que cães com doença de Chagas expressam valores elevados de proteínas inflamatórias auxiliando no prognóstico e diagnóstico de cães naturalmente infectados sem sinais clínicos patognômicos, em especial para os casos dos caninos anêmicos.

PALAVRAS-CHAVE. Chagas, cães, haptoglobina, bioquímica, anemia.

ABSTRACT

The objective of this study was to identify the plasma concentrations of haptoglobin, c-reactive protein and ceruloplasmin in dogs naturally infected with *Trypanosoma cruzi*, as well as to determine their possible correlations with hematological and serum biochemical variables. Ten asymptomatic dogs, with no racial predilection, aged 4.2 ± 1.4 years positive for *T.cruzi* from the rural area of Patos-PB, who composed the T.cruzi group (GTC), were evaluated. All the dogs considered positive were diagnosed by means of serological tests of IFAT, ELISA, direct microscopy and blood culture. In order to rule out cardiovascular disorders all dogs were submitted to electrocardiographic, radiographic evaluation of the thorax. For the control group (CG), 4 healthy dogs of different races, aged 1.6 ± 0.5 years, were randomly selected. Hemogram, serum levels of total protein, albumin, globulin, c-reactive protein, haptoglobin and ceruloplasmin were performed in both groups. Anemia, thrombocytopenia, were the significant variables ($p < 0.05$) in the hemogram. In the biochemical evaluation, hyperproteinemia, hyperglobunemia and inversion of the albumin / globulin ratio ($p < 0.05$) were recorded. Serum concentrations of haptoglobin ($p = 0.04$) and c-reactive protein ($p = 0.001$) were significantly higher in dogs with *Trypanosoma cruzi* than in the control group, with a correlation between haptoglobin and anemia ($r = -0.6641$). It was concluded that dogs with Chagas disease express high levels of inflammatory proteins, aiding in the prognosis and diagnosis of naturally infected dogs without pathognomonic clinical signs, especially for anemic canine cases.

KEYWORDS. Chagas, dogs, haptoglobin, biochemistry, anemia.

INTRODUÇÃO

Trypanosoma cruzi é um protozoário flagelado reconhecido como agente causador da Tripanossomíase americana ou Doença de Chagas, enfermidade amplamente distribuída em muitas regiões da América Latina, transmitida aos humanos principalmente por insetos triatomíneos hematófagos e pormenores através da via placentária, transplantes de órgãos, transmissão transfusional acidental e pela via oral (Santana et al., 2012; Mendes et al., 2013).

É descrita uma ampla diversidade de hospedeiros vertebrados silvestres e domésticos figurando como importantes reservatórios e partícipes na transmissão da doença. (Cohen e Gürtier,

2001). Estudos epidemiológicos em diversos países têm considerado o cão como importante fator de risco para a população humana, uma vez que participa do ciclo de transmissão doméstica do *T. cruzi* (Montenegro et al., 2002; Shadomy et al., 2004).

Os cães são a única espécie capaz de desenvolver as formas clínicas semelhantes às observadas na população humana exercendo a forma aguda, crônica indeterminada, subaguda e crônica determinada, podendo manifestar alterações clínicas associadas com frequência a lesões cardíacas, digestivas e nervosa (Brenner et al., 2000, Camacho et al. 2003). Contudo deve-se salientar que tais manifestações clínicas são dependentes do período de exposição ao agente e podem variar de acordo com estágio clínico da doença. A fase aguda da doença é facilmente observada em cães jovens, entre cinco dias e seis meses de idade. Normalmente os animais afetados desenvolvem infecção generalizada, com lesões extensas, de forma predominante no miocárdio podendo ocorrer morte súbita decorrente da arritmia grave. A doença crônica ocorre oito a 36 meses após a infecção e o paciente pode manter-se assintomático ou com sinais clínicos relacionados aos distúrbios de ritmo cardíaco (Lappin, 1997)

Em humanos verifica-se que os fenômenos imunológicos tem envolvimento na gênese da lesão inflamatória da fase crônica da doença de Chagas. Em cada fase da infecção existe uma reação imunológica com um grande número de macrófagos, linfócitos e citocinas inflamatórias que tendem a reduzir a carga parasitária, auxiliando na defesa do organismo, mas podem também, estar envolvidos no desenvolvimento da doença crônica. As citocinas, produzidas por linfócitos e macrófagos, são importantes moduladores da resposta imunológica, e dentre as células efetoras do processo inflamatório, os macrófagos têm papel importante no controle da parasitemia (Brenner e Gazzinelli, 1997). Ademais, as citocinas além da modulação da resposta imunológica, tem importante papel como mediador de síntese de proteínas de fase aguda inflamatória (PFAs) onde tais proteínas como, a haptoglobina (HP), ceruloplasmina (Cr) proteína c reativa (PCR) fornecem informações importantes sobre o diagnóstico, prognóstico e monitoramento em diversos processos patológicos e infecciosos, contribuindo como marcadores biológicos para diferentes agentes infecciosos (Martinez-Subiella et al., 2002 Ceron et al., 2005; Munhoz et al., 2012; Anziliero et al., 2013). Apesar das PFAs contribuírem no monitoramento de doenças infecciosas, até o momento não existem dados que demonstrem a participação da PFAs em cães com *T. cruzi* embora estudos recentes demonstrem a participação da haptoglobina e proteína c reativa como marcadores preditivos para o aumento da morbidade em indivíduos chagásicos humanos em diferentes fases da infecção (Jorge et al., 2010; Fernandez e Fernandez-Mestre, 2014). Nesse contexto este estudo teve como objetivo identificar as concentrações plasmáticas de haptoglobina (Hp), proteína c reativa (PCR) e ceruloplasmina (Cr) em cães naturalmente infectados com *Trypanosoma cruzi*, como

também definir as possíveis correlações dessas com variáveis hematológicas e bioquímicas séricas determinando o seu valor de diagnóstico e prognóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados 10 cães positivos para *Trypanosoma cruzi* sem sintomatologia clínica da doença, oriundos da zona rural do sertão paraibano denominados Grupo *T.cruzi* (GTC). Os cães foram diagnosticados mediante análises sorológicas da reação de imunofluorescência indireta (RIFI – Biomanguinhos) (reagente >1:20) e enzyme linked immunosorbent assay (ELISA S7) (diluição 1:160, cut off= 0,284); PCR (polymerase chain reaction), microscopia direta e hemocultura. Para evitar reações cruzadas ou co-infecções com *Leishmania chagasi* testes sorológicos com a RIFI e ELISA S7 foram realizados. Para caracterizar cães assintomáticos avaliações eletrocardiográficas e radiográficas do tórax, foram realizadas visando identificar anormalidades anatômicas e eletrofisiológicas de origem cardiovascular. Para o grupo controle (GC) foram aleatoriamente selecionados 4 cães saudáveis de diferentes raças, com idade de 1,6 + 0,5 anos soronegativos para *Leishmania chagasi*. Amostras de sangue venoso foram colhidas e armazenados em tubos com e sem EDTA e remetidas ao Laboratório de Patologia Clínica do HV/UFCG para realização de hemograma e a determinação dos parâmetros bioquímicos da atividade enzimática da ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), alanino aminotransferase (ALT), fosfatas alcalina (FA) proteínas totais (PT), albumina e globulina utilizando-se o método cinético colorimétrico. As leituras foram conduzidas em analisador automático COBAS C1110. As demais amostras de soro foram condicionadas à - 20 °C para posterior análise da ceruloplasmina, proteína C reativa e haptoglobina de acordo com as recomendações do fabricante.¹ Os dados numéricos obtidos foram submetidos ao Teste t de Student ou ao teste não paramétrico U de Mann-Whitney, através do programa GraphPad Prism 6, considerando-se um nível de significância de 5% (p < 0,05%). Análise de correlação entre pares de variáveis foram realizados através do coeficiente de Pearson ou de Spearman de acordo com a normalidade (médias e medianas) dos dados obtidos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A quantificação das concentrações plasmáticas das proteínas de fase aguda fornecem informações relevantes sobre o diagnóstico, prognóstico e monitoramento do tratamento de diversas patologias uma vez que podem ser utilizadas como marcadores biológicos precoces para determinação de diferentes agentes infecciosos (Ceron et al., 2005; Panicker et al., 2014). Este

¹ APTEC Diagnostic nv.

estudo revelou as primeiras concentrações plasmáticas de haptoglobina, ceruloplasmina e proteína C reativa em cães naturalmente infectados exclusivamente por *Trypanosoma cruzi* (Tab.1).

Tabela 1. Concentrações plasmáticas de haptoglobina, ceruloplasmina e proteína c reativa em cães naturalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi*.

Animais	Haptoglobina	Proteína C reativa	Ceruloplasmina
1	102,5247525	0,08	6,755952381
2	52,85478548	0,05	3,482142857
3	89,98349835	0,05	17,61904762
4	100,709571	0,05	8,244047619
5	53,34983498	0,07	97,38095238
6	63,91089109	0,09	6,30952381
7	72,16171617	0,07	11,81547619
8	48,72937294	0,05	2,291666667
9	60,44554455	0,06	6,160714286
10	92,62376238	0,07	2,738095238
Média	73.72937	0.06	16.27976
Desvio Padrão	19.82346	0.013	27.38435

De acordo com as médias e medianas obtidas, as concentrações plasmáticas de haptoglobina e proteína c reativa dos animais infectados pelo *T.cruzi* foram maiores, respectivamente em relação ao grupo controle (Tab.2). Apesar de não existirem relatos sobre a quantificação das tais PFAs em cães chagásicos, diferentes estudos descrevem aumento plasmático nos processos patológicos envolvendo os demais tripanosomatídeos filogeneticamente similares sugerindo que as

haptoglobina e proteína C reativa podem auxiliar como marcadores biológicos de diagnóstico para cães chagásicos em situações de caráter crônico sem apresentação de manifestações clínicas patognômicas (Ceron et., 2005; Eckersall e Bell 2010),

Tabela 2. Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, ceruloplasmina e proteína c reativa dos cães com *Trypanosoma cruzi* e do grupo controle.

PROTEÍNAS DE FASE AGUDA	GRUPO CONTROLE MÉDIA	GRUPO <i>Trypanosoma cruzi</i> MÉDIA	Valor de p
Haptoglobina (mg/dl)	45.88284	73,72937	0,04*
PROTEÍNAS DE FASE AGUDA	GRUPO CONTROLE MEDIANA	GRUPO <i>Trypanosoma cruzi</i> MEDIANA	Valor de p
Proteína C reativa (mg/dl)	0,0035	0,065	0,001**
Ceruloplasmina (mg/dl))	7.4256	6.53274	0,38**

* Teste T de Student ($p < 0,05$). **Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

A haptoglobina apresentou significância estatística pelo t de student ($p=0,04$) para cães naturalmente infectados pelo *T. cruzi*. De acordo com Jones e Gruffydd-jones (1991), a concentração sérica de haptoglobina eleva na maioria dos casos envolvendo doenças hemolíticas, possivelmente em consequência da resposta inflamatória aguda desenvolvida pela ativação de macrófagos. Todavia vem se observando em estudos recentes na medicina humana a participação de genótipos de HP como marcador de prognóstico para indivíduos chagásicos em estágio de cronicidade, sendo este fator decorrente do polimorfismo da haptoglobina plasmática, envolvendo o genótipo HP1-1 na qual confere proteção contra a infecção causada pelo *T. cruzi* como também participa do desenvolvimento da doença de chagas crônica. Diferentemente do genótipo Hp2 que além de induzir ao desenvolvimento de doença cardíaca em indivíduos mais jovens pode predispor a estes maiores chances de desenvolvimento da forma cardíaca grave, sendo um fator relevante no estudo uma vez que todos os animais amostrados eram considerados adultos e não apresentavam sinais de cardiopatia, sugerindo a possibilidade dos cães estarem expressando o genótipo HP1-1 (Jorge et al., 2010; Fernandez e Fernandez- Mestre, 2014) .

Em consonância se obteve associação estatística pelo teste Mann-Whitney da proteína C reativa com os cães enfermos ($p=0,001$). Concentrações plasmáticas da PCR são verificadas em indivíduos com distúrbios cardíacos, sendo este um fator preditivo ao desenvolvimento de lesões endoteliais muitas vezes antes do desenvolvimento da doença cardiovascular sendo esta expressada em altas concentrações em pacientes chagásicos. Além disso, a mesma tem um papel importante na imunidade inata agindo como o primeiro sistema de defesa contra infecções seja por ação opsonizante direta, ou indiretamente por meio da ativação do sistema complemento pela via clássica o que indiretamente elevou os seus níveis frente à ação de um agente infeccioso (Steel e Whitehead, 1994; Pepys e Hirschfeld, 2003). Nesse contexto apesar da quantificação da PCR encontrada no estudo ter sido relevante é possível que seus valores reais ainda estejam subestimados uma vez que a especificidade da proteína C reativa humana para cães é de 60,3% expondo dúvidas sobre a participação desta proteína como mediador a resposta inflamatória na espécie canina (Jasensky et al., 2014).

A ceruloplasmina, foi à proteína de fase aguda que teve uma menor representividade, não observando diferenças entre as medianas do grupo controle o do *Trypanosoma cruzi* ($p=0,38$). Elevações nos níveis séricos podem ocorrer nos casos de hepatopatias agudas ou síndrome nefrótica, fato este não observado no estudo, haja vista que os níveis médios de ALT, AST, FA, uréia e creatinina encontravam-se nos padrões normais para a espécie. É provável também que o caráter crônico da amostragem estudada tenha sido importante pela baixa expressão, pois nestas situações os valores de ceruloplasmina tendem a um padrão de normalidade haja vista que a sua reatividade maior ocorre após a instalação de um processo inflamatório agudo sendo encontrada em níveis elevados por até nove dias (Conner et al. 1988; Kogica et al., 2003).

Segundo Stockham e Scott (2011), associações entre anemia normocítica normocrômica, linfocitose, monocitose, hiperproteinemia, hiperglobinemia e elevações nas proteínas de fase aguda positiva indicam uma anemia de doença inflamatória. Neste estudo, os achados de anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, hiperproteinemia, hiperglobinemia e aumentos nos valores das proteínas de fase aguda foram as principais variáveis significativas para o grupo dos cães infectados pelo *T.cruzi* comparando ao grupo controle indicando uma resposta inflamatória frente ao parasita (Tab.3 e Tab.4). Este fato ficou evidenciado no estudo, através da forte na associação da correlação estatística inversamente proporcional entre as concentrações nos níveis eritrocitários circulantes com haptoglobina ($r= -0,6641$), permitindo inferir que quanto menor número de eritrócitos, maior será a reatividade das haptoglobinas, por ação de um processo inflamatório crônico persistente.

Tabela 3. Valores das médias e medianas das variáveis hematológicas dos cães com *Trypanosoma cruzi* e do grupo controle.

Variáveis Hematológicas	Grupo controle Média	Grupo controle Mediana	Grupo <i>Trypanosoma cruzi</i> Média	Grupo <i>Trypanosoma cruzi</i> Mediana	Valor de p
Eritrócitos (ul)	6.852.500	-	4.563.000	-	0,00*
Hb (g/dl)	15,57	-	11,36	-	0,00*
Ht (%)	44,2	-	34,0	-	0,01*
VGM (fl)	64,73	-	68,05	-	0,02*
CHCM (%)	-	35,2	-	35,7	0,07**
PLAQ (mm ³)	230.000	-	187.440	-	0,29*

VGM. Volume corpuscular médio. CHCM. Hemoglobina corpuscular média. CHCM. Concentração de hemoglobina corpuscular média. * Teste T de Student ($p < 0,05$). ** Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$)

Tabela 4. Valores das médias das variáveis bioquímicas relacionadas a proteína total, albumina, globulina e relação albumina e globulina dos cães com *Trypanosoma cruzi* e do grupo controle.

Variáveis Bioquímicas	Grupo controle Média (Desvio Padrão)	Grupo <i>Trypanosoma cruzi</i> Média (Desvio Padrão)	Valor de p
Proteína Total (g/dl)	5,6± 1,0	7,2±0,8	0,00*
Albumina (g/dl)	2,2±0,2	2,1±0,38	0,36*
Globulina (g/dl)	3,4±1,0	5,0±1,0	0,01*
Relação Albumina/Globulina (g/dl)	0,7±0,2	0,4±0,2	0,02*

* Teste t de Student ($p < 0,05$)

Importante registrar que a trombocitopenia, hiperproteinemia, hipergamaglobulinemia e inversão da relação albumina/globulina, apresentaram valores significativos em relação ao grupo controle, todavia sem expressividade no coeficiente de correlação com nenhuma das PFAs ($p=0$). Redução plaquetária também foi observada por Lana et al. (1989) e por Cardoso e Brener (1980),

sugerindo que a redução de plaquetas na corrente sanguínea ocorre por uma deficiência plaquetária primária com a participação de imuno-complexos ou sistema complemento, do tipo de cepa, bem como da parasitemia por *T. cruzi*. Por sua vez, o aumento de proteína total pode ser decorrente de um reflexo da resposta humoral causada pela infecção causada pelo *Trypanosoma cruzi* confirmado pelo aumento da globulina e pela diminuição da relação da albumina /globulina. Assim como nos humanos, nos cães após o desenvolvimento da fase aguda os níveis de imunoglobulina da classe M diminuem e sobem os níveis de IgG, até o momento de estabilização onde os seus níveis tendem a se manterem equilibrados, auxiliando na identificação da fase crônica, tornando úteis para o diagnóstico, especialmente nos casos de ausência de sintomatologia clínica para a doença de chagas (Lana et al.,1997, Brener et al., 2000, Guedes et al., 2002).

CONCLUSÃO

Diante dos dados obtidos, conclui-se que as haptoglobina e proteína c reativa, são importantes marcadores biológicos podendo ser expressos em cães naturalmente infectados pelo *Trypanosoma cruzi* sem sintomatologia clínica patognômica, especialmente para os casos dos animais anêmicos onde níveis elevados de haptoglobina são mais significativos. Desta maneira auxiliando no prognóstico e diagnóstico da Doença de Chagas canina.

REFERÊNCIAS

- ANZILIERO, D.;BASSI, E.;PAIN, K.M. et al. Determinação dos níveis séricos de proteína creativa (crp) em cães com alterações dos parâmetros hematológicos. Ci. Anim. Bras., Goiânia, v.14, p. 265-272, 2013.
- BRENER, Z.; GAZZINELLI ,R .T. Immunological control of Trypanosoma cruzi infection and pathogenesis of Chagas disease. Int Arch Allergy Immunol, p. 103-110, 1997
- BRENER, Z.;ANDRADE, Z.A.; BARRAL-NETO M. Trypanosoma cruzi e doença de Chagas. 2ª ed. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2000. p. 430.
- CAMACHO, A.A.; MUCHA,C.J.;BELERENIAN, G.C. Afecções Cardiovasculares em Pequenos Animais. Interbook, São Paulo, 2003.p. 328.
- CARDOSO, J.E. E BRENER, Z.. Hematological changes in mice experimentally infected with Trypanosoma cruzi.Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.75, p. 97-104, 1980.
- CERON, J.J.; ECKERSALL, P.D.; MARTINEZ-SUBIELA, S.. Acute phase proteins in dogs and cats; current knowledge and future perspectives. Veterinary Clinical Pathology v34, p. 85–99, 2005.
- COHEN, J.E.; GÜRTLER, R.E. Modeling household transmission of American trypanosomiasis. Science, v.293, p.694-698, 2001.

- CONNER JG, ECKERSALL PD, FERGURSON J, et al. Acute phase response in the dog following surgical trauma. *Res Vet Sci.* v. 45, p.107–110, 1988.
- FERNÁNDEZ, N.M.; FERNÁNDEZ-MESTRE, M. The Role of Haptoglobin Genotypes in Chagas Disease. *Hindawi Publishing Corporation Disease Markers* v. 2014. p.6, 2014.
- JASENSKY, A.K.; BONDZIO, A., MURUGAIYAN J et al., Characterization of the native C-reactive protein (cCRP) and the corresponding liver mRNA in dogs. *Biochem Biophys Res Commun.* V.452, p.462-467, 2014.
- JONES, D.R.E.; GRUFFYDD-JONES, T.J. The haematological consequences of immune-mediated anaemia in the dog. *Comparative Haematology International*, v.1, p. 83-90, 1991.
- JORGE, S.E; ABREU, C.F; GUARIENTO, M.E; SONATI, M.DE F. Haptoglobin genotypes in Chagas' disease. *Clin Biochem.* v.43, p.314–6, 2010.
- KOGIKA MM, PEREIRA DA, ELIAS F, NOTOMI MK, DELAYTE EH, KAWAHARA R et al. Determinação sérica de haptoglobina, ceruloplasmina e α -glicoproteína ácida em cães com gastrenterite hemorrágica. *Cienc Rural.*, vol.33, p-513-517, 2003.
- LANA, M.; TAFURI, W.L.; TOLEDO, M.J.O.; VELOSO, V.M.. Alterações hematológicas em cães infectados com as cepas Be-62 e Be-78 de *Trypanosoma cruzi*. *Revta Soc. Bras. Med. Trop.* V. 22, p. 168, 1989.
- LAPPIN, M.R.. Infecções protozoárias e mistas, p.431-440. In: Ettinger S.J. & Feldman E.C. (Eds), *Tratado de Medicina Veterinária Interna: doenças do cão e do gato.* São Paulo, 1997, Vol.1. 4ª ed. Manole, p.1039.
- MARTINEZ-SUBIELA, S.; TECLES, F.; ECKERSALL, P.D.; CERON, J.J. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record*, v.150, p.241–244, 2002.
- MONTENEGRO, V.M., JIMÉNEZ, M., PINTO DIAS, J.C., ZELEDÓN, R. Chagas disease in dogs from endemic areas of Costa Rica. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, v.97, p.491-494, 2002.
- MUNHOZ, T.D.; FARIA, J.L.M.; VARGAS-HÉRNANDEZ, G. et al., Experimental *Ehrlichia canis* infection changes acute-phase proteins. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, Jaboticabal, v. 21, p. 206-212, 2012.
- PANICKER, V.P.; GOPALAKRISHNAN, A.; SISILAMMA, G. Acute phase proteins of veterinary importance – review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* v.3, p-188-195, 2014.
- PEPYS MB, HISCHFIELD GM. C- reactive protein: a critical update. *J Clin invest.*; 111: 1805 – 12, 2003.
- SANTANA, V.L.; SOUZA, A.P.; LIMA, D.A.S.D.; ARAÚJO, A.L.; JUSTINIANO, S.V.; DANTAS, R.P.; GUEDES, P.M.M.; MELO, M.A.: Clinical and laboratorial characterization of

naturally infected *Trypanosoma cruzi* dogs in the northeastern semi-arid. *Pesq Vet Bras* . v 32, p. 536–541, 2012.

SHADOMY, S.V.; WARING, S.C.; CHAPPELL, C.L. Combined use of enzyme-linked immunosorbent assay and flow cytometry to detect antibodies to *Trypanosoma cruzi* in domestic canine in Texas. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology*, v.11, p.313-319, 2004.

STEEL, D.M.; WHITEHEAD, A.S. The major acute phase reactants: C-reactive protein, sérum amiloyd P componente and sérum amyloid A protein. *Immunol. Today*,v.15,.81-88, 1994.

STOCKHAM, S.L, SCOTT. M.A. *Fundamentos de patologia clínica veterinária*. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.

CAPÍTULO II

PROTEÍNA C REATIVA E HAPTOGLOBINA DE CÃES COM LEISHMANIA SPP, E SUAS CORRELAÇÕES COM AS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Manuscrito será submetido à Revista
“PESQUISA VETERINÁRIA BRASILEIRA.
ISSN 1678-5150” –, Qualis A2.

PROTEÍNA C REATIVA E HAPTOGLOBINA DE CÃES COM LEISHMANIA SPP, E SUAS CORRELAÇÕES COM AS VARIÁVEIS HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS

Atticus Tanikawa², Vanessa Lira de Santana², Olivia Maria Moreira Borges², Raizza de Souza Barros Silva², Antônio Fernando de Melo Vaz², Almir Pereira de Souza^{2*}

ABSTRACT Tanikawa A., Santana V.L., Borges O.M. M., Silva R.B.S., Vaz A. M. F., & Souza A. P. 2017.

(C reactive protein and Haptoglobin from dogs *Leishmania* spp, and its correlations with hematological and biochemical). Proteína C reativa e Haptoglobina de cães com *Leishmania* spp, e suas correlações com as variáveis hematológicas e bioquímicas. Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande, Campus de Patos, Av. Universitária s/n, Bairro Santa Cecília, Patos, PB 58708-110, Brazil. E-mail: almir@cstr.ufcg.edu.br

This study aimed to identify plasma concentrations of haptoglobin, protein c in dogs naturally infected with *Leishmania* spp, as well as to determine the possible correlations of these with hematological and serum biochemical variables. We selected 35 dogs of different races and ages from the municipality of Patos, which were selected in four different groups. The Control Group (CG) was composed of 5 healthy animals, the *Leishmania* General Group (GLG) composed of 35 dogs with leishmaniasis, which was subdivided into the *Leishmania* symptomatic Group (GLS) consisting of 29 symptomatic dogs positive for *Leishmania* spp and in the *Leishmania* Asymptomatic Group (GLA) consisting of 6 dogs diagnosed with *Leishmania* spp without clinical signs of the disease. For the determination of the diagnosis the dogs were submitted to serological tests through the Dual Path Plataform Immunochromatographic Test (DPP) and parasitological analyzes by aspiration cytology of lymph nodes. Reagents for both tests were considered as positive animals. There was a significant difference between group means only for haptoglobin between GLG ($p \leq 0.0001$) and GC. When GLA and GLS groups were analyzed separately from GLG, there was statistical association between Hpt for GLA ($p = 0.0089$) and GLS ($p = 0.0238$), whereas for GLA only ($p = 0.0047$). Normocytic normochromic anemia, thrombocytopenia, were the significant variables ($p < 0.05$) in the hemogram for the GLG group. In the biochemical evaluation, hyperproteinemia, hyperglobunemia and inversion of the albumin / globulin ratio ($p < 0.05$) were recorded. In the correlation analysis there was statistical significance between haptoglobin and anemia ($r = -0.2832$). It was concluded that dogs with *Leishmania* spp expression significant values of haptoglobin and C protein reactive mainly in anemic dogs aiding in the diagnosis and prognosis of the disease for symptomatic and asymptomatic animals.

INDEX TERMS: haptoglobin, c-reactive protein, dogs, *Leishmania* spp,

RESUMO: Este estudo teve como objetivos identificar as concentrações plasmáticas de haptoglobina, proteína c em cães naturalmente infectados com *Leishmania* spp, como também determinar as possíveis correlações dessas com variáveis hematológicas e bioquímicas séricas. Foram selecionados 35 cães de diferentes raças e idades do município de Patos, que foram selecionados em três grupos distintos. O Grupo Controle (GC) composto por 5 animais hígidos, o Grupo Leishmania Geral (GLG) composto por 35 cães com leishmaniose cujo foi subdividido no Grupo Leishmania sintomático (GLS) constituído de 29 de cães sintomáticos positivos para *Leishmania* spp e no Grupo Leishmania Assintomático (GLA) constituído de 6 cães diagnosticados com *Leishmania* spp sem apresentar sinais clínicos da doença. Para a determinação do diagnóstico os cães foram submetidos à testes sorológicos através do Teste Imunocromatográfico DPP (*Dual Path Plataform*) e análises parasitológicas por citologia aspirativa de linfonodos. Foram considerados como animais positivos aqueles reagentes para ambos os testes. Houve diferença significativa entre as médias dos grupos apenas para haptoglobina entre o GLG ($p \leq 0,0001$) e o GC. quando analisados os grupos GLA e GLS separadamente do GLG houve associação estatística entre a Hpt para os GLA ($p=0,0089$) e GLS ($p=0,0238$), enquanto que a PCR exclusivamente para o GLA ($p=0,0047$). Anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, foram as variáveis significativas ($p < 0,05$) no hemograma para o grupo GLG. Na avaliação bioquímica, registrou-se hiperproteinemia, hiperglobunemia e inversão da relação albumina/globulina ($p < 0,05$). Na análise de correlação houve significância estatística entre a haptoglobina e anemia ($r = -0,2832$). Conclui-se que cães com *Leishmania* spp expressão valores significativos de haptoglobina e proteína C reativa principalmente em cães anêmicos auxiliando no diagnóstico e prognóstico da doença para animais sintomáticos e assintomáticos.

TERMOS DE INDEXAÇÃO: haptoglobina, proteína c reativa, cães, *Leishmania* spp,

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral Canina (LVC) é uma zoonose, causada por um protozoário do gênero *Leishmania*, que acomete cães e humanos. No Brasil, a LVC apresenta características endêmicas em diferentes regiões inclusive no estado da Paraíba sendo transmitida por insetos hematófagos da espécie *Lutzomyia longipalpis*. Cães expostos aos mosquitos infectados podem permanecer sintomáticos como assintomáticos. Ambos os cães são portadores do parasita e são fontes de infecção para a doença podendo ser transmitida aos seres humanos através dos flebotomíneos durante o repasto sanguíneo (Martinez-Subiela et al, 2011; Silva et al, 2016)).

Classicamente a LVC apresenta pêlo opaco, descamação, eczema e úlceras, no nariz e na orelha, cauda e articulações. Nas fases mais adiantadas da doença, observa-se, com grande frequência,

onicogribose, esplenomegalia, linfadenopatia, ceratoconjuntivite, coriza, apatia, diarreia, hemorragia intestinal, edema de membros, vômito, além da hiperqueratose. Na fase final da infecção, ocorre em geral a paresia dos membros pélvicos, caquexia, inanição e morte. (Brasil, 2014).

A determinação do diagnóstico clínico da LVC é difícil pois além a variedade de sinais clínicos semelhantes às observadas em outras doenças infecciosas os animais podem permanecer assintomáticos por toda a vida ou desenvolver sintomas após períodos que variam de três meses a alguns anos. Ademais as alterações laboratoriais encontradas no hemograma, ou nos exames de função renal ou hepática são inconsistentes e inespecíficas (Ikeda-garcia e Marcondes, 2007; Aguiar 2007). Entretanto estudos realizados por Ciaramella et al, 2005, Reis et al 2006 afirmam que cães LVC podem manifestar anemia normocítica normocrômica e não regenerativa e trombocitopenia sendo estes fatores de morbidade para a doença.

Atualmente tem se utilizado uma grande variedade de métodos diagnósticos disponíveis para a confirmação do diagnóstico da LVC dentre eles os métodos parasitológicos, moleculares, sorológicos, inoculação experimental e o xenodiagnóstico (Ikeda-Garcia e Marcondes, 2007). No Brasil, o Ministério da Saúde preconiza os testes parasitológicos e testes sorológicos para o diagnóstico laboratorial da doença canina. O diagnóstico parasitológico é considerado como um exame importante uma vez que é possível observar as formas amastigotas da *Leishmania* em esfregaços de linfonodos, medula óssea, baço, fígado e esfregaços sanguíneos. A citologia aspirativa é um método parasitológico de fácil execução amplamente utilizado no diagnóstico, especialmente em clínicas veterinárias. Em casos positivos, é possível observar as formas amastigotas, porém, em muitos casos, especialmente, em animais assintomáticos, nos quais poucas formas amastigotas estão presentes, podem ocorrer resultados falsos negativos. Por sua vez, o diagnóstico sorológico se baseia na detecção de anticorpos anti-*Leishmania* circulantes utilizando técnicas sorodiagnósticas. Os animais doentes desenvolvem resposta imune humoral e produzem altos títulos de IgG anti-*Leishmania* (Ikeda-garcia e Marcondes, 2007). A soroconversão ocorre aproximadamente três meses após a infecção e os títulos permanecem elevados por, pelo menos, dois anos. Dentre técnicas sorológicas recomendadas pelo Ministério da Saúde, o Teste Imunocromatográfico DPP (*Dual Path Plataform*) e o Ensaio imunoenzimático – (Kit EIE Leishmaniose Visceral Canina–Bio-Manguinhos) são utilizados, entretanto, tais testes apresentam sensibilidade e especificidade bastante variáveis o que pode produzir falhas nesses resultados ocasionando a eliminação de animais não infectados, e, por outro lado, não detectar casos positivos, favorecendo a disseminação da doença.

Estudos na Medicina Veterinária demonstram que a quantificação de Proteínas de Fase Aguda (PFAs) fornece valiosas informações clínicas sobre o diagnóstico, prognóstico, tratamento

de processos patológicos sendo utilizados como marcadores biológicos, haja vista que no início de doenças inflamatórias e infecciosas, as PFAs se elevam no soro, e se mantêm altas no decorrer da doença, tal achado pode expressar inclusive para LVC em animais com e sem sintomatologia revelando a alta sensibilidade para detecções de infecções em cães portadores de *Leishmania spp* ao mesmo tempo servindo como marcador preditivo de resposta ao tratamento clínico (Martínez-Subiela et al., 2002; Martínez-Subiela et al., 2011). Contudo tais estudos tiveram limitações uma vez que os animais utilizados nos delineamentos experimentais foram diagnosticados exclusivamente a partir de análises sorológicas ou foram diagnosticados após infecção experimental limitando a avaliação da eficácia das PFAs em cães com LVC naturalmente infectados. Desta maneira, estudo proposto teve como objetivo identificar as concentrações plasmáticas de haptoglobina, proteína C reativa em cães naturalmente infectados por *Leishmania spp*, diagnosticados mediante a associação de técnicas sorológicas e parasitológicas ao mesmo tempo determinando as possíveis correlações das PFAs com variáveis hematológicas e bioquímicas séricas definindo seu valor de diagnóstico e prognóstico.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram selecionados cães de diferentes raças e idades do município de Patos, que foram distribuídos em quatro grupos distintos. O grupo controle (GC) composto por 5 animais hígidos. O Grupo GLG composto por 35 cães com leishmaniose sem distinção de caracterização clínica cujo foi subdividido no Grupo GLS constituído de 29 de cães sintomáticos positivos para *Leishmania spp* e no Grupo GLA foi constituído de 6 cães diagnosticados com *Leishmania spp* sem sintomatologia para a doença. Para a determinação do diagnóstico os cães foram submetidos à análises sorológicas através do Teste Imunocromatográfico DPP (*Dual Path Platform*) e análises parasitológicas por citologia aspirativa de linfonodos. Foram considerados como animais positivos aqueles reagentes para ambos os testes. Todas as amostras de sangue venoso foram colhidas e acondicionadas em tubos com e sem EDTA e remetidas ao Laboratório de Patologia Clínica do HV/UFCG para realização de hemograma (eritrograma, leucograma e plaquetograma) e a determinação dos parâmetros bioquímicos da atividade enzimática da ureia, creatinina, aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA) proteínas totais (PT), albumina e globulina. As leituras foram conduzidas em analisador automático utilizando-se o método cinético colorimétrico COBAS C1110. As demais amostras de soro foram condicionadas à -20°C para posterior análise da proteína C reativa e haptoglobina de acordo com as recomendações do fabricante.² Os dados numéricos obtidos foram submetidos ao teste t de Student ou ao teste não paramétrico U de Mann-

Whitney, através do programa GraphPad Prism 6, considerando-se um nível de significância de 5% ($p < 0,05\%$). Análise de correlação entre pares de variáveis foram realizados através do coeficiente de Pearson ou de Spearman de acordo com a normalidade (médias e medianas) dos dados obtidos.

RESULTADO E DISCUSSÃO

Com os dados obtidos foi analisada a possibilidade das proteínas de fase aguda atuarem como marcadores biológicos preditivos para infecção por *Leishmania* sp. Assim observa-se diferença significativa entre as médias do grupo GLG ($p \leq 0,0001$) e haptoglobina quando comparado ao grupo controle (Quadro 1). Tal resultado é esperado uma vez que cães naturalmente infectados e experimentalmente infectados podem apresentar valores elevados em cães com leishmaniose visceral. Segundo Martinez Subiella et al, 2002, os cães enfermos expressam valores maiores de haptoglobina e PCR principalmente para os animais com sinais clínicos, indicando que o parasita induz uma resposta de fase aguda no hospedeiro em consequência da resposta inflamatória desenvolvida pela ativação de macrófagos. Todavia observa-se quando analisados os grupos GLA e GLS (Quadro 2) separadamente do GLG houve uma associação estatística entre a Hp para os GLA ($p=0,0089$) e GLS ($p=0,0238$), enquanto que a PCR exclusivamente para o GLA ($p=0,0047$) indicando que cães assintomáticos para *Leishmania* sp podem ser fatores de risco para a doença. Dadas estas circunstâncias as quantificações das proteínas de fase aguda podem ajudar a detectar cães infectados com manifestações clínicas ou assintomáticos a doença. Sendo assim, é de salientar que os valores de Hp e PCR podem ser uma ferramenta de diagnóstico importante principalmente, atuando como marcador biológico preditivo para determinação da leishmaniose visceral canina em cães sem sinais clínicos haja vista que no contexto epidemiológico tais animais são importantes reservatórios para a manutenção da doença em regiões endêmicas (Almeida et al., 2012).

Associações entre anemia normocítica normocrômica, linfocitose, monocitose, hiperproteinemia, hiperglobinemia e elevações nas proteínas de fase aguda positiva indicam uma anemia de doença inflamatória (Stockham e Scott (2011). No presente estudo os achados de anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia, hiperproteinemia, hiperglobinemia e aumentos nos valores das proteínas de fase aguda foram as principais variáveis significativas para o grupo dos cães infectados pelo *Leishmania* spp comparando ao grupo controle indicando uma resposta inflamatória frente ao parasita (Quadro 3 e 4). Tal fato pode ser evidenciado, através da associação de correlação estatística inversamente proporcional entre as concentrações nos níveis eritrocitários circulantes com haptoglobina ($r = -0,2832$), permitindo inferir que quanto menor número de eritrócitos, maior será a reatividade das haptoglobinas por uma reação inflamatória produzida frente ao parasita circulante. Para Thomsom, 1990 o caráter não-regenerativo do quadro anêmico gera um

prognóstico desfavorável pois a ausência de regeneração da anemia por LVC deve-se à presença do parasito na medula óssea, levando à infiltração de linfócitos, plasmócitos e macrófagos e assim comprometendo a produção eritrocitária (Costa-Val et al., 2007).

Importante registrar que a trombocitopenia, hiperproteinemia, hiperglobulinemia, hipoalbumemia e creatinina elevada apresentaram valores significativos em relação ao grupo controle ($p > 0,05$), todavia sem expressividade no coeficiente de correlação com nenhuma das PFAs ($p = 0$) (Quadro 3). Redução plaquetária em cães reagentes para LVC decorre de alteração da parede vascular por vasculite devido aos imunocomplexos circulantes, distúrbios de trombocitopoese, e a participação de imunoglobulinas anti-plaquetárias (apud Medeiros, 2008). Além disso é possível que o parasita cause diretamente dano aos diferentes receptores da membrana plaquetária ativando um processo imunomediado na qual a *Leishmania* pode ser capaz de interagir diretamente com as plaquetas por um mecanismo denominado "adesão imunológica" causando formação de grandes agregado (Ciaramella et al 2005).

Por sua vez, hiperproteinemia é decorrente de um reflexo da resposta humoral causada pela infecção causada pelo *Leishmania* spp confirmado pelo aumento da globulina e pela diminuição da relação da albumina /globulina. O aumento das proteínas plasmáticas é atribuída pela ativação policlonal de linfócitos B e consequente produção elevada de anticorpos (γ -globulina), podendo exceder a 10g/dL mesmo nos casos em que há hipoalbuminemia (Ikeda-Garcia et al., 2003). Fato este também justificado pelo aumento de creatinina circulante na qual a elevação pode esta associado a atividade policlonal de células B em infecções por LVC associadas a produção de anticorpos e imunocomplexos potencialmente nefrogênicos (apud Salgado-Filho 2003).

CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos conclui-se que cães infectados naturalmente por *Leishmania* spp expressam valores significativos de haptoglobina e proteína C reativa principalmente nos pacientes anêmicos e com níveis elevados de creatinina. Desta maneira as proteínas de fase aguda auxiliam no prognóstico e diagnóstico preditivo da leishmaniose visceral canina.

Agradecimentos - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos.

REFERÊNCIAS

- Aguiar P.H.P., Santos S.O., Pinheiro A. A., Bittencourt D.V.V., COSTA R.L.G., JULIÃO F.S., SANTOS W.L.C., BARROUIN-MELO S.M. 2000. Clinical profile of naturally infected dogs from an endemic area for “*Leishmania chagasi*”(infantum) in Bahia State, Brazil. *Rev. Bras. Saúde Prod. An.*,8 (4): 283-294.
- Almeida A.B.F.; Sousa, V.R.F.; Cruz, F.A.C.S.; Dahroug,M.A.A.; Figueiredo, F.B; Madeira, M.F. 2012. Canine visceral leishmaniasis: seroprevalence and risk factors in Cuiabá, Mato Grosso, Brazil. *Rev. Bras. Parasitol. Vet.*, 21 (4):359-365.
- Costa-val A.P., Cavalcanti R.R., Gontijo N.F., Michalick M.S.M., Alexander B., Williams P., melo M.N. 2007 Canine visceral *Leishmaniasis*: Relationships between clinical status, humoral immune response, haematology and *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* infectivity. *Veterinary Journal*, 174 (3): 636-643.
- Ikeda-garcia F.A.; MARCONDES, M. 2007. Métodos de diagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Clínica Veterinária*, São Paulo, 12, (71): 34-42.
- Martinez-Subiela, S., Strauss-Ayali D., Cerón J.J., Baneth G. 2011. Acute phase protein response in experimental canine leishmaniosis. *Veterinary Parasitology*. 180: 197–202.
- Martinez-subiela, S.; Tecles, F.; Eckersall, P.D.; Ceron, J.J. 2002. Serum concentrations of acute phase proteins in dogs with leishmaniasis. *Veterinary Record*, 150: 241–244.
- Ciaramella P., Pelagalli A., Cortese L., Pero M.E., Corona., M, Lombardi., P. Avallone L., Persechino A. 2005. Altered platelet aggregation and coagulation disorders related to clinical findings in 30 dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. *The Veterinary Journal*, 169 (3): 465-467.
- Reis A.B., Martins-Filho O.A., Teixeira-Carvalho A., Carvalho M.G., Mayrink W., França-silva J.C., Giunchetti R.C., Genaro O., Correa oliveira R. 2006 Parasite density and impaired biochemical / hematological status are associated with severe clinical aspects of canine visceral leishmaniasis. *Research in Veterinary Science*. 81(1): 68-75.
- Silva B.S.R., Mendes R.S., Santana, V.L., Souza H.C., Ramos C.P.S., Souza A.P., Andrade P.P.A., Melo M.A. 2016. *Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral caninana zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico*. *Pesq. Vet. Bras*. 36 (7): 625-629.
- STOCKHAM, S.L, SCOTT. M.A. Fundamentos de patologia clínica veterinária. 2nd ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2011.
- THOMSON, R.G. Patologia Veterinária Especial. São Paulo: Manole, 1990.

Quadro 1. Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, e proteína c reativa dos cães com *Leishmania* spp (GLG) e do grupo controle (GC).

Proteínas De Fase Aguda	Grupo Controle Média	Grupo <i>Leishmania</i> spp Mediana	Valor De P
Proteína C reativa (mg/dl)	*0,035	**0,02	0,1429
Haptoglobina (mg/dl)	*46,49	**88,2	0,0004

* Teste T de Student ($p < 0,05$). **Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quadro 2. Valores médios e medianos das concentrações de haptoglobina, e proteína c reativa dos cães do grupo *Leishmania* spp assintomático (GLA), grupo *Leishmania* spp sintomático (GLS) e do grupo controle (GC).

Proteínas de fase aguda	grupo controle (mg/dl) média	grupo GLS (mg/dl) média/mediana	Valor de p
Proteína C Reativa (mg/dl)	*0,035	*0.03	*0.6344
Haptoglobina (mg/dl)	*46,49	*88,21	*0.0010

Proteínas de fase aguda	grupo controle (mg/dl) média	grupo GLA (mg/dl) média/mediana	Valor de p
PCR (mg/dl)	*0,035	**0,005	**0,0407
Haptoglobina (mg/dl)	*46,49	*106.27	*0,089

* Teste T de Student ($p < 0,05$). **Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quadro 3. Valores das médias e medianas das variáveis hematológicas e bioquímicas dos cães com *Leishmania* spp e do grupo controle.

Variáveis Hematológicas	Grupo controle Média	Grupo <i>Leishmania spp</i> Média	Grupo <i>Leishmania spp</i> Mediana	Valor de p
Eritrócitos (ul)	6.93200	4758285	-	0,0106**
Hb (g/dl)	15.9	-	10.2	0,0009*
Ht (%)	44,5	30.6	-	0,0052*
VGM (fl)	65.4	-	64.2	0,5863**
CHCM (%)	35.38	-	35,7	0,0030**
PLAQ (mm3)	230.200	-	132000	0,0158**

VCM. Volume corpuscular médio. HCM. Hemoglobina corpuscular média. CHCM. Concentração de hemoglobina corpuscular média.* Teste T de Student ($p < 0,05$). **Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$).

Quadro 4. Valores das médias e medianas das variáveis e bioquímicas dos cães com *Leishmania spp* e do grupo controle

Variáveis Bioquímicas	Grupo controle Média	Grupo controle Mediana	Grupo <i>Leishmania spp</i> Média	Grupo <i>Leishmania spp</i> Mediana	Valor de p
ALT (g/dl)	23.88	-	45.1	-	0.4316**
FA (g/dl)	-	39.5	161.79	-	0.4466**
PT (g/dl)	6.0	-	8.2	-	0.0035*
Albumina (g/dl)	2.5	-	1.9	-	0.0294*
Globulina (g/dl)	3.5	-	6.2	-	0.0027*
Uréia (g/dl)	50.55	-	-	45.36	0,9186 **
Creatinina (g/dl)	0.4	-	-	0.7	0.0209**

* Teste T de Student ($p < 0,05$). **Teste U de Mann-Whitney ($p < 0,05$)

ANEXOS

Anexo 1. Concentrações plasmáticas de haptoglobina e proteína c reativa em cães naturalmente infectados pelo *Leishmania* spp.

Animais Grupo controle (GC)	Haptoglobina	Proteína C reativa
1	79,42244	0,03
2	24,80198	0,04
3	57,80528	0,04
4	21,50165	0,03
5	48,93	0.05
Média	46,49227	0,035
Desvio Padrão	24,0485	0,005

Animais Grupo <i>Leishmania</i> spp (GL)	Haptoglobina	Proteína C reativa
1	94,46428571	0.05
2	48,63095238	0.01
3	109,9404762	0.02
4	88,21428571	0.00
5	65,29761905	0.02
6	35,23809524	0.03
7	30,47619048	0.03
8	61,13095238	0.04
9	81,07142857	0.02
10	109,9404762	0.02
11	85,23809524	0.07
12	48,63095238	0.02
13	48,33333333	0.05
14	112,6190476	0.00
15	101,6071429	0.07
16	94,46428571	0.05
17	88,21428571	0.00
18	81,07142857	0.04
19	84,04762	0.02
20	106,369	0.07
21	93,57143	0.09

22	70,05952	0.05
23	169,17	0.02
24	227,8	0.03
25	82,85714	0.01
26	69,46429	0.0
27	120,9524	0.05
28	155,48	0.05
29	178,69	0.02
30	101,6071429	0.00
31	112,6190476	0.00
32	93,27380952	0.07
33	72,73809524	0.01
34	169,17000000	0.02
35	88,21428571	0.0
Mediana	8.821.429	0.02
Desvio Padrão	42,0347031	0.02485

CAPÍTULO III

DIAGNÓSTICO SITUACIONAL DOS TRIATOMÍNEOS (*HEMÍPTERA: REDUVIIDAE: TRIATOMINAE*) INFECTADOS POR *TRYPANOSOMA CRUZI*: E SUA DISTRIBUIÇÃO NO SERTÃO PARAIBANO

Manuscrito submetido à Revista “BRAZILIAN JOURNAL VETERINARY PARASITOLOGY” –, Qualis A2.

Diagnóstico Situacional dos Triatomíneos (*Hemiptera: Reduviidae: Triatominae*) infectados por *Trypanosoma cruzi*: e sua distribuição no sertão paraibano

Atticus Tanikawa^a, Vanessa Lira de Santana^a, Olivia Maria Moreira Borges^a, Raquel Guedes Ximenes^a, Ariana de Castro Tavares da Silva^a, Angelina Lima Santana^a, Almir Pereira de Souza^a

^a Unidade Acadêmica de Medicina Veterinária, Universidade Federal de Campina Grande – UFCG

Resumo

Objetivou-se com este estudo identificar a situação vetorial dos triatomíneos infectados no sertão paraibano avaliando a potencialidade da microregião de Patos através dos indicadores entomológicos mediante a um estudo retrospectivo realizados entre os períodos de 2009 até 2015. A determinação das áreas estudadas foi baseada a partir de um levantamento epidemiológico listado para casos notificados pela Secretária de Saúde do estado da Paraíba para pessoas infectadas com *Trypanosoma cruzi*. Um total de 7177 espécimes de triatomíneos foram capturados, As espécies que apresentaram maior frequência de captura foram *Triatoma brasiliensis* totalizando 3934 exemplares (54,8%) seguida respectivamente pelo *Triatoma pseudomaculata* 2957 exemplares (41,2%), *Panstrongylus lutzi* 171 exemplares (2,4 %), *Rhodnius neglectus* 48 exemplares (0,7%), *Rhodnius nasutus* 46 exemplares (0,6%), *Triatoma petrochiae* 17 exemplares (0,2%) e *Panstrongylus megistus* 4 exemplares (0,1%). A taxa de infecção natural dos triatomíneos para os 23 Municípios foi de 0,14%, tendo como destaque Desterro (0,73%), Condado (0,43%), Santa Luzia (0,41%), Malta (0,36%), Teixeira (0,29%), Santa Terezinha (0,23%) e São José dos Espinharas (0,11%). Dos triatomíneos analisados, o *T.brasiliensis* foi a espécie com a maior taxa de infecção natural seguida pelo *T. pseudomaculata* e *P. lutzi*. A taxa de infestação intradomiciliar para o *T.brasiliensis* foi de 0,33% e para o *T. pseudomaculata* foi de 0,07% enquanto que a taxa de infestação peridomiciliar foi 0,009% para *T.brasiliensis* e 3,1% para de *Panstrongylus lutzi*. Observou-se que a microrregião de Patos apresenta uma taxa de dispersão triatomínica maior em ambientes peridomiciliares nos 23 municípios estudados, no entanto com a taxa de infestação vetorial com potencial de infectividade para *T.cruzi* em ecótopos intradomiciliares foram as cidades de Desterro, Condado, Teixeira, Santa Luzia, Malta, santa Terezinha e São José dos Espinharas Diante destes fatos Conclui-se que a microregião de Patos apresenta uma taxa de dispersão triatomínica maior em ambientes peridomiciliares que se encontram com baixos índices de infecção natural, o que não descarta a necessidade-da atenção dos órgãos competentes com a potencialidade vetorial de infectividade para *T.cruzi* em ecótopos intradomiciliares na região estudada.

Palavras chaves: triatimíneo, taxa de infecção natural por espécie, Nordeste do Brasil, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus lutzi*

Abstract

Evaluating the potentiality of the microregion of Patos through the entomological indicators through a retrospective study. The determination of the areas studied was based on epidemiological survey listed for cases reported by the Secretary of Health of the State of Paraíba for people infected with *Trypanosoma cruzi*. A total of 7177 specimens of triatomines were captured. *Triatoma brasiliensis* totaling 3934 specimens (54.8%) followed respectively by *Triatoma pseudomaculata* 2957 specimens (41.2%), *Panstrongylus lutzi* 171 specimens (2,4%) *Rhodnius neglectus* 48 specimens (0.7%), *Rhodnius nasutus* 46 specimens (0.6%), *Triatoma petrochiae* 17 specimens (0.2%) and *Panstrongylus megistus* 4 specimens (0.1%). Of the triatomines analyzed, *T. brasiliensis* was the species with the highest rate of natural infection followed by *T. pseudomaculata* and *P. lutzi*. The intradomiciliary infestation rate for *T. brasiliensis* was 0.33% and *T. pseudomaculata* it was 0.07% while the rate of peridomiciliary infestation was 0.009% for *T. brasiliensis* and 3.1% for *Panstrongylus Lutzi*. It is concluded that the micro-region of Patos presents a higher triatomic dispersion rate in peridomiciliary environments that have low rates of natural infection, which does not rule out the need for the attention of the competent organs with the vectorial potentiality of infectivity for *T.cruzi* in In the region.

Keywords: triatomine, natural infection rate, Northeastern Brazil, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus lutzi*

1. Introdução

A Doença de Chagas ou Tripanossomíase Americana é uma doença infecciosa de caráter endêmico decorrente de uma infecção parasitária causada pelo protozoário *Trypanossoma cruzi* podendo ser transmitida aos hospedeiros vertebrados por meio de insetos hematófagos da subfamília Triatominae, como também por outros mecanismos de transmissão, tais como transfusão sanguínea, transmissão congênita, transplante de órgãos e por via oral (Santana et al., 2012; Mendes et al., 2013)

Os triatomíneos vetores participantes da doença podem estar distribuídos em diferentes habitats afetando inúmeras espécies de animais uma vez que participam de diferentes ciclos epidemiológicos para *T. cruzi*, dentre esses, o ciclo doméstico e peridoméstico, onde participam o homem e outros animais. Seu início ocorreu a partir da ocupação humana em ecótopos silvestres, em vivendas rurais, oferecendo abrigo e alimento abundante aos vetores servindo como elo entre o ciclo doméstico e silvestre (Schmuñis 2000).

Das 65 espécies, somente cinco são relevantes para a transmissão domiciliar: o *Triatoma infestans*, *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Triatoma sordida* e *Pastrongylus megistus* (Costa et al., 2009). Atualmente o *T. brasiliensis* e o *T. pseudomaculata* são as espécies mais frequentes principalmente nos ambientes intradomiciliar especialmente no nordeste brasileiro (Silva, et al., 2016, Barbosa-Silva et al. 2016; Vasconcelos et al 2013) onde os altos índices de infecções a humanos são verificados pelos dados obtidos pelo Sistema de Informação de Agravos de Notificação – SINAN, inclusive no estado da Paraíba (Brasil, 2017). Embora medidas preventivas estejam sendo efetuadas na região, alguns fatores como urbanização descontrolada das zonas rurais, a domiciliação do principal vetor da doença, e possível participação de indivíduos infectados assintomáticos como fonte de infecção podem estar influenciando direta ou indiretamente na manutenção do ciclo epidemiológico da enfermidade, o que proporciona dúvidas sobre a real situação dos vetores triatomíneos envolvidos na Doença de Chagas no estado. Diante desses fatos o presente estudo objetivou identificar a situação vetorial dos triatomíneos infectados no sertão paraibano avaliando a potencialidade da microregião de Patos através dos indicadores entomológicos mediante a um estudo retrospectivo realizados entre os períodos de 2009 até 2015.

2. Materiais e Métodos

Foi realizado um estudo retrospectivo, através de consultas aos dados epidemiológicos do Programa de Controle de doença de Chagas do Laboratório Regional de Endemias da microrregião de Patos entre os períodos de 2009 até 2015 cuja a captura dos triatomíneos era realizada semanalmente. A determinação das áreas estudadas foi baseada a partir de um levantamento epidemiológico listado para casos notificados pela Secretária de Saúde do Estado da Paraíba para pessoas infectadas com *Trypanosoma cruzi*.

A captura dos triatomíneos realizou-se a partir de busca intradomiciliares e peridomiciliares através de procura ativa em galinheiros, currais, acomodações recobertas de palhas, cercas e pocilgas nas cidades: Patos, Santa Luzia, Várzea, Quixaba São José do Bonfim, Maturéia, Desterro, Mae D' Agua, Areia de Baraúnas, Salgadinho, São José do Sabugi, Malta, Passagem, Vista Serrana, São Mamede, Condado, Catingueira, Junco do Seridó, Cacimba de Areia, Teixeira, Santa Terezinha, São Jose dos Espinharas e Cacimbas. A identificação dos triatomíneos foi caracterizada

a partir de critérios de avaliação morfológicas externas, utilizando-se como ferramenta a chave dicotômica elaborada por Lent e Wygodzinsky (1979).

Foram incluídos na pesquisa como coleta de dados os estágios evolutivos de triatomíneos capturados no intradomicílio e peridomicílio das residências oriundas dos municípios incluídos na Microregião de Patos. Ao mesmo tempo indicadores entomológicos do índices de dispersão triatomínea (DT), infestação domiciliar (ID), infecção natural (IN) por *T. cruzi* foram obtidos conforme orientação preconizada pelo Brasil (1994):

$$DT = \frac{\text{Número de localidades com presença do triatomíneo}}{\text{Número de localidades pesquisadas}} \times 100$$

$$ID = \frac{\text{Número de unidades domiciliares com presença do triatomíneo}}{\text{Número de unidades domiciliares pesquisadas}} \times 100$$

$$IN = \frac{\text{Número de triatomíneos infectados por } T. cruzi}{\text{Número de triatomíneos examinados}} \times 100$$

3. Resultados

No ano de 2009 à 2015, foram coletados um total de 7177 espécimes de triatomíneos em 23 municípios do Sertão Paraibano: Patos, Santa Luzia, Várzea, Quixaba, São José do Bonfim, Maturéia, Desterro, Mae D' Agua, Areia de Baraúnas, Salgadinho, São José do Sabugi, Malta, Passagem, Vista Serrana, São Mamede, Condado, Catingueira, Junco do Seridó, Cacimba de Areia, Teixeira, Santa Terezinha, São Jose dos Espinharas e Cacimbas nas quais foram identificadas 7 espécies.

O *Triatoma brasiliensis* foi a espécie mais capturada totalizando 3934 exemplares (54,8%) seguida respectivamente pelo *Triatoma pseudomaculata* 2957 exemplares (41,2%), *Panstrongylus lutzi* 171 exemplares (2,4 %), *Rhodnius neglectus* 48 exemplares (0,7%), *Rhodnius nasutus* 46 exemplares (0,6%), *Triatoma petrochiae* 17 exemplares (0,2%) e *Panstrongylus megistus* 4 exemplares (0,1%). O *Triatoma brasiliensis* foi a espécie com maior índice de captura no intradomicilio enquanto que *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus lutzi*, *Rhodnius neglectus*, *Rhodnius nasutus*, *Triatoma petrochiae* e *Panstrongylus megistus* foram encontradas no peridomicílio (tabela 2).

A taxa de infecção natural dos triatomíneos para os 23 Municípios foi de 0,14%, tendo como destaque Desterro (0,73%), Condado (0,43%), Santa Luzia (0,41%), Malta (0,36%), Teixeira

(0,29%), Santa Terezinha (0,23%) e São José dos Espinharas (0,11%) (tabela 1). Dos triatomíneos analisados no estudo, o *T.brasiliensis* foi a espécie com a maior taxa de infecção natural seguida pelo *T. pseudomaculata* e *P. lutzi* entre os municípios analisados. A taxa de infestação intradomiciliar para triatomíneos para o *T.brasiliensis* foi de 0,33% e para o *T. pseudomaculata* foi de 0,07% enquanto que a taxa de infestação peridomiciliar foi 0,009% para *T.brasiliensis* e 3,1% para de *Panstrongylus lutzi* (Tabela 3)

4. Discussão

Durante o estudo foi analisado a situação da distribuição da Doença de Chagas no sertão paraibano através da identificação de espécimes vetórias importantes na transmissão da doença. Os resultados obtidos indicam a predominância do *Triatoma brasiliensis*, *Triatoma pseudomaculata*, *Panstrongylus lutzi*, *Rhodnius neglectus*, *Rhodnius nasutus*,

Triatoma petrochiae e *Panstrongylus megistus* respectivamente em ambientes domiciliares e peridomiciliares, corroborando com outros estudos na região nordeste do Brasil na qual verificaram que tais espécies são mais prevalentes no semiárido nordestino (Vasconcelos et al 2013; Silva, et al., 2015, Barbosa-Silva et al. 2016). Tais conjunturas estão de acordo com Dias et al. (2000); Silva et al. (2012) na qual afirmam que o tipo de cobertura vegetal predominante da região caracterizada como a Caatinga propiciam a manutenção da maioria das espécies encontradas por se tratarem de triatomíneos nativos da região nordeste .

Dentre as espécies supracitadas foi evidenciado um número significativo do *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* capturados, indicando uma frequência mais acentuada destes triatomíneos nas áreas em estudo. Segundo Caranha et al. (2006) e Costa et al., (2009) tais espécies são importantes na caracterização endêmica da doença de Chagas no nordeste brasileiro, sendo estes objetos de preocupação pelos órgãos responsáveis pelo controle de vetores pois tanto o *T. brasiliensis* e *T. pseudomaculata* os quais apresentam altas taxas de densidade e são capazes de colonizar o ambiente intradomiciliar e peridomiciliar fato este observado no estudo apenas para o ambiente peridomiciliar em ambas as espécies (Silveira et al., 2002). Nestes ambientes os triatomíneos podem se abrigar em telhas, pedras, tijolos e tetos de abrigos de animais criando condições de temperatura e umidade capazes de manter estabelecidos em diversas localidades fazendo com que haja persistência de infestação peridomiciliar. Contudo devemos salientar a importância do *P. lutzi* na região em estudo, uma vez que está distribuída em quase todas as cidades com a exceção de São José do Bonfim. Além disso foi verificado um aumento significativo da espécie no âmbito domiciliar mostrando uma mudança no seu comportamento haja vista que o *P. lutzi* apresenta preferencialmente hábito peridomiciliar e silvestre. De acordo com Costa et al., 2003 e Silva et al.,

2012 tal espécie vem apresentando um aumento gradativo nos últimos anos em diferentes regiões do Brasil e se destaca por apresentar um hábito alimentar eclético. As alimentações mistas sugerem que o *P. lutzi* circula em ambientes silvestres e peridomiciliares permitindo a introdução de cepas silvestres no ambiente domiciliar predispondo a infecções pelo *T. cruzi* (Caranha et al 2006; Borges-Pereira et al, 2008; Vasconcelos et al. 2013). De fato, é possível observar a associação entre a frequência dos principais triatomíneos no sertão paraibano com as principais taxas de infecção natural por espécie. Embora sejam pequenas as taxas de infecção natural por espécie, o *T. brasiliensis*, *T. pseudomaculata* e *P. lutzi* foram as espécies de triatomíneos que exclusivamente e respectivamente apresentaram correlação direta com TIFNE.

No estudo foi evidenciados maiores taxa de infecção natural por espécies em ambiente intradomiciliar. As condições dos ecótopos artificiais são determinantes para condição de vetor com importância epidemiológica do *T. cruzi*. Essa capacidade é dependente da habilidade de se alimentar de sangue disponíveis no interior das residências e com a temperatura e umidade determinada pelos esconderijos intradomiciliares possibilitando a transformação de um vetor potencial em um real transmissor do *T. cruzi* a humanos (Lent; Ligdzinsky, 1979; Lorenzo et al 2000)

Diferentemente de outros estudos as pequenas taxas de infecção encontradas podem indicar um baixo grau de parasitismo das espécies vetorias para o *T. cruzi*, sugerindo que as regiões delineadas não apresentam condições adequadas para a manutenção dos triatomíneos decorrentes das medidas profiláticas de controle vetorial nas quais podem ser comprovadas mediante aos indicadores entomológicos associados aos baixos índices de dispersão triatomínica. No entanto é possível a existência de um novo contexto epidemiológico na qual pode estar gerando uma nova perspectiva para as cidades estudadas assim como as outras regiões do Nordeste brasileiras consideradas como endêmicas para Doença de Chagas. É possível que as altas temperaturas do sertão e os poucos períodos chuvosos nos últimos 10 anos possam ter ocasionado a desidratação e elevada mortalidade, diminuindo a densidade dos mesmos (Gomez-Hernandez et al.,2008). Além disso, o grande período de seca pode ter contribuído para a destruição ou transformação dos ecótopos naturais causando a diminuição ou mesmo o desaparecimento das fontes alimentares dos triatomíneos no âmbito peridomiciliar e silvestre (Dias-Lima et al, 2000).

5. Conclusão

É possível concluir que a microregião de Patos apresenta uma taxa de dispersão triatomínica maior em ambientes peridomiciliares que se encontram com baixos índices de infecção natural, o que não descarta a necessidade—da atenção dos órgãos competentes com a potencialidade vetorial de infectividade para *T. cruzi* em ecótopos intradomiciliares na região estudada.

Agradecimentos - À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio financeiro e concessão da bolsa de estudos e ao Laboratório Parasitológico de Endemias do Sexto Núcleo Regional de Saúde da Paraíba pelo apoio na concessão dos resultados.

6. Referências

Barbosa-Silva AN, Camara, AC, Martins K, Nunes DF, Oliveira PIC, Azevedo PRM, Chiari, E, Galvão, MC. Characteristics of Triatomine infestation and natural *Trypanosoma cruzi* infection in the State of Rio Grande do Norte, Brazil *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2016; 49(1): 57-67.

Borges-Pereira J, Sarquis O, Zauza PL, Britto C, Lima MM. Epidemiology of Chagas disease in four rural localities in Jaguaruana, State of Ceará. Seroprevalence of infection, parasitemia and clinical characteristics; *Rev Soc Bras Med Trop* 2009; 41 (4): 345-351.

Caranha L, Lorosa ES, Rocha DS, Jurberg J, Galvão C. Estudo das fontes alimentares de *Panstrongylus lutzi*(Neiva & Pinto, 1923) (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) no Estado do Ceará. *Rev Soc Bras Med Trop* 2006; 39(4): 347-351.

Costa J, Lorenzo M,. Biology, diversity and strategies for the monitoring and control of triatomines - Chagas disease vectors. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2009; 104 (Suppl. I): 46-51.

Dias JCP, Machado EMM, Fernandes AL, Vinhaes MC. Esboço geral e perspectivas da doença de Chagas no Nordeste do Brasil. *Cad. Saúde Pública* 2000; 16, (2): 13-34.

Dias-Lima, AG, Sherlock IA. Sylvatic vectors invading houses and the risk of emergence of cases of Chagas disease in Salvador, State of Bahia, Northeast Brazil. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 2000; (95):611-613.

Gómez-Hernández C, Rezende-Oliveira K, Cortés-Zárate A, Cortés-Zárate E, Trujillo-Contreras F, Ramírez LE 2008. Prevalence of triatomines (Hemiptera: Reduviidae: Triatominae) infected by *Trypanosoma cruzi*; seasonality and distribution in the Ciénega region of the state of Jalisco, Mexico. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41 (3); 257-262.

Lent H, Wygodzinsky P. Revision of the Triatominae (Hemiptera, Reduviidae) and their significance as vectors of Chagas disease. *Bull Am Mus Nat Hist* 1979; 125-520.

Lorenzo MG, Guarneri AA, Pires HH, Diotaiuti L, Lazzari CR. Microclimatic properties of the *Triatoma brasiliensis* habitat. *Cad Saude Publica* 2000; 16 (2): 69-74.

Mendes RS, Santana VL, Jansen AM, Xavier SCC, Vidal IF, Rotondano TEF, SOUZA, AP. Aspectos epidemiológicos da Doença de Chagas canina no semiárido paraibano. *Pesq. Vet. Bras* 2013; 33(12): 1459-1465.

- Santana, VL, Souza, AP, Lima, DASD, Araújo, AL, Justiniano, SV, Dantas, RP, Guedes, PMM, Melo, MA. Clinical and laboratorial characterization of naturally infected *Trypanosoma cruzi* dogs in the northeastern semi-arid. *Pesq Vet Bras* 2012; 32 (6): 536–541
- Schmuñis GA.. A tripanosomíase americana e seu impacto na saúde pública da Américas, In: Brener Z., Andrade Z. A. & Barral-Neto M. (Eds), *Trypanosoma cruzi* e Doença de Chagas. 2ª ed. Guanabara Koogan 2000, Rio de Janeiro. p.84-98
- Silva, BSR, Mendes, RS, Santana, VL, Souza, HC, Ramos, CPS, Souza, AP, Andrade, PA., Melo, MA. *Aspectos epidemiológicos da leishmaniose visceral caninana zona rural do semiárido paraibano e análise de técnicas de diagnóstico*. *Pesq. Vet. Bras.* 2016.36 (7): 625-629.
- Silva, MBA, Barreto, AVM, Silva, HA, Galvão, C, Rocha, D, Jurberg, J, Gurgel-Gonçalves, R. Synanthropic triatomines (Hemiptera, Reduviidae) in the state of Pernambuco, Brazil: geographical distribution and natural *Trypanosoma* infection rates between 2006 and 2007. *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical* 2012; 45(1); 60-65.
- Silveira AC. O Controle da Doença de Chagas nos Países do Cone Sul da América: História de uma iniciativa internacional 1991-2001. In: Silveira AC (org) O Controle da Doença de Chagas nos Países do Cone Sul da América: História de uma iniciativa internacional 1991-2001. *Organização Pan-americana da Saúde* 2002, Brasília, p.15-43.
- Vasconcelos, ASOB Freitas EC, Andrade MC, Lima MM, Pereira LS, Gomes, KCMS, Coelho HLL, Oliveira MF. Chagas Disease: vector status in the city of Limoeiro do Norte – CE, during the period from 2006 to 2009 *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2013. 72 (4): 295-301.

7. Anexos

Tabela 1 - Distribuição de triatomíneos por espécie e com infecção natural por Trypanosoma cruzi capturados em municípios da microrregião de Patos no período 2009 - 2015

Município	Espécies	Triatomíneos capturados	N ^o positivos	TIFNE (%)	TIN (%)
Patos	<i>T.brasiliensis</i>	887	0		
	<i>T.pseudomaculata</i>	80	0		
	<i>P. lutzii</i>	3	0		
	<i>R.nasutus</i>	2	0		
	Total	972	0		
Santa Luzia	<i>T.brasiliensis</i>	182	1	0,12	
	<i>T.pseudomaculata</i>	59	0		
	<i>P. lutzii</i>	2	0		
	<i>R.nasutus</i>	2	0		
	<i>R. neglectus</i>	1	0		
Total	246	1		0,41	
Várzea	<i>T.brasiliensis</i>	83	0		
	<i>T.pseudomaculata</i>	37	0		
	<i>P. lutzii</i>	2	0		
	Total	122	0		
Quixabá	<i>T.brasiliensis</i>	103	0		
	<i>T.pseudomaculata</i>	25	0		
	<i>P. lutzii</i>	4	0		
	Total	132	0		
São José do Bonfim	<i>T.brasiliensis</i>	95	0		
	<i>T.pseudomaculata</i>	25	0		
	<i>R. neglectus</i>	2	0		
	Total	122	0		

Maturéia	<i>T.brasiliensis</i>	11	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	58	0	
	<i>P. lutzii</i>	10	0	
	Total	79	0	
<hr/>				
Desterro	<i>T.brasiliensis</i>	33	1	0,33
	<i>T.pseudomaculata</i>	30	0	
	<i>P. lutzii</i>	10	0	
	Total	73	1	0,73
<hr/>				
Mae D' Agua	<i>T.brasiliensis</i>	199	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	91	0	
	<i>P. lutzii</i>	10	0	
	Total	300	0	
<hr/>				
Areia de Baraúnas	<i>T.brasiliensis</i>	188	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	90	0	
	<i>P. lutzii</i>	32	0	
	<i>R.nasutus</i>	1	0	
	<i>R. neglectus</i>	3	0	
	Total	314	0	
<hr/>				
Salgadinho	<i>T.brasiliensis</i>	28	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	71	0	
	<i>P. lutzii</i>	10	0	
	Total	109	0	
<hr/>				
São José do Sabugi	<i>T.brasiliensis</i>	53	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	4	0	
	<i>P. lutzii</i>	4	0	
	<i>R.nasutus</i>	0	0	
	<i>R. neglectus</i>	1	0	
	Total	62	0	

Malta	<i>T.brasiliensis</i>	229	1	0,87
	<i>T.pseudomaculata</i>	311	0	
	<i>P. lutzii</i>	5	0	
	<i>R.nasutus</i>	3	0	
	<i>R. neglectus</i>	8	0	
	Total	556	1	
Passagem	<i>T.brasiliensis</i>	118	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	79	0	
	<i>P. lutzii</i>	3	0	
	<i>R.nasutus</i>	8	0	
	<i>R. neglectus</i>	14	0	
	Total	22	0	
Vista serrana	<i>T.brasiliensis</i>	113	3	
	<i>T.pseudomaculata</i>	113	2	
	<i>P. lutzii</i>	7	0	
	<i>R.nasutus</i>	4	0	
	<i>R. neglectus</i>	2	0	
	Total	239	5	
São Mamede	<i>T.brasiliensis</i>	190	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	109	0	
	<i>P. lutzii</i>	11	0	
	<i>R.nasutus</i>	1	0	
	Total	311	0	
Condado	<i>T.brasiliensis</i>	232	1	0,43
	<i>T.pseudomaculata</i>	236	1	0,42
	<i>P. lutzii</i>	5	0	
	<i>R.nasutus</i>	3	0	
	<i>R. neglectus</i>	4	0	
	Total	480	2	0,43
Catingueira	<i>T.brasiliensis</i>	63	0	
	<i>T.pseudomaculata</i>	43	0	
	<i>P. lutzii</i>	1	0	

	<i>T. petrochiae</i>	4	0	
	Total	111	0	
Junco do Serido	<i>T. brasiliensis</i>	4		
	<i>T. pseudomaculata</i>	2	0	
	<i>P. lutzii</i>	4	0	
	Total	10	0	
Cacimba de Areia	<i>T. brasiliensis</i>	97	0	
	<i>T. pseudomaculata</i>	33	0	
	<i>P. lutzii</i>	1	0	
	<i>R. neglectus</i>	1	0	
	<i>T. petrochiae</i>	3	0	
	Total	135	0	
Teixeira	<i>T. brasiliensis</i>	97	0	0,55
	<i>T. pseudomaculata</i>	182	1	
	<i>P. lutzii</i>	58	0	
	<i>R. neglectus</i>	2	0	
	<i>T. petrochiae</i>	1	0	
	Total	340	1	0,29
Santa Terezinha	<i>T. brasiliensis</i>	322	1	
	<i>T. pseudomaculata</i>	54	0	0,31
	<i>P. lutzii</i>	43	0	
	<i>R. nasutus</i>	4	0	
	<i>R. neglectus</i>	1	0	
	<i>P. megistus</i>	2	0	
	Total	426	1	0,23
São José dos Espinharas	<i>T. brasiliensis</i>	720	2	0,19
	<i>T. pseudomaculata</i>	1030	0	
	<i>P. lutzii</i>	19	0	
	<i>R. nasutus</i>	13	0	
	<i>R. neglectus</i>	3	0	
	<i>P. megistus</i>	2	0	0,11

<i>T. petrochiae</i>	5	0
Total	1792	2

Cacimbas	<i>T. brasiliensis</i>	7	0
	<i>T. pseudomaculata</i>	7	0
	<i>P. lutzii</i>	9	0
	<i>T. petrochiaei</i>	1	0
	Total	24	0

Total	7177	10	0,14
-------	------	----	------

Tabela 2. Distribuição por espécie peri e intradomiciliar dos triatomíneos capturados na microregião de Patos nos períodos de 2009-2015.

Espécies	Capturados	(%)	Intradomicílio	(%)	Peridomicílio	(%)
<i>T.brasiliensis</i>	3934	(54,8%)	1825	(67)	2109	(33)
<i>T.pseudomaculata</i>	2957	(41,2%)	710	(26,1)	2247	(73,9)
<i>P.lutzi</i>	17	(2,4 %)	139	(5,1)	32	(94,9)
<i>R.nasutus</i>	46	(0,7%)	14	(0,5)	32	(99,5)
<i>R. neglectus</i>	48)	(0,6%)	17	(0,6)	31	(99,4)
<i>P.megistus</i>	4	(0,2%)	3	(0,11)	1	(89)
<i>T. petrochiaei</i>	17	(0,1%)	12	(0,44)	5	(99,56)
Total	7.177	(100%)	2720	100	4457	(100)

Tabela 3. Distribuição por espécie peri e intradomiciliar dos triatomíneos positivos e taxa de infecção natural para *T.cruzi* capturados na microregião de Patos nos períodos de 2009-2015.

Espécies	Intradomicilio	TINPE	Peridomicilio	TINPE
<i>T.brasiliensis</i>	6	0,33%	1	0,009%
<i>T.pseudomaculata</i>	2	0,07%	0	0%
<i>P.lutzi</i>	0	0%	1	3,1%
<i>R.nasutus</i>	0	0%	0	0%
<i>R.neglectus</i>	0	0%	0	0%
<i>P.megistus</i>	0	0%	0	0%
<i>T.petrochiaei</i>	0	0%	0	0%

CONCLUSÕES

De acordo com os dados obtidos conclui-se que cães naturalmente infectados por *Leishmania* spp e *Trypanosoma cruzi* sem sintomatologia clínica apresentaram valores significativos de haptoglobina e proteína c reativa principalmente nos pacientes anêmicos atuando como ferramentas auxiliares na avaliação de morbidade e de diagnóstico em regiões que apresentam índices de infecção para ambos tripanossomatídeos como a microrregião de Patos. Conclui-se também que esta região apresenta uma taxa de dispersão triatomínica maior em ambientes peridomiciliares que se encontram com baixos índices de infecção natural, o que não descarta a necessidade—da atenção dos órgãos competentes com a potencialidade vetorial de infectividade para *T.cruzi* em ecótopos intradomiciliares na região estudada.

APÊNDICES