

ALTERAÇÕES CLÍNICAS, LABORATORIAIS E SEMINAIS DE CÃES NATURALMENTE INFECTADOS POR *Leishmania* sp.

(Clinical, laboratory and seminal changes of dogs naturally infected by Leishmania sp.)

Luanna Soares de MELO EVANGELISTA^{1*}; Marcos Antônio Celestino de SOUSA
FILHO²; Yndyra Nayan Teixeira Carvalho CASTELO BRANCO³; Esther
Machado de Carvalho e SILVA⁴; Michel Mualém de Moraes ALVES⁵;
Ivete Lopes de MENDONÇA⁶; José Adalmir Torres de SOUZA⁶

¹Dpto de Parasitologia e Microbiologia, Universidade Federal do Piauí (UFPI), Campus Ministro Petrônio Portela, Terezina/PI; ²Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal (UFPI); ³Medicina Veterinária, Universidade Federal de Sergipe; ⁴Centro Veterinário Pet Vitale; ⁵Dpto de Morfofisiologia Veterinária; ⁶Dpto de Clínica e Cirurgia Veterinária. *E-mail: luannaufpi@gmail.com

RESUMO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença parasitária crônica, grave e endêmica em algumas regiões do Brasil, tendo os humanos e os cães como principais hospedeiros. Objetivou-se com este trabalho avaliar o perfil clínico, laboratorial e seminal de cães machos Sem Raça Definida (SRD) diagnosticados com LV, no município de Teresina, Piauí. Os animais foram provenientes da Gerência de Controle de Zoonoses do município e levados para o canil do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, onde permaneceram de fevereiro a abril de 2014 sob avaliação e realização de exames. Foram coletadas amostras de sangue e sêmen de 12 cães, divididos em dois grupos, sendo 06 positivos (GI) e 06 negativos (GII) para a doença. Os resultados apontaram linfadenomegalia, emagrecimento e onicogrifose como principais sinais clínicos nos cães com LV e as alterações hematológicas foram, anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia. A análise de bioquímica sérica revelou aumento nos índices de ureia nos animais parasitados no final do experimento, com diferença estatística entre os grupos, porém os níveis de creatinina mantiveram-se sem alteração. Quanto às análises seminais, foram encontradas diferenças significativas entre os grupos nos parâmetros de motilidade, vigor e concentração espermática, além da presença de patologias espermáticas que indicaram aumento de espermatozoides com alterações de cabeça e cauda. Conclui-se que cães com LV apresentam alterações clínicas, laboratoriais e seminais que podem prejudicar a condição geral e reprodutiva dessa espécie animal.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, canino, sinais clínicos, sêmen.

ABSTRACT

The Visceral Leishmaniasis (VL) is a chronic and severe parasitic disease, endemic in some regions of Brazil, and having dogs and humans as the main hosts. The objective of this work was to evaluate the clinical, laboratory and seminal profile of Mixed breed male dogs diagnosed with VL, in the city of Teresina, Piauí. The animals were obtained from the Zoonoses Control Management of city and taken to the kennel of the Agrarian Sciences Center of the Federal University of Piauí, where they remained from February to April 2014 under evaluation and exams. Blood and semen samples were collected from 12 dogs, divided into two groups, being 06 positive (GI) and 06 negative (GII) for the disease. The results

indicated lymphadenomegaly, weight loss and onychogryphosis as the main clinical signs in dogs with VL and the hematological changes were normochromic normocytic anemia and thrombocytopenia. The analysis of serum biochemistry revealed an increase in urea indexes in the parasitized animals at the end of the experiment, with statistical difference between the groups, however the levels of creatinine remained unchanged. Regarding the seminal analyzes, significant differences were found between the groups in the parameters of motility, vigor and sperm concentration, in addition to the presence of sperm pathologies that indicated an increase in sperm with changes of the head and tail. It is concluded that dogs with VL present clinical, laboratory and seminal alterations that can impair the general and reproductive condition of this animal species.

Key words: Visceral leishmaniasis, canine, clinical signs, semen.

INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Visceral (LV) é uma doença parasitária causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) chagasi* nas Américas, tendo o cão como principal reservatório em área urbana (BRASIL, 2014), possivelmente por ser o animal doméstico mais próximo ao homem. Quando infectados, os cães podem apresentar manifestações clínicas diversas, sendo classificados como assintomáticos, aqueles sem sinais clínicos; oligossintomáticos, os que apresentam até três sinais clínicos; e sintomáticos, com mais de três sinais da doença (MANCIANTI *et al.*, 1988; WILSON *et al.*, 2012).

As principais manifestações clínicas observadas em cães com LV são: linfadenomegalia, emagrecimento, palidez das mucosas, hepatoesplenomegalia, onicogribose, dermatopatias e oftalmopatias (SOLANO-GALLEGO *et al.*, 2011; CONTRERAS *et al.*, 2015; FREITAS *et al.*, 2017). Alterações renais também podem ser observadas em cães infectados (WILSON *et al.*, 2017), inclusive, eles podem apresentar lesões na bexiga e presença do parasito na urina (BATISTA *et al.*, 2020).

As formas amastigotas de *Leishmania* sp. podem se desenvolver em uma ampla variedade de tecidos de cães, o que pode resultar também em manifestações clínicas atípicas, como: desordens neurológicas (GIANNUZZI *et al.*, 2017), cardiopatias e pneumopatias (TORRENT *et al.*, 2005; ALVES *et al.*, 2010), bem como o envolvimento do sistema genital feminino e masculino de caninos domésticos (DINIZ *et al.*, 2005; SILVA, 2007; BENITES *et al.*, 2011; MELO EVANGELISTA *et al.*, 2019).

Exames laboratoriais em cães infectados por *Leishmania* sp. têm sido considerados relevantes no auxílio do diagnóstico da LV. Apesar de alguns exames mostrarem resultados inespecíficos, eles são considerados muito importantes para avaliar o *status* clínico e o prognóstico do animal (MEDEIROS *et al.*, 2008). Os achados hematológicos mais frequentemente observados são anemia normocítica normocrômica e trombocitopenia. É comum detectar uma associação de anemia, hiperproteinemia, hipoalbuminemia e inversão na relação albumina/glubulina em cães com LV (ALVES *et al.*, 2015; BRAZ *et al.*, 2015; MENDONÇA *et al.*, 2015), principalmente em áreas endêmicas.

Sobre os achados de bioquímica sérica, alguns autores citam que é mais comum ocorrer aumento nos índices de ureia do que de creatinina em cães parasitados, sendo que em estágios mais avançados da doença, pode ocorrer aumento nos valores médios tanto de

uma como de outra, porém a porcentagem, nesses casos, é relativamente mais baixa (VIEIRA NETO *et al.*, 2011).

As pesquisas também associam que um elevado número de formas amastigotas de *Leishmania* sp. nos órgãos reprodutivos de cães pode levar a lesões testiculares (DINIZ *et al.*, 2005; BENITES *et al.*, 2011), que comprometem o quadro espermático do animal (LABAT *et al.*, 2010) e, possivelmente, sua fertilidade. Diante do exposto, objetivou-se com este trabalho avaliar as características clínicas, laboratoriais e seminais de cães diagnosticados com LV no município de Teresina, Piauí.

MATERIAL E MÉTODOS

Seleção dos animais

Este trabalho foi analisado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Piauí (CEUA/UFPI) sob o número de protocolo 003/2014. Foram obtidos doze cães, machos, Sem Raça Definida (SRD), com peso entre 11 e 25kg, por meio da Gerência de Controle de Zoonoses da prefeitura municipal de Teresina, PI, e levados para o canil do Centro de Ciências Agrárias da UFPI, onde permaneceram separados em grupos experimentais, durante o período de fevereiro a abril de 2014. Para o grupo I (GI) foram selecionados (06) cães com diagnóstico sorológico e parasitológico positivo para LV e seis (06) cães negativos fizeram parte do grupo II (GII).

Todos os animais foram mantidos em canis individuais, telados, tendo acesso ao solário, alimentados com ração comercial duas vezes ao dia e água *ad libitum*, durante todo o período do experimento.

Os critérios de inclusão para este trabalho foram cães diagnosticados com LV assintomáticos ou oligossintomáticos, sem alterações macroscópicas nos órgãos do sistema reprodutivo, em condições de ejaculação, com motilidade espermática igual ou superior a 70% e vigor espermático igual ou superior a 3, conforme preconizado pelo CBRA (2013).

Os cães foram pesados, submetidos a exames físicos e laboratoriais de hemograma e bioquímica sérica na primeira e última semana do experimento, estes exames foram realizados no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da UFPI e os exames sorológicos e parasitológicos de LV foram realizados no Laboratório de Sanidade Animal (LASAN) da mesma instituição.

ANÁLISES REALIZADAS

Hemograma e Bioquímica Sérica

As amostras de sangue foram colhidas da veia jugular ou cefálica em tubos a vácuo com anticoagulante, para análise hematológica, e sem anticoagulante para realização das análises de bioquímica sérica (proteínas totais, albumina, globulina, ureia e creatinina) e para os testes sorológicos de LV.

As análises hematológicas foram realizadas no contador automático de uso veterinário (*Veterinary Animal Blood Counter*, VetABC Diagnostics, Montpellier, França) e para as análises de bioquímica sérica utilizou-se os kits Labtest® de acordo com as

recomendações do fabricante: proteínas totais (Ref. 99-250), albumina (Ref. 19-1/250), ureia (Ref. 27) e creatinina (Ref. 35-100). A globulina foi expressa dada a diferença entre as proteínas totais e a albumina de cada amostra avaliada. As lâminas com esfregaço sanguíneo a fresco foram coradas com o Panótico Rápido, utilizadas para a contagem diferencial de leucócitos e as análises dos parâmetros bioquímicos foram realizadas em Espectrofotômetro Tecnal. Foram excluídos deste trabalho os animais com presença de hemoprotozoários.

Diagnóstico Sorológico e Parasitológico da Leishmaniose Visceral

A LV canina foi diagnosticada por meio de sorologia utilizando o Teste Rápido Dual Path Platform (TRDPP®) e Ensaio Imunoenzimático (ELISA), utilizando-se kits comerciais da Bio-Manguinhos, seguindo as recomendações do fabricante. Para o diagnóstico parasitológico foram realizadas punção medular e aspirados de linfonodos poplíteos para a detecção de formas amastigotas de *Leishmania* sp. em lâminas confeccionadas e coradas pelo método de GIEMSA, bem como para a detecção de formas promastigotas de *Leishmania* sp. por meio de semeadura desse mesmo material em meio de cultivo NNN enriquecido com Shneider's. Os meios de cultura foram colocados na câmara incubadora B.O.D., onde foram realizadas três leituras em microscopia óptica, intercaladas, no 5º, 7º e 10º dia após a semeadura.

Avaliação Seminal

Os animais também foram submetidos a exame andrológico, coleta de sêmen e avaliação seminal semanalmente, totalizando quatro semanas. As coletas de sêmen, as avaliações das características macroscópicas (volume, aspecto e cor) e microscópicas (motilidade e vigor espermáticos, concentração e patologias espermáticas) dos ejaculados foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução Animal (LBRA) da UFPI. As análises foram realizadas nos mesmos dias das coletas.

O sêmen foi colhido fracionado, separando a fração prostática da fração rica em espermatozoides e avaliado quanto ao volume (mL), cor, aspecto, motilidade total espermática (0-100%), vigor espermático (0-5), concentração (% de espermatozoides/mL) e morfologia espermática (%). A classificação da morfologia espermática seguiu os padrões pré-estabelecidos por CBRA (2013).

O volume do sêmen foi mensurado no próprio tubo de coleta (tubo falcon de 15mL), em seguida, uma alíquota do sêmen (10µl) foi colocada em lâmina pré-aquecida a 37 °C e, sob microscopia convencional (40x), foram avaliadas a motilidade e o vigor espermáticos.

Para determinação da concentração (número de células por mm³ de sêmen) e da morfologia espermática (número de células anormais em relação às normais), uma alíquota de 10µL do sêmen fresco foi adicionada a 2mL de solução de formaldeído salino, mantendo-se uma diluição de 1/200. A concentração espermática foi determinada pela técnica da Câmara de Neubauer e a morfologia pela técnica de “preparação úmida” sob microscopia de contraste de fases com aumento de 100x. Nesta última, foram avaliados duzentos espermatozoides por lâmina e classificados em defeitos maiores e defeitos menores de acordo com o CBRA (2013).

Análise Estatística

A Análise de variância foi realizada utilizando o programa Assistat versão 7.7 beta (pt), seguida do teste de Tukey para comparação das médias dos parâmetros hematológicos, bioquímicos e seminais. Os resultados foram expressos na forma de média \pm EPM. O nível de significância para todas as análises estatísticas realizadas foi de $p < 0,05$ (5%).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os cães avaliados neste trabalho foram pesados na primeira e na última semana do experimento, sendo que apenas um animal do GI aumentou 0,5kg de peso (A4) e os demais perderam peso, que variou de 0,5 a 2kg, inclusive a perda de peso/emagrecimento foi o segundo sinal clínico mais observado nos cães com LV.

Os seis animais do GI foram representados pela letra A e os seis do GII pela letra B, conforme mostra a Tab. 01.

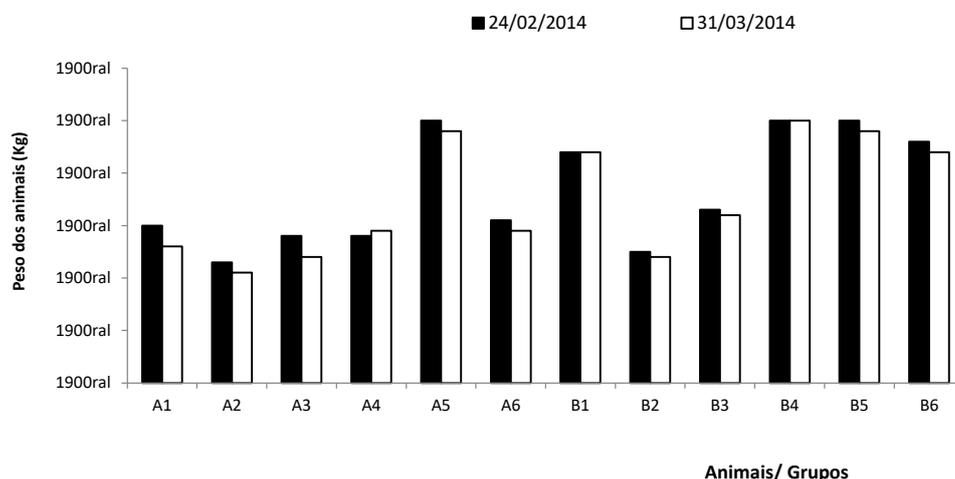


Figura 01: Peso dos cães (kg) avaliados no início e no final do experimento.

Os cães deste trabalho possuíam origem e histórico clínico desconhecidos, por se tratar de cães errantes. Alguns animais do GI já iniciaram o trabalho com sintomatologia e alterações laboratoriais sugestivas de LV previamente ao diagnóstico, o que pode explicar maior perda de peso no decorrer do experimento. Geralmente, cães infectados apresentam perda de peso, atrofia muscular e condição corporal comprometida (DANTAS-TORRES *et al.*, 2012) e alguns animais chegam a emagrecer, apesar de manter o apetite normal (SILVA, 2007), possivelmente essas características clínicas possam ser atribuídas ao processo inflamatório desencadeado pelo próprio parasito na musculatura do animal (FERRARO *et al.*, 2012).

A perda de peso, apesar de pequena (0,5kg), também foi observada em quatro animais do GII após um mês do experimento. A seleção desse grupo levou em consideração apenas o diagnóstico negativo para LV, porém eles podem ter entrado em contato com outros patógenos e manifestado outras enfermidades que não foram detectadas durante este estudo, a exemplo de verminoses, ou até mesmo a condição de confinamento pode ter levado os animais ao estresse, fato que pode ter favorecido a diminuição do peso.

Dentre os sinais clínicos encontrados nos animais desta pesquisa a presença de linfadenomegalia foi o achado mais comum, sendo observado em 100% dos animais no final do experimento, seguido de emagrecimento (83,3%) e onicogrifose (50%) (Fig. 02).

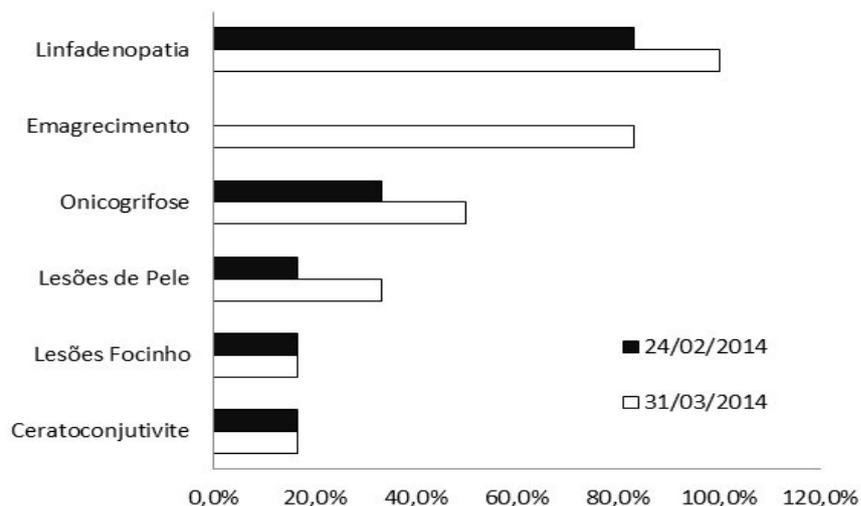


Figura 02: Caracterização clínica dos cães com Leishmaniose Visceral avaliados no início e no final do experimento.

Os sinais clínicos frequentemente observados nos cães parasitados deste trabalho também foram observados por outros autores (ABREU-SILVA *et al.*, 2008; MENDONÇA *et al.*, 2015; CONTRERAS *et al.*, 2019), principalmente linfadenomegalia e emagrecimento. Nesse caso, o aumento dos linfonodos pode estar associado à maior quantidade de células fagocíticas mononucleares que levam à hipertrofia e hiperplasia desse órgão (MALLA e MAHAJAN, 2006). Contudo, a observação do aumento de linfonodos em cães nem sempre pode estar relacionada à LV, sendo necessárias investigações histológicas do órgão afetado.

Durante o período do experimento, os resultados hematológicos foram muito semelhantes nos animais avaliados, com exceção da primeira e da última semana, em que eles apresentaram alterações expressivas e diferenças estatísticas em pelo menos um dos parâmetros. Nos dados das análises hematológicas, observou-se que 04 animais do GI (33,3%) apresentaram anemia normocítica normocrômica no início do trabalho, passando para 100% dos animais no final do experimento. Além da anemia, o achado hematológico mais relevante foi a trombocitopenia em 33,3% dos animais do GI, no qual foi o único parâmetro hematológico que diferiu estatisticamente do GII. Os animais do GII apresentaram a eosinofilia como alteração hematológica mais importante, conforme mostra a Tab. 01.

A anemia é um achado constante em animais com LV (MEDEIROS *et al.*, 2008; ALVES *et al.*, 2015; BRAZ *et al.*, 2015) e ela pode ocorrer por diferentes mecanismos: pela resposta inflamatória provocada pelo parasito; pela eritropoiese diminuída em decorrência do caráter crônico da doença; por perdas sanguíneas; hemólise e diminuição eritrocitária por produção de auto anticorpos que levam ao sequestro hepático e esplênico (IKEDA-GARCIA *et al.*, 2003; NICOLATO *et al.*, 2013).

A trombocitopenia observada em cães infectados pode ser em decorrência de alterações na parede vascular por vasculite provocada por imunocomplexos circulantes, além

de distúrbios de trombocitopoiese, com elevação na destruição plaquetária e presença de imunoglobulinas anti-plaquetas (TERRAZZANO *et al.*, 2006; MEDEIROS *et al.*, 2008).

Tabela 01: Parâmetros hematológicos de cães positivos (GI) e negativos (GII) para LV avaliados no início e no final do experimento ($\chi \pm \text{EMP}$).

Parâmetros	Primeira Semana		Última Semana	
	GI	GII	GI	GII
Eritrócito $\times 10^6/\text{mm}^3$)	5,75 \pm 0,97 ^a	6,12 \pm 0,98 ^a	4,53 \pm 1,12 ^a	5,42 \pm 0,56 ^a
Hemograma (g%)	11,98 \pm 2,24 ^a	13,10 \pm 2,18 ^a	9,97 \pm 2,71 ^a	11,87 \pm 1,06 ^a
Hematócrito (%)	36,87 \pm 7,08 ^a	39,88 \pm 5,87 ^a	28,87 \pm 7,55 ^a	36,30 \pm 4,49 ^a
Leucócitos ($10^3/\text{mm}^3$)	12550 \pm 4944 ^a	11733 \pm 2637 ^a	10633 \pm 5037 ^a	14050 \pm 4323 ^a
Segmentados (%)	69,83 \pm 9,76 ^a	53,33 \pm 18,01 ^a	63,33 \pm 10,21 ^a	64,66 \pm 16,29 ^a
Linfócitos (%)	18,17 \pm 12,59 ^a	23,67 \pm 5,95 ^a	27,50 \pm 10,60 ^a	16,00 \pm 9,36 ^a
Eosinófilos (%)	9,33 \pm 7,03 ^a	12,17 \pm 8,08 ^a	7,50 \pm 5,68 ^a	12,33 \pm 3,50 ^a
Monócitos (%)	2,50 \pm 1,64 ^a	2,50 \pm 2,07 ^a	2,33 \pm 0,52 ^a	6,17 \pm 5,23 ^a
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$)	291,33 \pm 148,82 ^a	282,67 \pm 29,54 ^a	179,00 \pm 73,40 ^a	292,50 \pm 52,12 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos ($p < 0,05$). Valores de Referência*: Eritrócitos = 5,5-8,5; Hemograma = 12-18; Hematócrito = 37-55; Leucócitos = 6000-17000; Segmentados = 60-77; Linfócitos = 12-30; Eosinófilos = 2-10; Monócitos = 3-10; Plaquetas = 200-500. *Segundo Meyer e Harvey (2004).

A eosinofilia apresentada por alguns animais do GII pode ser explicada pela possível presença de outros parasitos não investigados durante o experimento. Abreu-Silva *et al.* (2008) relataram que, ocasionalmente, pode ocorrer eosinofilia em pacientes que sofrem infecção parasitária, principalmente por helmintos, o que pode ter acontecido com os cães do grupo controle, uma vez que se tratava de animais sem histórico de vermifugação.

No decorrer do experimento, os resultados de bioquímica sérica também foram muito semelhantes nos animais avaliados, com exceção da primeira e da última semana, em que os cães apresentaram diferenças estatísticas nos índices de ureia (Tab. 02), sendo o único parâmetro que diferiu significativamente entre os grupos, já os índices de creatinina se mantiveram normais e sem diferença entre os grupos experimentais. Houve inversão na relação albumina/globulina nestes resultados, porém também não houve diferença estatística entre os grupos estudados.

Nos animais do GI houve aumento acentuado nos índices de ureia em dois cães no final do experimento (63,4 e 88,5 mg/dL), o que pode ter aumentado a média do grupo, sendo que este foi o único parâmetro que diferiu estatisticamente dos demais na análise de bioquímica sérica. Alguns trabalhos também mostraram que houve aumento nos valores médios de ureia em cães com LV (ABREU-SILVA *et al.*, 2008; VIEIRA NETO *et al.*, 2011; CÂMARA *et al.*, 2017). Os valores de ureia geralmente encontram-se aumentados em casos de insuficiência renal, desidratação acentuada, catabolismo proteico aumentado e perda muscular (VIEIRA NETO *et al.*, 2011), caracterizando os efeitos oriundos da LV.

Tabela 02: Parâmetros bioquímicos de cães positivos (GI) e negativos (GII) para LV avaliados no início e no final do experimento ($\chi \pm \text{EMP}$).

Parâmetros	Primeira Semana		Última Semana	
	GI	GII	GI	GII
Ureia (mg/dL)	38,03±25,33 ^a	39,45±7,54 ^a	59,23±24,83 ^a	39,07±8,71 ^b
Creatinina (mg/dL)	1,05±0,23 ^a	1,13±0,10 ^a	0,77± 0,08 ^a	0,97±0,22 ^a
Prot. Totais (g/dL)	8,77±1,19 ^a	7,97±1,21 ^a	8,93±1,49 ^a	8,53±1,13 ^a
Albumina (g/dL)	2,32±0,59 ^a	2,18±0,32 ^a	1,75±0,39 ^a	2,07±0,23 ^a
Globulina (g/dL)	6,45±1,03 ^a	5,78±1,48 ^a	6,78±1,66 ^a	6,87±1,27 ^a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos experimentais ($p < 0,05$). Valores de Referência*: Ureia. 21,4-59,92; Creatinina. 0,5-1,5; Prot. Totais. 5,4-7,1; Albumina. 2,6-3,3; Globulina. 2,7-4,4. *Segundo Meyer e Harvey (2004).

É importante lembrar que esse parâmetro ficou no limite, não ultrapassando os valores de referência para a espécie canina no período do experimento, provavelmente em decorrência destes cães estarem assintomáticos ou oligossintomáticos na época do estudo, o que pode implicar que estavam na fase aguda da doença. Wilson *et al.* (2017) mostrou em seus resultados que cães assintomáticos e oligossintomáticos não apresentaram índices elevados de ureia, ao contrário do que foi observado nos cães sintomáticos. Vale ressaltar que uma pesquisa recente revelou que o parasito pode ser eliminado pela urina de cães com LV sem comprometimento renal, uma vez que a ureia e a creatinina destes animais apresentavam-se normais (BATISTA *et al.*, 2020). Possivelmente, estes cães também apresentavam infecção recente ou baixa intensidade de lesões a nível renal.

Outra alteração bioquímica marcante observada em animais com LV é a disproteinemia, conseqüente a uma hiperproteinemia associada à hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia (NICOLATO *et al.*, 2013). A hiperproteinemia e a hipoalbuminemia em cães com LV também foi observada nos resultados de Braz *et al.* (2015) e Mendonça *et al.* (2015), respectivamente. Essa alteração bioquímica é decorrente de uma exacerbação da resposta imune humoral policlonal de linfócitos B, onde se observa um aumento na produção de gamaglobulina, diminuição de albumina e inversão na relação albumina/globulina (IKEDA-GARCIA *et al.*, 2003; ABREU-SILVA *et al.*, 2008).

Quanto às avaliações seminais, as amostras de sêmen fresco dos cães objeto deste estudo, durante as quatro coletas realizadas, apresentaram coloração branco-opalescente com o aspecto leitoso representado por (+++). As médias e desvios-padrão dos parâmetros seminais analisados em cães positivos (GI) e negativos (GII) para LV estão descritos na Tab. 03, evidenciando diferença estatística nos parâmetros de motilidade, vigor espermático, concentração e patologias espermáticas.

Neste trabalho, foi possível observar que os animais parasitados apresentaram diminuição do volume do ejaculado bem como da motilidade espermática no decorrer das coletas. A diminuição do volume do ejaculado do animal pode se dá conforme a evolução da doença e a distribuição dos parasitos nos testículos. Labat *et al.* (2010) mostraram que cães com quadro moderado a severo da LV foram diminuindo o volume do ejaculado,

inclusive, alguns pararam de ejacular após a primeira ou segunda semana de coletas, consequentemente diminuiram a concentração espermática e a motilidade retilínea e progressiva, quando avaliados a fresco.

Tabela 03: Parâmetros do sêmen fresco de cães positivos (GI) e negativos (GII) para LV avaliados durante o experimento ($\chi \pm \text{EMP}$).

Parâmetros	Sêmen Fresco	
	GI	GII
Volume (mL)	0,7±0,24 ^a	0,8±0,29 ^a
Motilidade (%)	80,42±7,50 ^a	87,08±5,50 ^b
Vigor (0-5)	3,17±1,42 ^a	3,37±3,10 ^b
Concentração (x10 ⁶ /mL)	246,7±65,09 ^a	278,6±76,09 ^b
Defeitos Maiores (%)	33,00±23,53% ^a	18,25±18,31% ^b
Defeitos Menores (%)	15,83±8,80% ^a	12,83±16,05% ^a
Defeitos Totais (%)	45,83±28,17% ^a	34,08±23,32% ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística entre os grupos experimentais ($p < 0,05$).

Quanto às patologias espermáticas, os resultados mostraram que houve diferença estatística entre os grupos analisados e os cães do GI apresentaram índice elevado de anormalidades espermáticas, chegando a 33% de defeitos maiores e mais de 45% de defeitos totais. De acordo com o CBRA (2013), se os defeitos totais ultrapassarem 30% das células espermáticas pode haver um maior comprometimento na fertilidade do animal. A Tab. 04 mostra as alterações espermáticas mais frequentemente observadas nos cães deste trabalho.

Tabela 04: Principais alterações na morfologia espermática em cães positivos (GI) e negativos (GII) para LV avaliados durante o experimento

Defeitos	GI (%)	GII (%)	
MAIORES	Cabeça isolada	24	03
	Cauda fortemente dobrada	24	08
	Cauda dobrada com pseudogota	10	03
	Gota proximal	10	02
	Retroaxial	02	00
	<i>Knobbed sperm</i>	02	00
MENORES	Cauda enrolada	26	13
	Gota distal	08	12

Nestes resultados, em um cão do GI foi possível observar porcentagem de defeitos totais em 74,0% das células espermáticas, de forma individual. Segundo os resultados de Labat *et al.* (2010), animais em estágio moderado e avançado da LV apresentaram alterações morfológicas espermáticas com porcentagem de defeitos totais chegando a 96,0%, o que pode prejudicar consideravelmente a qualidade seminal e a fertilidade de cães com a doença.

As alterações de cabeça isolada e de cauda fortemente dobrada (ambas com 24% das células espermáticas dos cães infectados) são consideradas como defeitos maiores, essas alterações causam maiores prejuízos na fertilidade do animal, elas ocorrem durante a maturação espermática e, normalmente, estão relacionadas com alguma condição patológica dos testículos ou epidídimos (BLOM, 1973), possivelmente os cães com LV apresentavam lesões nestes órgãos, em decorrência da enfermidade e isso deve ter condicionado o aumento de patologias espermáticas. Esses defeitos de cauda fortemente dobrada (defeito maior) e cauda enrolada (defeito menor) também foram alterações espermáticas observadas em cães infectados com a *Leishmania* sp. relatadas em outros trabalhos (LABAT *et al.*, 2010; MIR *et al.*, 2012). Inclusive, estes últimos autores consideram que cães com LV subclínica (assintomáticos) devam ser considerados no diagnóstico diferencial de infertilidade.

Algumas doenças sistêmicas podem alterar a qualidade do sêmen canino, a exemplo da LV, pois o parasito pode se disseminar por vários tecidos, podendo chegar aos órgãos reprodutivos. Pesquisas associam a presença de formas amastigotas de *Leishmania* sp. nos órgãos do sistema reprodutivo a lesões inflamatórias que podem, com isso, levar à degeneração testicular, dentre outras patologias de importância na reprodução (DINIZ *et al.*, 2005; BENITES *et al.*, 2011; MELO EVANGELISTA *et al.*, 2019). Vale lembrar que a frequência e a intensidade dessas lesões estão associadas com a carga parasitária presente nos testículos e epidídimos, além da classificação clínica da doença e da condição imunológica do animal (BARROS *et al.*, 2019), portanto, estes órgãos também precisam ser melhor investigados em cães parasitados com LV, principalmente em áreas endêmicas.

CONCLUSÕES

Conclui-se que cães com Leishmaniose Visceral apresentam alterações clínicas, laboratoriais e seminais que podem comprometer a condição geral, a qualidade seminal e, possivelmente, a fertilidade destes animais.

REFERÊNCIAS

ABREU-SILVA, A.L.; LIMA, T.B.; MACEDO, A.A.; MORAES-JÚNIOR, F.J.; DIAS, E.L.; BATISTA, Z.S.; CALABRESE, K.S.; MORAES, J.L.P.; REBÊLO, J.M.M.; GUERRA, R.M.S.N.C. Soroprevalência, aspectos clínicos e bioquímicos da infecção por *Leishmania* em cães naturalmente infectados e fauna de flebotomíneos em uma área endêmica na Ilha de São Luís, Maranhão, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v.17, n.1, p.197-203, 2008.

ALVES, G.B.B.; PINHO, F.A.; SILVA, S.M.M.S.; CRUZ, M.S.P.; COSTA, F.A.L. Cardiac and pulmonary alterations in symptomatic and asymptomatic dogs infected naturally with *Leishmania (Leishmania) chagasi*. Brazilian Journal of Medical and Biological Research, v.43, n.3, p.310-315, 2010.

ALVES, M.M.M.; MENDONÇA, I.L.; BATISTA, J.F.; ROCHA, F.S.B.; SILVA, E.M.C. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi*. PUBVET, v.9, n.4, p.158-162, 2015.

BARROS, A.L.C.; BENITES, A.P.; MATEUS, N.L.F.; FERNANDES, C.E. Histopathological alterations in the reproductive tract of male dogs with Canine Visceral Leishmaniasis. Semina: Ciências Agrárias, v.40, n.2, p.665-676, 2019.

BATISTA, J.F.; VERÇOSA, B.L.A.; ALVES, M.M.M.; ROCHA, F.S.B.; CARVALHO, R.M.A.; PRIANT, M.G.; QUEIROZ, B.C.S.H.; COSTA, C.H.N.; MENDONÇA, I.L. Evaluation of the serum biochemistry and histopathology of kidney and bladder of dogs with *Leishmania* sp. in their urine. Bioscience Journal, v.36, n.3, p.956-967, 2020.

BENITES, A.P.; FERNANDES, C.E.; BRUM, K.B.; ABDO, M.A.G.S. Presença de formas amastigotas de *Leishmania chagasi* e perfil leucocitário no aparelho reprodutivo de cães. Pesquisa Veterinária Brasileira, v.31, n.1, p.72-77, 2011.

BLOM, E. Ultrastructure of some characteristic sperm defects and a proposal for a new classification of bull spermogram. Nordisk Veterinær Medicin, v.25, p.383-391, 1973.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral/ 1ª ed., 5ª reimpressão, Brasília: Ministério da Saúde, 2014. 120p.

BRAZ, P.H.; SARTORETTO, M.C.; SOUZA, A.S.; MELO, F.M.G. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania* spp. Acta Veterinária Brasília, v.9, n.1, p.87-90, 2015.

CÂMARA, C.S.; BALTAZAR, P.I.; GARCEZ, B.S. Alterações laboratoriais renais em cães com Leishmaniose visceral naturalmente infectados. PUBVET, v.11, n.1, p.35-39, 2017.

CBRA. Manual para Exame Andrológico e Avaliação de Sêmen Animal. 3ª ed., Colégio Brasileiro de Reprodução Animal, Belo Horizonte, MG. 2013. 104p.

CONTRERAS, I.K.; MACHADO, M.A.; ROCHA, C.O.J.M.; OLIVEIRA, G.R.; CARVALHO, F.C.G. Sinais clínicos apresentados por cães positivos para Leishmaniose visceral no município de Vassouras, Rio de Janeiro. PUBVET, v.13, n.4, p.1-6, 2019.

DANTAS-TORRES, F.; SOLANO-GALLEGO, L.; BANETH, G.; RIBEIRO, V.M.; PAIVA-CAVALCANTI, M.; OTRANTO, D. Canine leishmaniosis in the Old and New Worlds: unveiled similarities and differences. Trends in Parasitology, v.28, n.12, p.531-538, 2012.

DINIZ, S.A.; MELO, M.S.; BORGES, A.M.; BUENO, R.; REIS, B.P.; TAFURI, W.L.; NASCIMENTO, E.F.; SANTOS, R.L. Genital lesions associated with visceral leishmaniasis

and shedding of *Leishmania* sp. in the semen of naturally infected dogs. *Veterinary Pathology*, v.42, n.5, p.650-658, 2005.

FERRARO, G.C.; MACHADO, G.F.; LAURENTI, M.D.; BUENO DE CAMARGO, M.H.; GOMES, A.A.D.; COSTA, D.C.; VIEIRA, C.M.; SIMÕES, C.B.; LIMA, V.M.F.; MARCONDES, M. Alterações eletromiográficas e histopatológicas da musculatura de cães naturalmente infectados por *Leishmania infantum*. *Brazilian Journal Veterinary Research Animal Science*, v.49, n.5, p.404-413, 2012.

FREITAS, M.V.M.; BRUN, C.F.L.; RODRIGUES, M.C.; ALVES, G.B.B.; LEAL, A.F.; SILVA, E.M.C.; GROLLI, L.; QUESSADA, A.M. Ocular diseases in dogs naturally affected by visceral leishmaniasis in Teresina, Piauí, Brazil. *Ciência Rural*, v.47, n.10, p.1-8, 2017.

GIANNUZZI, A.P.; RICCIARDI, M.; DE SIMONE, A.; GERNONE, F. Neurological manifestations in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*: descriptions of 10 cases and a review of the literature. *Journal of Small Animal Practice*, v.58, p.125-138, 2017.

IKEDA-GARCIA, F.A.; CIARLINI, P.C.; FEITOSA, M.M.; GONÇALVES, M.E.; LUZIVOTTO, M.C.R.; LIMA, V.M. Perfil hematológico de cães naturalmente infectados por *Leishmania chagasi* no município de Araçatuba, São Paulo: estudo retrospectivo de 191 casos. *Clínica Veterinária*, v.47, p.42-47, 2003.

LABAT, E.; CARREIRA, J.T.; MATSUKUMA, B.H.; MARTINS, M.T.A.; LIMA, V.M.F.; BOMFIM, S.R.M.; PERRI, S.H.V.; KOIVISTO, M.B. Qualidade espermática de sêmen de cães naturalmente infectados por *Leishmania* sp. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, v.62, n.3, p.609-614, 2010.

MALLA, N.; MAHAJAN, R.C. Pathophysiology of visceral leishmaniasis – some recente concepts. *Indian Journal of Medical Research*, v.123, p.267-274, 2006.

MANCIANTI, F.; GRAMICCIA, M.; GRADONI, L.; PIERI, S. Studies on canine leishmaniasis control: Evolution of infection of different clinical forms of canine leishmaniasis following antimonial treatment. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, v.82, p.566–567, 1988.

MEDEIROS, C.M.O.; MELO, A.G.C.; LIMA, A.K.F.; SILVA, I.N.G.; OLIVEIRA, L.C.; SILVA, M.C. Perfil hematológico de cães com Leishmaniose visceral no município de Fortaleza, Ceará. *Ciência Animal*, v.18, p.43-50, 2008.

MENDONÇA, I.L.; ALVES, M.M.M.; BATISTA, J.F.; ROCHA, F.S.B.; SILVA, E.M.C. Alterações bioquímicas e hematológicas em cães naturalmente infectados por *Leishmania (infantum) chagasi*. *Clínica Veterinária*, v.116, p.78-84, 2015.

MEYWE, D.J.; HARVEY, J.W. *Veterinary laboratory medicine: interpretation & diagnosis*. 2ªed., Philadelphia: Saunders, 2004. 351p.

MIR, F.; FONTAINE, E.; REYES-GOMEZ, E.; CARLUS, M.; FONTBONNE, A. Subclinical leishmaniasis associated with infertility and chronic prostatitis in a dog. *Journal of Small Animal Practice*, v.53, p.419-422, 2012.

NICOLATO, R.C.; ABREU, R.T.; ROATT, B.M.; AGUIAR-SOARES, R.D.O.; REIS, L.E.S.; CARVALHO, M.G.; CARNEIRO, C.M.; GIUNCHETTI, R.C.; BOUILLET, L.E.M.; LEMOS, D.S.; COURA-VITAL, W.; REIS, A.B. Clinical Forms of Canine Visceral Leishmaniasis in Naturally *Leishmania infantum*- Infect Dogs and Related Myelogram and Hemograma Changes. Plos One, v.8, n.12, p.1-9, 2013.

SILVA, F.L. Lesões genitais em cadelas naturalmente infectadas com *Leishmania chagasi* e soroconversão de cadelas acasaladas com cães portadores. 2007. 47p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) – Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2007.

SOLANO-GALLEGO, L.; MIRÓ, G.; KOUTINAS, A.; CARDOSO, L.; PENNISI, M.G.; FERRER, L.; BOURDEAU, P.; OLIVA, G.; BANETH, G. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. Parasites & Vectors, v.4, n.86, p.1-16, 2011.

TERRAZZANO, G.; CORTESE, L.; PIANTEDOSI, D.; ZAPPACOSTA, S.; DI LORIA, A.; SANTORO, D.; RUGGIERO, G.; CIARAMELLA, P. Presence of anti-platelet IgM and IgG antibodies in dogs naturally infected by *Leishmania infantum*. Veterinary Immunology and Immunopathology, v.110, n.3-4, p.331-337, 2006.

TORRENT, E.; LEIVA, M.; SEGALÉS, J.; FRANCH, J.; PENA, T.; CABRERA, B.; PASTOR, J. Myocarditis and generalised vasculitis associated with leishmaniosis in a dog. Journal of Small Animal Practice, v.46, n.11, p.549-552, 2005.

VIEIRA NETO, F.A.; SOUSA, A.K.S.; MARQUES, M.V.; ARRUDA, D.S.; SILVA, L.A. Avaliação de parâmetros bioquímicos em cães infectados por *Leishmania chagasi*. Revista de Ciências da Saúde, v.13, n.2, p.131-140, 2011.

WILSON, T.M.; MAGALHÃES, L.F.; MEDEIROS, A.A.; FURQUIM, M.E.C. Alterações macroscópicas em cães sororreagentes para *Leishmania chagasi* e sua correlação com teste parasitológico. Veterinária Notícias, n.18, v.2, p.20-25, 2012.

WILSON, T.M.; MAGALHÃES, L.F.; SOUZA, R.R.; MEDEIROS-RONCHI, A.A.; LIMONGI, J.E. Renal lesions in dogs naturally infected with *Leishmania infantum*. Bioscience Journal, v.33, n.4, p.990-995, 2017.