

Leishmaniose Visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas

Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects

Célia Maria Ferreira Gontijo

Laboratório de Leishmanioses
Centro de Pesquisas René Rachou
Fundação Oswaldo Cruz

Av. Augusto de Lima, 1715 - Barro Preto
30190-002 Belo Horizonte, MG - Brasil
gontijo@cpqrr.fiocruz.br

Maria Norma Melo

Laboratório de Biologia de *Leishmania*
Departamento de Parasitologia
Instituto de Ciências Biológicas
Universidade Federal de Minas Gerais

Resumo

No Brasil, a importância da leishmaniose visceral reside não somente na sua alta incidência e ampla distribuição, mas também na possibilidade de assumir formas graves e letais quando associada ao quadro de má nutrição e infecções concomitantes. A crescente urbanização da doença ocorrida nos últimos 20 anos coloca em pauta a discussão das estratégias de controle empregadas. Neste artigo foram analisados os principais aspectos biológicos, ambientais e sociais que influenciaram no processo de expansão e urbanização dos focos da doença. Os métodos disponíveis para o diagnóstico e tratamento não apresentam a eficácia e aplicabilidade desejadas, embora avanços promissores tenham sido alcançados com as pesquisas de novos testes diagnósticos e drogas terapêuticas. As medidas de controle da doença até agora implementadas foram incapazes de eliminar a transmissão e impedir a ocorrência de novas epidemias. É feita uma breve análise destas medidas e dos desafios a serem enfrentados. A prevenção da doença nos cães através da imunoprofilaxia aparece como uma alternativa para o controle. Uma nova vacina para cães, já testada em campo, está sendo industrializada e será comercializada no Brasil a partir de 2004. Apesar da existência de inúmeros estudos sobre a leishmaniose visceral humana e canina, muitas lacunas ainda precisam ser preenchidas.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral no Brasil. Profilaxia. Programa de controle. Desafios e perspectivas.

Abstract

Visceral leishmaniasis has assumed an increasing importance in Brazil due to its high incidence and wide geographical distribution. When associated with malnutrition and co-infections it can prove to be fatal. A notable increase in transmission rates related to urbanization has been observed in the past 20 years. A combination of measures is needed to define new methods for reducing transmission. This paper analyzes the main biological, environmental and social aspects that have influenced the spread and urbanization of the disease. The diagnostic tests and drugs available have been shown to be insufficient in both applicability and efficiency. Significant advances have been made in the areas of pathogenesis, diagnosis and treatment, and they are discussed. Current control measures are unable to eliminate and prevent new outbreaks and a brief report is presented on the challenges faced. Vaccines against human and canine visceral leishmaniasis are being investigated, and there is hope that the first visceral leishmaniasis vaccine for dogs will become available in Brazil next year. Here we review these developments and identify priorities for research.

Key Words: Visceral leishmaniasis in Brazil. Prophylaxis. Control program. Challenges and prospects.

Introdução

A leishmaniose visceral (LV), ou calazar, é uma doença crônica grave, potencialmente fatal para o homem, cuja letalidade pode alcançar 10% quando não se institui o tratamento adequado. É causada por espécies do gênero *Leishmania*, pertencentes ao complexo *Leishmania (Leishmania) donovani*¹. No Brasil, o agente etiológico é a *L. chagasi*, espécie semelhante à *L. infantum* encontrada em alguns países do Mediterrâneo e da Ásia. Existe uma grande polêmica em torno da origem da LV no Novo Mundo – se ela foi introduzida recentemente, na época da colonização européia e causada pela espécie *L. infantum*, ou há vários milhões de anos, juntamente com a introdução dos cães, devendo a espécie ser classificada como *L. chagasi*. Os achados de altas taxas de infecção em cães originários da Amazônia sugerem a origem autóctone². Entretanto, estudos utilizando técnicas bioquímicas e moleculares consideram a *L. chagasi* e a *L. infantum* uma única espécie e aceitam a hipótese de origem recente nas Américas³.

A ocorrência da doença em uma determinada área depende basicamente da presença do vetor susceptível e de um hospedeiro/reservatório igualmente susceptível. A possibilidade de que o homem, principalmente crianças desnutridas, venha em alguns casos a ser fonte de infecção pode conduzir a um aumento na complexidade da transmissão da LV.

No Brasil, a LV clássica acomete pessoas de todas as idades, mas na maior parte das áreas endêmicas 80% dos casos registrados ocorrem em crianças com menos de 10 anos. Em alguns focos urbanos estudados existe uma tendência de modificação na distribuição dos casos por grupo etário, com ocorrência de altas taxas também no grupo de adultos jovens⁴.

A principal forma de transmissão do parasita para o homem e outros hospedeiros mamíferos é através da picada de fêmeas de dípteros da família Psychodidae, sub-família Phebotominae, conhecidos genericamente por flebotomíneos. A *Lutzomyia*

(Lutzomyia) longipalpis é a principal espécie transmissora da *L. chagasi* no Brasil. Recentemente incriminou-se a *L. cruzi* como vetor em foco no estado de Mato Grosso do Sul⁵.

Os hospedeiros silvestres da *L. chagasi* até agora conhecidos são as raposas e os marsupiais. Duas espécies de raposas foram encontradas naturalmente infectadas: *Lycalopex vetulus* no Ceará⁶; e *Cerdocyon thous* no Pará⁷ e em Minas Gerais⁸. *L. chagasi* foi isolada em marsupiais do gênero *Didelphis* na Bahia⁹ e no Rio de Janeiro¹⁰. O fato destes animais possuírem hábitos sinantrópicos poderia promover a ligação entre os ciclos silvestre e doméstico. No ambiente doméstico, o cão é considerado um importante hospedeiro e fonte de infecção para os vetores, sendo um dos alvos nas estratégias de controle. Entretanto, para se determinar o papel destes animais na manutenção da transmissão da LV, são necessários maiores estudos.

O primeiro relato de LV no Brasil foi feito em 1934, quando foram encontradas amastigotas de *Leishmania* em cortes histológicos de fígado de pessoas que morreram com suspeita de febre amarela¹¹. Somente 20 anos depois é que se registrou o primeiro surto da doença em Sobral, no Ceará⁶. Em meados dos anos 80, constatou-se uma transformação drástica na distribuição geográfica da LV. A doença, antes restrita às áreas rurais do nordeste brasileiro, avançou para outras regiões indenes alcançando inclusive a periferia de grandes centros urbanos. Em 19 dos 27 estados brasileiros já foram registrados casos autóctones de LV. Nos últimos cinco anos, ocorreram em média 3.500 casos humanos novos, sendo a maioria na região Nordeste do país. A partir dos anos 90, os estados Pará e Tocantins (região Norte), Mato Grosso do Sul (região Centro Oeste) e Minas Gerais e São Paulo (região Sudeste) passaram a influir de maneira significativa nas estatísticas da LV no Brasil¹².

Com a expansão da área de abrangência da doença e o aumento significativo no número de casos, a LV passou a ser considerada pela Organização Mundial da Saúde uma das prioridades dentre as doenças tropicais.

Atualmente, a LV é endêmica em 62 países, com um total estimado de 200 milhões de pessoas sob risco de adquirirem a infecção. Aproximadamente 90% dos casos ocorrem em 5 países: Índia, Bangladesh, Nepal, Sudão e Brasil¹³. A doença atinge principalmente as populações pobres desses países. Embora existam métodos de diagnóstico e tratamento específicos, grande parte da população não tem acesso a estes procedimentos, elevando os índices de mortalidade.

Nos países endêmicos, a LV continua negligenciada pelo setor privado da economia e tem cabido ao setor público, apesar dos recursos escassos e infraestrutura inadequada, investir no desenvolvimento de novas drogas e métodos de diagnóstico mais eficientes.

Diagnóstico da Infecção Humana e Canina

Diferentes técnicas podem ser utilizadas para o diagnóstico de leishmaniose visceral humana e canina. Muitos avanços têm ocorrido nos últimos anos, mas a despeito do grande número de testes disponíveis para o diagnóstico da LV, nenhum apresenta 100% de sensibilidade e especificidade.

Nos casos humanos, o diagnóstico é rotineiramente realizado com base em parâmetros clínicos e epidemiológicos. Entretanto, um diagnóstico definitivo requer a demonstração do parasita através de métodos parasitológicos.

O diagnóstico clínico é complexo, pois a doença no homem pode apresentar sinais e sintomas que são comuns a outras patologias presentes nas áreas onde incide a LV, como, por exemplo, Doença de Chagas, Malária, Esquistossomose, Febre Tifóide e Tuberculose. Pacientes com LV apresentam febre prolongada, esplenomegalia, hepatomegalia, leucopenia, anemia, hipergamaglobulinemia, tosse, dor abdominal, diarreia, perda de peso e caquexia.

O diagnóstico clínico da LV canina é muitas vezes um problema para o veterinário. Há um amplo espectro de sinais clínicos, desde animais aparentemente saudáveis, passando por oligossintomáticos, até estágios seve-

ros da doença. Uma característica importante é a permanência da doença clinicamente inaparente por longos períodos. Nos cães, a doença é sistêmica crônica e pode levar o animal à morte. Dependendo da fase da doença e das condições imunológicas, muitos cães infectados se apresentam assintomáticos. Entretanto, já foi demonstrado que cães infectados, mesmo assintomáticos, são fonte de infecção para os flebotomíneos e, conseqüentemente, têm papel ativo na transmissão de *Leishmania*¹⁴. Estudos dos fatores de risco para a LV canina no Brasil até o momento não evidenciaram predisposição sexual, racial ou etária relacionada com a infecção. Entretanto, acredita-se que as raças miniaturas sejam menos afetadas por viverem dentro dos domicílios¹⁵. Na Europa, há estudos mostrando resultados controversos em relação a estas variáveis¹⁶.

Diagnóstico parasitológico

A demonstração do parasito pode ser feita em material de biópsia ou punção aspirativa do baço, fígado, medula óssea ou linfonodos. O material obtido é utilizado para a confecção de esfregaço ou impressão em lâminas, histologia, isolamento em meios de cultura ou inoculação em animais de laboratório. A especificidade destes métodos é de 100%, mas a sensibilidade é muito variável, pois a distribuição dos parasitas não é homogênea no mesmo tecido. A sensibilidade mais alta (98%) é alcançada quando se utiliza aspirado do baço. As punções esplênicas e de medula óssea são consideradas procedimentos invasivos e exigem ambientes apropriados para a coleta, não sendo procedimentos adequados para estudos epidemiológicos em larga escala, e muitas vezes são também inadequados para diagnósticos individuais¹⁷.

A pesquisa de parasitas no sangue periférico pode ser utilizada sobretudo em pacientes infectados com HIV¹⁸.

Diagnóstico imunológico

A LV é caracterizada por uma marcada estimulação policlonal de linfócitos B, que

resulta em hipergamaglobulinemia e grande produção de anticorpos, o que facilita o diagnóstico através de testes sorológicos, evitando os métodos parasitológicos, que são invasivos.

Diferentes técnicas sorológicas têm sido utilizadas no diagnóstico da LV humana e canina. Os testes diferem em sua sensibilidade e especificidade, na sua aplicação prática nas condições de campo e na disponibilidade de reagentes. Os testes têm limitações, podem permanecer positivos durante longo tempo após o tratamento, não permitindo avaliação do efeito da terapia e podendo ocorrer reações cruzadas com outras doenças. Como há infecções sub-clínicas, um teste positivo necessariamente não indica doença ativa. Os clínicos e os epidemiologistas sempre solicitam exames sorológicos para confirmar o diagnóstico e esperam que os resultados sejam confiáveis, sendo a especificidade e sensibilidade dos testes características essenciais para isto.

Atualmente são usados os testes de aglutinação direta (DAT), reação de imunofluorescência indireta (RIFI) e ensaio imunoenzimático (ELISA), que utilizam antígenos brutos e são limitados em termos de especificidade e reprodutibilidade¹⁷.

Na última década, o DAT tem mostrado em vários estudos sensibilidade de 91 a 100% e especificidade de 72 a 100%. A técnica combina altos níveis de validade intrínseca e facilidade de execução, embora apresente problemas na padronização e controle de qualidade do antígeno e não tenha valor no prognóstico da doença¹⁹. Uma variação da DAT, o FAST (Fast Agglutination Screening Test), vem sendo testada para aplicabilidade em situações epidêmicas e para inquéritos populacionais²⁰.

No Brasil, os testes mais utilizados no diagnóstico de LV humana e canina são a RIFI e ELISA, sendo considerados, sobretudo este último, testes de escolha para inquéritos populacionais.

A RIFI apresenta baixa especificidade, exige na sua execução pessoal treinado, é uma reação dispendiosa e não está adaptada para estudos epidemiológicos em larga escala.

Uma das principais limitações da técnica é a ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar, doença de Chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar¹⁷. Isto dificulta a interpretação dos dados epidemiológicos, pois no Brasil ocorre superposição da LV, sobretudo com leishmaniose tegumentar e doença de Chagas.

O teste de ELISA é o mais utilizado para imunodiagnóstico de leishmaniose visceral. É um teste rápido, de fácil execução e leitura, sendo um pouco mais sensível e um pouco menos específico que a RIFI. O teste é sensível, permitindo a detecção de baixos títulos de anticorpos, mas é pouco preciso na detecção de casos subclínicos ou assintomáticos²¹. Funciona igualmente bem para o diagnóstico da LV canina²².

Os antígenos utilizados nos testes diagnósticos são quase sempre derivados de promastigotas de cultura, parasitas intactos ou moléculas solúveis. Estes antígenos apresentam reações cruzadas com outras espécies da família Trypanosomatidae, e mesmo com microrganismos filogeneticamente distantes¹⁷. Portanto, no diagnóstico sorológico da LV é necessário considerar o diagnóstico diferencial com outras doenças.

A pesquisa de novos antígenos

Deve ser dada ênfase à pesquisa de componentes antigênicos purificados que possam ser utilizados como ferramenta para obtenção de um diagnóstico específico, assegurando maior sensibilidade e especificidade aos testes.

Vários antígenos com diferentes massas moleculares têm sido identificados. O antígeno Anti-66KDa mostra especificidade de 100%, mas sensibilidade de apenas 37%²³. Um complexo antigênico fucose-manose ligante (FM-ELISA), descrito para o complexo *Leishmania donovani* foi testado no diagnóstico e prognóstico do calazar humano e canino. O maior componente do antígeno, uma glicoproteína de 36KDa-GP36, produz 100% de sensibilidade e 96% de especificidade quando usado no teste de ELISA. Por se tratar de um complexo de glicoproteínas de

superfície, o antígeno possui alta estabilidade, o que o torna um bom candidato para trabalhos em larga escala²⁴.

Recentemente, um antígeno obtido de promastigotas de *L. major*-like mostrou 100% de especificidade e 92% de sensibilidade para diagnosticar LV humana e canina, sem reações cruzadas com várias doenças incluindo leishmaniose tegumentar²⁵.

Os antígenos purificados têm mostrado maior sensibilidade que os antígenos brutos, mas sua preparação muitas vezes demorada pode requerer métodos sofisticados de purificação. Antígenos recombinantes são mais fáceis de obter e alguns já se encontram disponíveis para o diagnóstico da LV humana e canina. O antígeno A2, uma família de proteínas expressada em amastigotas, foi testado na Índia e no Sudão, com 60% e 82% de reatividade, respectivamente. No Brasil mostrou 77% de reatividade em pacientes com LV e 87% em cães com teste de RIFI positivo²⁶.

Outro antígeno recombinante bem estudado e já testado no Brasil é o rK39, específico para as espécies do complexo *L. donovani*. Este antígeno, quando empregado no ELISA, mostrou 100% de especificidade e 98% de sensibilidade²⁷. Uma importante característica deste antígeno é que ele pode ser empregado em pacientes co-infectados com HIV, nos quais os níveis de anticorpos contra rK39 declinam rapidamente com o sucesso do tratamento²⁸.

Um teste imunocromatográfico simples e rápido, baseado na reação do soro ou sangue do paciente, foi desenvolvido utilizando-se o rK39 fixado em papel (Teste Rápido Anticorpo *Leishmania donovani* - TRALd)²⁹. O teste mostrou 100% de sensibilidade quando aplicado na Índia³⁰ e 67% no Sudão³¹. O TRALd pode apresentar reação cruzada com malária, febre tifóide e tuberculose. No Brasil, quando aplicado em cães de área endêmica, a sensibilidade foi de 92% e a especificidade de 99,5%. Entretanto, o teste não foi capaz de detectar infecção nos animais com títulos de RIFI baixos de 1:40 até 1:320³². Apesar das limitações apresentadas, o teste parece ser promissor para uso em programas

de saúde pública, pois requer pequena quantidade de sangue periférico, é de rápida execução e leitura (10 minutos) e pode ser utilizado em condições de campo. Recentemente, o teste foi modificado sendo acrescentado do antígeno recombinante rK26 do complexo *L. donovani*, que também reconhece anticorpos específicos para espécies deste complexo³⁹. Na avaliação do novo TRALd foi observado que indivíduos assintomáticos negativos ao rK39 mostraram-se positivos com o rK26, concluindo-se que o novo TRALd amplia a sensibilidade do teste³⁴.

Nos testes diagnósticos para LV tem sido utilizado soro de pacientes, enquanto a coleta de sangue em papel filtro tem sido usada em inquéritos populacionais para estudos epidemiológicos^{35,36}. Nos inquéritos caninos este é o método de escolha, pois apresenta as vantagens de ser de coleta simples e fácil armazenamento, além de poder ser usado em larga escala.

A detecção de antígenos do parasita é um método ideal de diagnóstico principalmente quando os níveis de anticorpos circulantes são baixos, como é o caso dos pacientes imunossuprimidos. Entretanto, a pesquisa de antígenos em soro de pacientes com altos níveis de anticorpos é dificultada pela presença dos imunocomplexos, fatores reumatóides e autoanticorpos. Alguns métodos para a detecção de antígenos na urina de pacientes com LV de diferentes áreas geográficas apresentaram bons resultados, mas a detecção de casos assintomáticos não foi confirmada³⁷. Uma das vantagens apresentadas é que os antígenos não foram detectados depois da terceira semana de tratamento, sugerindo um bom valor prognóstico³⁸. Entretanto, não existe ainda um sistema disponível com comprovada aplicabilidade.

Métodos moleculares como instrumento epidemiológico e de diagnóstico da LV

A partir da década de 80, várias técnicas de biologia molecular foram desenvolvidas para a detecção e identificação precisa dos parasitas do gênero *Leishmania*, sem necessidade de isolamento do parasita em cultura.

Métodos de hibridização com sondas específicas e técnicas de amplificação de ácidos nucleicos, incluindo a reação em cadeia da polimerase - transcriptase reversa (RT-PCR) para detecção de RNA e PCR para detecção de DNA, estão disponíveis para identificação do parasita. Diferentes tipos de amostras biológicas, tais como aspirados esplênicos, de medula óssea, de linfonodos, sangue total, camada leucocitária, cultura e sangue coletado em papel-filtro, podem ser utilizados como fonte de material para as reações³⁹.

A hibridização do DNA foi o primeiro método de biologia molecular desenvolvido para diagnóstico. Sua especificidade é alta, mas sua sensibilidade é baixa⁴⁰. Vários sistemas baseados em PCR têm sido desenvolvidos para *Leishmania*⁴¹. O melhor alvo para PCR e para as sondas de DNA tem sido o DNA presente nos minicírculos do kDNA da região conservada ou a amplificação do minicírculo completo.

Nos estudos com LV, a PCR tem sido utilizada com várias finalidades além do diagnóstico, tais como o monitoramento do tratamento e estudos epidemiológicos. Esta técnica tem sido descrita como um método sensível para a detecção do parasita, independente da imunocompetência ou da história clínica do paciente⁴⁰. Muitos centros de pesquisas têm avaliado o uso da PCR para o diagnóstico de LV utilizando o sangue periférico, considerando que a biópsia esplênica e a punção de medula óssea não são técnicas adequadas para uso fora do ambiente hospitalar⁴². Apesar de ser um método sensível para a detecção de *Leishmania* em uma variedade de materiais clínicos de humanos e cães, a PCR é mais usada em estudos epidemiológicos do que no diagnóstico de rotina⁴³. Para utilização em larga escala, a PCR necessita de ajustes para se tornar mais simples e com custo operacional mais baixo.

Na era pós-genômica há um número crescente de seqüências de nucleotídeos de DNA de *Leishmania*, obtidos não só no projeto genoma, mas também de trabalhos individuais. Esses dados podem ser utilizados para estudar a função de diversos genes, podendo

esclarecer aspectos da relação hospedeiro/parasita e eventualmente ser utilizados como instrumento de diagnóstico e ainda indicar possíveis alvos quimioterápicos.

Tratamento

Por mais de sessenta anos, o tratamento das leishmanioses vem sendo realizado com antimoniais pentavalentes: antimoniato de N-metil glucamina-Glucantime® e estibogluconato de sódio-Pentostan®, que são os medicamentos de primeira escolha para o tratamento. Estas drogas são tóxicas, nem sempre efetivas, e na LV são usadas em esquemas prolongados. O principal efeito colateral do glucantime é sua ação sobre o aparelho cardiovascular, sendo desaconselhável sua utilização durante os dois primeiros trimestres de gravidez. Como tratamentos alternativos no Brasil, são utilizadas a anfotericina B e suas formulações lipossomais (anfotericina B - lipossomal e anfotericina B - dispersão coloidal), as pentamidinas (sulafto e mesilato) e os imunomoduladores (interferon gama e GM-CSF). Com exceção das duas primeiras drogas, as demais se encontram ainda em fase de investigação. A utilização destas drogas só deve ser realizada em hospitais de referência⁴⁴. Dados recentes indicam que a resistência aos antimoniais tem se tornado um problema na Índia e no Sudão. No entanto, a quimioterapia das leishmanioses está mais promissora atualmente do que há alguns anos, com novas drogas e novas formulações para as drogas que já vinham sendo utilizadas⁴⁵. O desenvolvimento de anfotericina B encapsulada em lipossomas (AmBisome) tem mostrado bons resultados, com cura de 90-95% na Índia. O miltefosine, uma droga desenvolvida como um agente antitumoral, mostrou 95% de cura efetiva em estudo no calazar indiano. Esta droga apresenta a vantagem de ser de uso oral e bem tolerada, embora seja potencialmente teratogênica, o que limita a sua utilização por grávidas e nutrízes⁴⁶. As novas drogas, principalmente AmBisome e miltefosine, têm mudado o perfil do tratamento da LV,

mas o custo das novas terapias leva a diferentes práticas de tratamento, de acordo com a condição socioeconômica e cultural de cada região⁴⁷.

O processo de expansão e urbanização

O Brasil enfrenta atualmente a expansão e urbanização da LV com casos humanos e grande número de cães positivos em várias cidades de grande e médio porte. O ciclo de transmissão, que anteriormente ocorria no ambiente silvestre e rural, hoje também se desenvolve em centros urbanos. Duas décadas após o registro da primeira epidemia urbana em Teresina, no Piauí⁴⁸, o processo de urbanização se intensificou com a ocorrência de importantes epidemias em várias cidades da região Nordeste (São Luís, Natal e Aracaju), Norte (Boa Vista e Santarém), Sudeste (Belo Horizonte e Montes Claros) e Centro Oeste (Cuiabá e Campo Grande)¹².

Belo Horizonte, capital do estado de Minas Gerais, ilustra claramente o processo de urbanização da LV nas cidades brasileiras. Desde 1993, a cidade convive com a leishmaniose visceral, introduzida a partir de um município vizinho. A proximidade entre as habitações, a alta densidade populacional e a grande suscetibilidade da população à infecção contribuíram para a rápida expansão da LV no ambiente urbano. De fato, na Região Metropolitana de Belo Horizonte, o percentual de municípios com notificação elevou-se de 6 no biênio 94/95 para 15 no biênio 98/99⁴⁹. As medidas de controle implementadas foram ineficientes, tanto na eliminação da transmissão como na prevenção de novas epidemias.

Pelo fato da urbanização ser um fenômeno relativamente novo, pouco se conhece sobre a epidemiologia da LV nos focos urbanos. As relações entre os componentes da cadeia de transmissão no cenário urbano parecem ser bem mais complexas e variadas do que no rural.

Nas últimas décadas ocorreram profundas mudanças na estrutura agrária do Brasil, que resultaram na migração de grande contingente populacional para centros ur-

banos. Segundo dados do IBGE, 85% da população do país vive em área urbana, o que cria condições favoráveis para a emergência e reemergência de doenças, entre elas o calazar. Associado a isto há ainda um complexo de fatores, como mudanças ambientais e climáticas, redução dos investimentos em saúde e educação, descontinuidade das ações de controle, adaptação do vetor aos ambientes modificados pelo homem, fatores pouco estudados ligados aos vetores (variantes genéticas), e novos fatores imunossupressivos, tais como a infecção pelo HIV e dificuldades de controle da doença em grandes aglomerados urbanos, onde problemas de desnutrição, moradia e saneamento básico estão presentes.

Apesar de ser uma doença de notificação compulsória, os dados disponíveis são baseados na detecção passiva de casos. O número de pessoas expostas à infecção ou infectadas sem sintomas é em algumas áreas muito maior do que o número de casos detectado³⁶. A ocorrência nas áreas urbanas de infecções subclínicas decorrentes da permanente exposição do homem às picadas infectantes prenuncia um grave problema associado à circulação do vírus HIV, podendo transformar a LV em parasitose oportunista⁵⁰. Realmente, a LV apresenta comportamento diferente na co-infecção com HIV, que se reflete principalmente na resposta irregular ao tratamento e alteração do padrão diagnóstico. Tem sido constatado o crescente número de casos de co-infecção *Leishmania*/HIV em áreas urbanas do Brasil, levando ao aparecimento de nova forma de transmissão pelo compartilhamento de agulhas contaminadas, com risco de instalação do ciclo antroponótico artificial¹².

O processo de expansão geográfica e urbanização da LV conduzem à necessidade de se estabelecer medidas mais eficazes de controle. Na maior parte dos estudos sobre epidemias urbanas tem sido relatado o encontro de cães infectados^{4,10}, e em algumas áreas foi possível observar que a LV canina precedeu o aparecimento da doença humana⁵¹. Entretanto, há questionamentos sobre se a LV canina é realmente um fator de risco

para a LV humana. Não há concordância entre os pesquisadores de que a LV canina seja causa necessária para a LV humana, embora a maioria dos estudos até agora realizados apontem nessa direção. Esta é uma questão que necessita de maiores estudos para ser inteiramente esclarecida.

Estratégias de controle: desafios e perspectivas

O início do programa de controle no Brasil remonta à década de 50 e tinha como objetivo quebrar os elos epidemiológicos da cadeia de transmissão da doença. Entretanto, diante da falta de evidências de que as medidas até então empregadas conduziam a um impacto positivo na redução da incidência da doença humana no país, o Ministério da Saúde/FUNASA convocou em 2000 um comitê de especialistas para, juntamente com a Gerência do Programa, reavaliar as estratégias de controle empregadas e redirecionar as ações de controle visando a racionalização da atuação⁵². Este aprimoramento vem sendo realizado com base em evidências encontradas na literatura científica e de ordem operacional, dentre elas:

- falta de padronização dos métodos de diagnóstico da infecção humana e canina;
- discordância entre os estudos que avaliam o impacto da eliminação de cães soropositivos na prevalência da infecção humana;
- demonstração de que outros reservatórios podem ser fonte de infecção da *L. chagasi*, como os canídeos silvestres e os marsupiais;
- escassez de estudos sobre o impacto das ações de controle dirigidas contra os vetores.

Um programa de controle foi proposto para ser aplicado nas áreas consideradas de risco, aglomerados urbanos ou rurais, onde critérios epidemiológicos, ambientais e sociais servirão de base para a delimitação da área a ser trabalhada, tendo como indicador a ocorrência de casos humanos. O controle integrado dará ênfase à atenção ao homem,

com capacitação de pessoal técnico e profissionais de saúde para diagnóstico e tratamento, lembrando que as demais medidas de controle devem estar sempre integradas para que possam ser efetivas. A vigilância epidemiológica é um dos componentes do Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) que visa reduzir as taxas de letalidade e o grau de morbidade através do diagnóstico e tratamento precoce dos casos humanos, bem como da diminuição dos riscos de transmissão mediante controle da população de reservatórios e vetores. O novo enfoque do PCLV incorpora áreas sem ocorrência de casos humanos ou caninos da doença nas ações de vigilância e controle, objetivando evitar ou minimizar a expansão da doença⁴⁴.

As grandes mudanças no sistema brasileiro de saúde ocorridas nas últimas décadas, relacionadas com a descentralização e unificação das ações na área da saúde pública, trouxeram novas expectativas em relação ao controle da LV.

Teoricamente, as estratégias de controle parecem adequadas, mas na prática a prevenção de doenças transmissíveis por vetores biológicos é bastante difícil, ainda mais quando associada à existência de reservatórios domésticos e silvestres e aos aspectos ambientais, incluindo aspectos físicos de utilização do espaço habitado.

O entendimento das interações entre mudanças do meio ambiente urbano e os flebotomíneos vetores constituem um pré-requisito para o desenvolvimento de ações apropriadas de prevenção e estratégias de controle. Um dos fatores de risco mais importantes na aquisição da LV é a exposição ao inseto vetor. *Lutzomyia longipalpis* é uma espécie que se perpetua em diferentes biótopos e nenhuma outra espécie de flebotomíneo do Novo Mundo é tão sinantrópica⁵³. O controle do vetor tem sido baseado no uso de inseticida direcionado para as formas adultas, uma vez que os criadouros da espécie são pouco conhecidos.

O inseticida de ação residual é aplicado no interior das casas e abrigos de animais, sendo esta medida considerada eficaz para

reduzir a população de flebotomíneos e, conseqüentemente, os níveis de transmissão¹⁵. No Brasil, estas ações foram sempre descontínuas por diversas razões, tais como problemas orçamentários e escassez de recursos humanos adequadamente treinados. Estas medidas não atingiram os efeitos esperados, ocorrendo reinfestações dos ambientes e ressurgimento de casos humanos e caninos de LV.

Também foram tentadas experiências baseadas no controle do vetor e centradas no reservatório canino, como os experimentos recentes com coleiras impregnadas com deltametrina, que têm mostrado resultados promissores na proteção dos animais, com conseqüências na transmissão⁵⁴.

O impacto do controle canino através da remoção e sacrifício dos cães soropositivos tem sido discutido por se mostrar trabalho e de eficácia duvidosa⁵⁵.

Tendo em vista que os métodos até agora utilizados têm sido somente parcialmente efetivos na prevenção e controle da doença, novas estratégias de controle devem ser desenvolvidas. A prevenção da doença nos cães através da imunoprofilaxia aparece como uma das poucas alternativas para o controle. Além disso, não existe tratamento eficaz ou profilático para o cão infectado⁵⁶.

As perspectivas para vacinas contra LV humana e canina foram recentemente revistas⁵⁸. Não há até o presente uma vacina humana eficaz, e as duas vacinas já descritas na literatura para cães não mostraram eficácia no campo.

Uma nova vacina desenvolvida na Universidade Federal do Rio de Janeiro, e já testada em campo, foi capaz de proteger 92-95% dos cães vacinados contra LV⁵⁹. Considerada uma vacina de segunda geração, a vacina FML, com o aval do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, está sendo industrializada e comercializada com o nome de Leishmune, pela Fort Dodge® Saúde Animal a partir de 2004. Mas o Ministério da Saúde não autoriza a utilização desta vacina como medida de controle da leishmaniose visceral no Brasil, por entender que os estudos até agora realizados re-

ferem-se à eficácia vacinal canina, e por não ter sido ainda realizado estudo com relação ao impacto na incidência humana e canina, assim como estudos de custo/efetividade e custo/benefício⁶⁰.

Apesar da existência de inúmeros estudos abordando diferentes aspectos da Leishmaniose Visceral, algumas questões cruciais para a implementação das medidas de controle continuam sem resposta. Qual a real extensão do problema? Quais são os fatores de riscos para as populações? Como avaliar o impacto das intervenções de controle e como antecipar as epidemias?

Um grande passo para se alcançar as res-

postas foi dado pela Fundação Nacional de Saúde e Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, ao patrocinarem oficinas de trabalho, conferências e simpósios, que têm contribuído para um melhor entendimento da complexidade do problema. Nestes encontros, os órgãos operacionais e a comunidade científica identificam as dificuldades técnicas e operacionais, discutem as estratégias de intervenção e tentam definir as áreas prioritárias de pesquisa. De fato há que se valorizar e incentivar novas investigações e pesquisas aplicadas como fontes importantes de informações para subsidiar o Programa de Controle da LV no Brasil.

Referências

1. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine*. Vol. 1. London: Academic Press; 1987. p. 1-120.
2. Lainson R, Shaw JJ, Silveira FT, Braga RR. American visceral leishmaniasis: on the origin of *Leishmania (Leishmania) chagasi*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1987; 81: 517.
3. Mauricio IL, Stohard JR, Miles MA. The strange case of *Leishmania chagasi*. *Parasitol Today* 2000; 16: 188-9.
4. Silva ES, Gontijo CMF, Pacheco RS, Fiuza VOP, Brazil RP. Visceral Leishmaniasis in the Metropolitan Region of Belo Horizonte, State of Minas Gerais, Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 3: 285-91.
5. Santos SO, Arias J, Ribeiro AA, de Paiva Hoffmann M, de Freitas RA, Malacco MA. Incrimination of *Lutzomyia cruzi* as a vector of American visceral leishmaniasis. *Med Vet Entomol* 1998; 12: 315-7.
6. Deane LM. *Leishmaniose Visceral no Brasil*. Serviço Nacional de Educação Sanitária. Rio de Janeiro; 1956.
7. Lainson R, Dye C, Shaw JJ, Macdonald DW, Courtenay O, Souza AA et al. Amazonian visceral leishmaniasis – Distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990; 85: 135-7.
8. Silva ES, Pirmez C, Gontijo CMF, Fernandes O, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil. *Vet Rec* 2000; 147: 421-2.
9. Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Jr G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1984; 79: 511.
10. Cabrera MAA, Paula AA, Camacho LAB, Marzochi MCA, Xavier SC, Silva AV et al. Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Trop S Paulo* 2003; 45: 79-83.
11. Penna HA. Leishmaniose visceral no Brasil. *Bras Méd* 1934; 48: 949-50.
12. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose Visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. *Boletim Epidemiológico* 2001; 6: 1-11.
13. World Health Organization. *The world health report 2001*. Geneva; 2001.
14. Palatnick de Souza CB, Santos WR, França-Silva JC, da Costa RT, Barbosa Reis A, Palatnick M et al. Impact of canine control on the epidemiology of canine and human visceral leishmaniasis in Brazil. *Am J Trop Med Hyg* 2001; 65: 510-7.
15. Guerin PJ, Olliaro P, Sundar S, Boelaert M, Croft SL, Desjeux P et al. Visceral leishmaniasis: current status of control, diagnosis and treatment and a proposed research and development agenda. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 494-501.
16. Kar K. Serodiagnosis of Leishmaniasis. *Crit Rev Microb* 1995; 21: 123-52.

17. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 951-8.
18. Dereure J, Pratlong F, Reynes J, Basset D, Bastien P, Dedet JP. Haemoculture as a tool for diagnosing visceral leishmaniasis in HIV-negative and HIV-positive patients: interest for parasite identification. *Bull World Health Organ* 1998; 76: 203-6.
19. Boelaert M, El Safi S, Mousa H, Githure J, Mbatia P, Gurubacharya V et al. Multicenter evaluation of repeatability and reproducibility of the direct agglutination test for visceral leishmaniasis. *Trop Med Int Health* 1999; 4: 31-7.
20. Schoone GJ, Hailu A, Kroon CC, Nieuwenhuys JL, Schalling HDFH, Oskam L. A fast agglutination screening test (FAST) for detection of anti-*Leishmania* antibodies. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2001; 95: 400-1.
21. El-Amin ER, Wright EP, Abdel Rahman AM, Kolka A, Laarman JJ, Pondman KW. Serodiagnosis of Sudanese visceral and mucosal leishmaniasis: comparison of ELISA-immunofluorescence and indirect haemagglutination. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1986; 80: 271-4.
22. Evans TG, Vasconcelos IAB, Lima JB, Teixeira MJ, McAuliffe IT, Lopes UG et al. Canine visceral leishmaniasis in northeast Brazil: assessment of serodiagnosis methods. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 42: 118-23.
23. Vinayak VK, Mahajan D, Sobti RC, Singla N, Sundar S. Anti-66kDa anti-leishmanial antibodies as specific immunodiagnosis probe for visceral leishmaniasis. *Indian J Med Res* 1994; 99: 109-14.
24. Palatinick de Souza CB, Gomes EM, Paraguai de Souza E, Palatinick M, Luz KG, Borojevic R. *Leishmania donovani*: titration of antibodies to the fucose-manose ligand as an aid in diagnosis and prognosis of visceral leishmaniasis. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1995; 89: 390-3.
25. Barbosa de Deus R, Mares Guia ML, Nunes AZ, Costa KM, Junqueira RG, Mayrink W et al. *Leishmania major*-like antigen for specific and sensitive serodiagnosis of human and canine visceral leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol* 2002; 9: 1361-6.
26. Carvalho FA, Charest H, Tavares CAP, Matlashewski G, Valente EP, Rabello A et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis in humans and dogs using the recombinant *Leishmania donovani* A2 antigen. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 43: 289-95.
27. Burns JM Jr, Shreffler WG, Benson DR, Ghalib HW, Badaró R, Reed S. Molecular characterization of a kinesin-related antigen of *Leishmania chagasi* that detects specific antibody in African and American visceral leishmaniasis. *Proc Natl Acad Sci* 1993; 90: 775-9.
28. Houghton RL, Petrescu M, Benson DR, Skeiky YA, Scalone A, Badaró R et al. A cloned (recombinant K39) of *Leishmania chagasi* diagnostic for visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type 1 patients and a prognostic indicator for monitoring patients undergoing drug therapy. *J Infect Dis* 1998; 177: 1339-44.
29. Reed SG, Shreffler WG, Burns JM, Scott JM, Orge MG, Ghalib HW et al. An improved serodiagnostic procedure for visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1990; 43: 632-9.
30. Sundar S, Pai K, Sahu M. Immunochromatographic strip test detection of anti K39 antibody in Indian visceral leishmaniasis. *Ann Trop Med Parasitol* 2002; 96: 19-23.
31. Zijlstra EE, Nur Y, Desjeux P, Khalii EA, El-Hassan AM, Groen J. Diagnosing visceral leishmaniasis with the recombinant k39 strip test: experience from the Sudan. *Trop Med Int Health* 2001; 6: 108-13.
32. Genaro O, Costa RT, França Silva JC, Reis AB, Vieira EP, Arias JR et al. Evaluation of an immunochromatographic assay for the diagnosis for dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania chagasi* in Brazil. *Acta Parasitol Turcica* 1997; 21 Supplement 1: 93.
33. Bhatia AA, Daifalla NS, Jen S, Badaró R, Reed S, Skeiky YAW. Cloning, characterization and serological evolution of K39 and K26: two related hydrophilic antigens of *Leishmania chagasi*. *Mol Biochem Parasitol* 1999; 102: 249-61.
34. Nakatani M, Miranda-Badaró R, Meireles A, Trigo J, Netto EM, Badaró R. Avaliação da sensibilidade do teste rápido (TRALd) para detecção de anticorpos anti-*Leishmania* com o novo antígeno k26 adicionado ao k39. *Rev Bras Med Trop* 2001; Suplemento: 10.
35. Ibraim ME, Lambson B, Yousif AAO, Deifalla NS, Alnaiem DA, Ismail A et al. Kala-azar in a high transmission focus: an ethnic and geographic dimension. *Am J Trop Med Hyg* 1999; 61: 941-4.
36. Moreno E, Melo MN, Antunes CMF, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade-Ribeiro AS et al. Epidemiologia da Leishmaniose Visceral Humana assintomática em área urbana, Sabará, Minas Gerais, 1998-1999. *Informe Epidemiológico do SUS* 2002; 11: 37-9.
37. Attar ZJ, Chance ML, El-Safi S, Carney J, Azazy A, El-Hadi M et al. Latex agglutination test for the detection of urinary antigens in visceral leishmaniasis. *Acta Tropica* 2001; 78: 11-6.
38. De Colmenares M, Portus M, Riera C, Gallego M, Aisa MJ, Torras S et al. Short report: detection of 72-75-kD and 123-kD fractions of *Leishmania* antigen in urine of patients with visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1995; 52: 427-8.
39. Tavares CAP, Fernandes AP, Melo MN. Molecular diagnosis of Leishmaniasis. *Expert Rev Mol Diagn* 2003; 3: 657-67.

40. Weiss JB. DNA probes and PCR for diagnosis of parasitic infections. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8: 113-30.
41. Schalling HDFH and Oskan L. Molecular biological applications in the diagnosis and control of leishmaniasis as parasite identification. *Trop Med Int Health* 2002; 7: 641-51.
42. Lachaud L, Chabbert E, Dubessay P, Reynes J, Lamothe J, bastien P. Comparison of various sample preparation methods for PCR diagnosis of visceral leishmaniasis using peripheral blood. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 613-7.
43. Solano-Gallego L, Morell P, Arboix M, Alberola J, Ferrer L. Prevalence of *Leishmania infantum* infection in dogs living in an area of canine leishmaniasis endemicity using PCR on several tissues and sorology. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 560-3.
44. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. *Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral*. Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília, DF; 2003.
45. Croft SL, Yardley V, Kendrick H. Drug sensitive of *Leishmania* species: some unresolved problems. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 2002; S1: 127-9.
46. Prasad R, Kumar R, Jaiswal BP, Singh UK. Miltefosine: An oral drug for Visceral Leishmaniasis. *Indian J Pediatr* 2004; 71: 143-4.
47. Marty P, Rosenthal E. Treatment of visceral leishmaniasis: a review of current treatment practices. *Expert Opin Pharmacother* 2002; 3: 1101-8.
48. Costa CHN, Pereira HF, Araújo MV. Epidemia de leishmaniose visceral no estado do Piauí, Brasil., 1980-1986. *Rev Saúde Pública* 1990; 24: 361-72.
49. Profeta da Luz ZM, Pimenta DN, Cabral AL, Fiuza VO, Rabello A. A urbanização das leishmanioses e a baixa resolutividade diagnóstica em municípios da Região Metropolitana de Belo Horizonte. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34: 249-54.
50. Dedet JP, Pratlong F. *Leishmania*, *Trypanosoma* and monoxenous trypanosomatids as emerging opportunistic agents. *J Eukaryot Microbiol* 2000; 47: 37-9.
51. Camargo-Neves VLF, Katz G, Rodas LAC, Poletto DW, Lage LC, Spínola RMF et al. Utilização de ferramentas de análise espacial na vigilância epidemiológica de leishmaniose visceral americana – Araçatuba, São Paulo, Brasil, 1998-1999. *Cad Saúde Pública* 2001; 17: 1263-7.
52. Costa CHN, Vieira JBF. Mudanças no controle de leishmaniose visceral no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2001; 34: 223-8.
53. Shaw JJ. The relationship of sand fly ecology to the transmission of leishmaniasis in South America with particular reference to Brazil. In: Burger J. *Contributions to the knowledge of Diptera*. Vol. 14. Gainesville, Florida: Associated Publishers; 1999. p. 503-17.
54. Killick-Kendrick R, Killick-Kendrick M, Focheux C, Dereube J, Puch MP, Cadiergues C. Protection of dogs from bites of phlebotomines sandflies by deltamethrin collars for control of canine. *Med Vet Entomol* 1997; 11: 105-11.
55. Dietze R, Barros GB, Teixeira L, Harris J, Michelson K, Falqueto A et al. Effect of eliminating seropositive canines on the transmission of visceral leishmaniasis in Brazil. *Clin Infect Dis* 1997; 25: 1240-2.
56. Dunan S, Fromel D, Monjour L, Ogunkolade BW, Cruz A, Quilici M. Vaccination trial against canine visceral leishmaniasis. *Parasite Immunol* 1989; 11: 397-492.
57. Gradoni L. An update on antileishmanial vaccine candidates and prospects for a canine *Leishmania* vaccine. *Vet Parasitol* 2001; 100: 87-103.
58. Sacks LD, Belkaid Y, Mendez S, Kamhawi S, Seder R, Valenzuela J et al. Perspectives for new vaccines against leishmaniasis. In: *Proceedings of the Second International Canine Leishmaniasis Forum*; Sevilla, Spain; 2002. p. 31-7.
59. Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, Da Silva VO, Paraguai de Souza E, Santos WR, Gomes EM et al. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-Quil-A saponin vaccine in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). *Vaccine* 2002; 20: 3277-84.
60. Ministério da Saúde do Brasil. Secretaria de Vigilância em Saúde. *Nota técnica sobre vacina anti-leishmaniose visceral canina*. Brasília; 2004.

recebido em: 23/03/04

versão reformulada apresentada em: 14/09/04

aprovado em: 20/09/04