

LEISHMANIOSE VISCERAL

Dra Mary Marcondes

Professora Adjunto do Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal da Faculdade de Medicina Veterinária – UNESP – Câmpus de Araçatuba

Dr. Silvio Arruda Vasconcellos - Professor Aposentado da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia -USP e Secretário do CRMV-SP

Definição:

A leishmaniose é uma doença de caráter zoonótico que acomete o homem e diversas espécies de animais silvestres e domésticos, com distintas formas clínicas na dependência da espécie de leishmania envolvida e da resposta imune do hospedeiro. Em seres humanos apresenta-se sob quatro formas clínicas: visceral, cutânea, mucocutânea e cutânea difusa. Das quatro, a leishmaniose visceral é a mais grave por ser geralmente fatal quando não tratada. Em animais observa-se as formas visceral e cutânea.

Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde, a prevalência mundial das diferentes formas clínicas da doença ultrapassa 12 milhões de casos humanos. Com uma mortalidade global estimada em 59.000 óbitos por ano, a leishmaniose visceral permanece como um importante problema de saúde pública em vários países do mundo. Atualmente a Organização Mundial de Saúde vem chamando a atenção para o aumento do número de casos de leishmaniose visceral associada à infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Nas Américas a doença ocorre desde o México até a Argentina, com cerca de 90% dos casos humanos procedentes do Brasil.

Até o presente momento, de todos os animais identificados como reservatórios da doença, o cão é considerado, epidemiologicamente, o mais importante. Enquanto a prevalência da infecção em cães em áreas

endêmicas pode chegar a mais de 50%, a incidência da doença em humanos nas mesmas áreas varia de 1 a 2%. É importante salientar que a prevalência de infecção canina é maior que a soroprevalência, isto é, muitos cães infectados não desenvolvem resposta imune humoral e, portanto, não são identificados por meio de métodos sorológicos. Com a utilização de técnicas moleculares de diagnóstico sabe-se hoje que para cada cão sintomático vivendo em área endêmica, existem cerca de cinco cães assintomáticos.

Existem discordâncias na literatura com relação à susceptibilidade dos felinos domésticos à infecção por *Leishmania* sp. Acredita-se que gatos infectados possuam certo grau de resistência natural à enfermidade provavelmente relacionada a fatores genéticos. Apesar de ser ainda desconhecida a importância do gato na epidemiologia da leishmaniose visceral, estudos com xenodiagnóstico comprovaram a capacidade do gato em infectar o vetor. Trabalhos realizados no Brasil relatam prevalências que variam de 6,5% a 14,5 % de infecção em felinos provenientes de áreas endêmicas. Um estudo em que foram avaliados 55 gatos com dermatopatias residentes no município de Araçatuba, área endêmica para leishmaniose visceral, identificou 49% de animais infectados por *L. chagasi*.

Os agentes etiológicos da leishmaniose visceral são protozoários da ordem Kinetoplastida, família Trypanosomatidae e gênero *Leishmania*, que parasitam células do sistema fagocítico mononuclear do hospedeiro. As leishmanias do complexo *Leishmania braziliensis* e *Leishmania mexicana* são os agentes causadores da leishmaniose tegumentar. Já os agentes etiológicos da leishmaniose visceral fazem parte complexo *Leishmania donovani*, sendo a *Leishmania donovani* o agente etiológico encontrado na África e Ásia; *Leishmania infantum* na Ásia, Europa e África e *Leishmania chagasi* nas Américas. Semelhanças estruturais verificadas por meio de estudos moleculares sugerem que a *L. chagasi* e a *L. infantum* sejam a mesma espécie, permitindo a denominação *L. infantum* (syn. *chagasi*) para o agente etiológico desta enfermidade nas Américas.

As leishmanias são protozoários pleomórficos, com formas

promastigotas e paramastigotas, que se desenvolvem no trato alimentar de um inseto hospedeiro, e formas amastigotas que vivem e multiplicam-se no interior de células do sistema mononuclear fagocitário de um hospedeiro vertebrado. Sua multiplicação, em ambos hospedeiros, se faz por divisão binária. As formas promastigotas e paramastigotas são fusiformes, medindo cerca de 20 micrômetros, com a extremidade anterior mais grossa, de onde sai o flagelo, com aproximadamente 30 micrômetros. As formas amastigotas são reconhecidas pela sua forma esférica a ovóide, medindo de dois a cinco micrômetros, e contendo um núcleo arredondado e um cinetoplasto alongado.

Transmissão

Os vetores implicados na transmissão das leishmanioses são insetos denominados flebotomíneos, sendo conhecidos dois gêneros: *Lutzomyia*, presente no Novo Mundo e *Phlebotomus*, que ocorre no Velho Mundo. A principal espécie transmissora da leishmaniose visceral nas Américas é a *Lutzomyia longipalpis* (Fig. 1), conhecida popularmente no Brasil como mosquito palha, birigüi, asa dura ou tatuquira. Não obstante a *Lutzomyia longipalpis* ter sido considerada durante muito tempo como o único transmissor da doença nas Américas, a *Lutzomyia intermédia* foi identificada como vetor no litoral do município do Rio de Janeiro, e a *Lutzomyia cruzi* como o vetor no Mato Grosso do Sul. Várias espécies de *Lutzomyias* estão implicadas na transmissão da leishmaniose tegumentar no Brasil, dentre elas a *Lutzomyia intermedia* e a *Lutzomyia migonei*.

Os flebotomíneos são pequenos, com um a três milímetros de comprimento, recobertos de pêlos, e de coloração clara, cor de palha ou castanho claro, facilmente reconhecíveis por seu comportamento ao voar em pequenos saltos e pousar com as asas entreabertas e ligeiramente eretas. É comum encontrá-los no peri-domicílio em galinheiros, chiqueiros, canis e outros locais sombreados, podendo também ser encontrados no intra-

domicílio. Após a cópula as fêmeas ovipõem na terra, em lugares úmidos, ricos em matéria orgânica (restos vegetais como folhas, frutos, resíduos de alimentos e fezes de animais) e com baixa luminosidade, e os ovos eclodem, geralmente, de sete a 10 dias após a postura, dando origem às larvas. Essas se transformam em pupas, que dão origem aos adultos.



Figura 1: *Lutzomyia longipalpis* (Fonte: wikipedia.org)

A atividade do flebótomo inicia-se ao entardecer, mantendo-se, muitas vezes, até o amanhecer, ou finalizando-se aproximadamente às 23 horas. No intra-domicílio a *L. longipalpis* é encontrada em repouso principalmente nas paredes dos dormitórios, até o amanhecer. No peri-domicílio sua maior atividade ocorre nos abrigos de animais domésticos, durante o mesmo horário.

O principal mecanismo de transmissão da doença ocorre quando as fêmeas de *Lutzomyia longipalpis*, infectadas com formas promastigotas, alimentam-se em hospedeiros susceptíveis. Durante o repasto sanguíneo estas formas são inoculadas juntamente com a saliva do inseto. A inoculação do parasito na pele promove uma resposta inflamatória local, levando à sua fagocitose por células do sistema mononuclear fagocitário, principalmente os macrófagos. No interior dos macrófagos as formas

promastigotas perdem o flagelo, diferenciando-se em amastigotas, que se multiplicam por sucessivas divisões binárias. As células densamente parasitadas rompem-se, liberando estas formas, que serão fagocitadas por novos macrófagos. Ocorre, então, a disseminação hematogênica e linfática para tecidos ricos em células do sistema mononuclear fagocitário.

A infecção do vetor ocorre quando as fêmeas, ao sugarem o sangue de mamíferos infectados, ingerem macrófagos parasitados. No sistema digestório do mosquito ocorre o rompimento dos macrófagos liberando as formas amastigotas, que se reproduzem por divisão binária e diferenciam-se rapidamente em formas flageladas denominadas de promastigotas. Estas, por sua vez, sofrem divisão binária, multiplicação e diferenciação em formas paramastigotas, as quais colonizam o esôfago e a faringe do vetor onde permanecem aderidas ao epitélio pelo flagelo. Então, diferenciam-se em formas promastigotas metacíclicas, que são as formas infectantes. O ciclo do parasito no inseto se completa em torno de 72 horas. Quando o inseto realiza novo repasto sanguíneo, formas infectantes são inoculadas, reiniciando-se assim, o ciclo no hospedeiro vertebrado.

Apesar de a transmissão da leishmaniose visceral canina geralmente ocorrer por meio da picada de um flebotomíneo, é possível que ela ocorra também por transfusões sanguíneas, transmissão transplacentária e transmissão venérea.

MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS NOS ANIMAIS

Embora a maioria dos animais infectados encontre-se em ótimo estado geral, em cães sintomáticos as manifestações clínicas da doença podem ser inespecíficas e incluir febre, anemia, emagrecimento e caquexia em seu estágio final. Pode-se observar também infoadenomegalia, hepato e esplenomegalia. As alterações dermatológicas são as manifestações clínicas mais comuns da leishmaniose visceral canina (LVC) e podem ocorrer na ausência de outros sintomas. São evidenciadas em 50 a 90% dos cães com quadro clínico. Observa-se queda de pêlos levando à formação de áreas de

rarefação pilosa ou alopecia, descamação cutânea e presença de ulcerações localizadas ou difusas. A forma cutânea clássica da leishmaniose visceral caracteriza-se por uma dermatite esfoliativa não pruriginosa, com presença de escamas branco prateadas. Essa descamação costuma ser mais pronunciada na cabeça, em região periocular, ponte nasal e borda dos pavilhões auriculares; ou pode se encontrar difusamente distribuída (Fig.2). Com a progressão da doença a multiplicação das formas amastigotas produz processo inflamatório levando à ulceração superficial da pele (Fig.3). As úlceras ocorrem principalmente em zonas ósseas salientes, na face, ponte nasal, pavilhões auriculares, ao nível da transição muco-cutânea, coxins e região interdigital. É freqüente a observação de cães com quadro de pododermatite, acompanhada de descamação cutânea, hiperqueratose de coxins, hiperemia, úlceras cutâneas e, muitas vezes, secreção bacteriana. A onicogribose também é um achado comum na LVC (Fig. 3).



Figura 2: Leishmaniose visceral canina. Descamação cutânea generalizada, rarefação pilosa e alopecia. (Fonte: Mary Marcondes, UNESP- ARAÇATUBA)



Figura 3: Leishmaniose visceral canina. Úlcera em áreas de saliência óssea e presença de onicogrifose. (Fonte: Mary Marcondes, UNESP-ARAÇATUBA)

Poliúria e polidipsia podem indicar uma lesão renal e às vezes são os únicos sintomas da doença. Os cães podem desenvolver quadros de glomerulonefrite e nefrite intersticial, culminando com uma insuficiência renal, que é a principal causa do óbito de animais infectados. Aproximadamente 20 a 80% dos cães com leishmaniose visceral possuem problemas oculares, que variam de uma simples blefaroconjuntivite, com presença de secreção ocular bilateral, a uma ceratoconjuntivite, uveíte anterior, até uma severa panoftalmite. Os sintomas relacionados ao sistema digestório consistem em hiporexia ou anorexia, êmese e diarreia crônica, devido à presença de erosões da mucosa gástrica e intestinal, resultando em hematoquezia ou melena. A enterite pode ser resultado de um dano parasitário direto ou, eventualmente, consequência de uma insuficiência renal.

Alguns cães apresentam pneumonia intersticial, e existem descrições de raros casos de miocardite e pericardite por leishmaniose visceral. Cães com leishmaniose podem apresentar, ainda, sinais de diáteses hemorrágicas, manifestadas primariamente por epistaxe. A LVC pode causar problemas

locomotores decorrentes de polimiosite, neuropatias periféricas, poliartrite, sinovite, osteomielite ou úlceras interdigitais e em coxins. Os quadros de poliartrite são causados pela presença do parasito ou por depósito de imunocomplexos circulantes. Muitas vezes é possível a identificação de formas amastigotas no líquido sinovial. No tocante às alterações neurológicas destacam-se convulsões, andar em círculos, nistagmo, tremor de intenção, tetraparesia e alterações em pares de nervos cranianos levando a quadros de estrabismo, paralisia de mandíbula e ptose facial dentre outros. Essas podem ser decorrentes da deposição de antígenos de *Leishmania* sp. e de imunoglobulinas no sistema nervoso central ou podem ocorrer devido a presença de outros agentes infecciosos.

Uma das mais importantes e constantes alterações hematológicas na LVC é a anemia, geralmente grave e arregenarativa. É comum a observação de monocitose, muitas vezes acompanhada de grandes monócitos ativados. A presença de formas amastigotas nos esfregaços sangüíneos é um achado ocasional. Alguns cães apresentam uma trombocitopenia que pode estar associada a anemia e leucopenia por aplasia da medula óssea. Uma característica da leishmaniose visceral canina é a disproteinemia, de um modo geral com aumento dos níveis de proteína sérica total. A eletroforese do soro revela aumento sensível da fração gama, e às vezes beta globulina, com diminuição da fração albumina.

A imunossupressão causada pela leishmaniose pode promover a ocorrência de infecções oportunistas concomitantes, tais como piodermites, malassezíase, dermatofitoses e demodicose. Conseqüentemente, o quadro clínico pode ser complicado. Co-infecções com *Ehrlichia canis*, *Babesia* sp., *Dirofilaria immitis*, *Toxoplasma gondii* e *Neospora caninum* são comuns quando a infecção por *Leishmania* ocorre em regiões onde estes organismos também são endêmicos.

No que tange à leishmaniose visceral felina, dentre as principais manifestações clínicas destacam-se a letargia, hiporexia, êmese, diarréia, perda de peso e de massa muscular e presença de lesões cutâneas. No entanto não são raras as descrições de gatos parasitologicamente positivos e

assintomáticos. Lesões tegumentares são comuns em gatos com leishmaniose visceral e incluem formações nodulares e lesões ulceradas. As úlceras costumam se reepitelizar e novamente ulcerar por várias vezes. Alguns animais apresentam descamação cutânea, alopecia difusa e presença de crostas na pele. Em relação à topografia, as áreas mais predispostas ao surgimento de lesões são os pavilhões auriculares (fig. 4). No entanto, pode haver também uma distribuição de lesões por todo o corpo, incluindo membros e regiões interdigitais. Alguns casos de leishmaniose felina estão associados a infecções pelo vírus da imunodeficiência e vírus da leucemia felina. Nestes casos pode ocorrer sobreposição de sintomas, o que dificulta o estabelecimento do quadro clínico da doença em gatos.



Figura 4: Leishmaniose visceral felina. Úlceras em base de pavilhões auriculares. (Fonte: Mary Marcondes, UNESP- ARAÇATUBA)

SINTOMAS EM HUMANOS

Em seres humanos a forma assintomática da doença, comum na

maioria dos indivíduos de área endêmica, caracteriza-se por indivíduos sem história clínica aparente, mas com reações sorológicas positivas e frequentemente reativos ao teste intradérmico de Montenegro. A forma clínica mais frequente é caracterizada por febre baixa recorrente, tosse seca, diarreia, sudorese e prostração. Formas amastigotas do parasito podem ser encontradas principalmente em baço, linfonodo e órgãos hematopoiéticos.

A forma crônica ou clássica é uma forma de evolução prolongada da doença, com desnutrição protéico-calórica, presença de edema generalizado, abdome aumentado em função da hepatoesplenomegalia. O emagrecimento é progressivo e leva o paciente à caquexia acentuada. É comum a ocorrência de dispnéia, cefaléia, dores musculares, perturbações digestivas, epistaxes e evolução para o óbito se o paciente não for submetido ao tratamento específico.

DIAGNÓSTICO

A forma mais segura de diagnóstico da LVC é a observação direta de formas amastigotas do parasito em esfregaços obtidos por citologia aspirativa por agulha fina de linfonodos, baço, fígado e aspirados de medula óssea (Fig. 5). É este o método mais simples e mais utilizado nas clínicas veterinárias, sendo a técnica, quando realizada apropriadamente, rápida e pouco traumática. A especificidade deste método é virtualmente de 100%. Entretanto, a sensibilidade varia muito na dependência da fase da doença, da carga parasitária e do tipo de material biológico coletado. A sensibilidade eleva-se bastante quando se associa a punção aspirativa de linfonodos com a de medula óssea. De maneira geral os linfonodos que se encontram hipertrofiados são os escolhidos para a realização da punção. Entretanto, é possível observar formas amastigotas do parasito em linfonodos de tamanho normal, na dependência da carga parasitária.

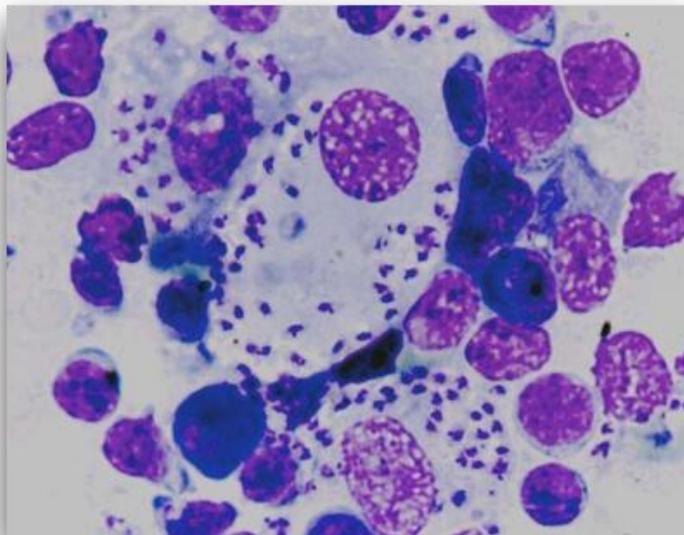


Figura 5: Formas amastigotas de *Leishmania chagasi*. (Fonte: Mary Marcondes, UNESP-ARAÇATUBA)

As formas amastigotas são reconhecidas pela sua forma, de esférica a ovóide, medindo dois a cinco micrômetros e contendo um núcleo arredondado, e um cinetoplasto alongado em forma de bastonete. O encontro de parasitos, no material examinado, depende do número de campos observados. Se os parasitos são numerosos, a identificação não é difícil, contudo, em muitos casos, especialmente em animais assintomáticos, onde apenas poucas formas amastigotas estão presentes, podem ocorrer resultados falso-negativos. Este problema pode ser solucionado com a utilização de técnicas mais sensíveis tais como a imuno-histoquímica, altamente sensível e específica para a detecção do antígeno de *Leishmania sp.* em tecidos. Nela, imunoglobulinas conjugadas a enzimas são utilizadas para identificar antígenos em cortes histológicos parafinados ou congelados e em exames citológicos.

A detecção de anticorpos anti-*Leishmania sp* circulantes constitui-se em

um instrumento essencial para o diagnóstico da LVC. Animais doentes desenvolvem principalmente uma resposta imune humoral e produzem altos títulos de imunoglobulinas G (IgG), no entanto cães assintomáticos podem desenvolver uma resposta imune basicamente celular e não apresentar soroconversão, o que dificulta sobremaneira o diagnóstico destes animais. Um título de anticorpos elevado irá confirmar a presença da doença, enquanto um título baixo exige a realização de outros procedimentos diagnósticos. Considera-se elevado o título quatro vezes acima do ponto de corte da reação. A soroconversão ocorre entre cinco meses e dois anos após a infecção. Os testes sorológicos devem ser interpretados com cautela, uma vez que não são 100% sensíveis e falham em detectar cães infectados no período pré-patente e antes da soroconversão, cães que jamais farão soroconversão e cães soropositivos que se convertem em soronegativos mas ainda permanecem infectados.

Muitos testes sorológicos podem ser utilizados, entretanto os mais utilizados são a reação de imunofluorescência indireta (RIFI), o ensaio imunoenzimático (ELISA) e as técnicas de imunocromatografia. A sensibilidade e especificidade das técnicas sorológicas dependem do tipo de antígeno empregado (antígenos brutos, purificados ou recombinantes). As técnicas que utilizam antígenos totais são limitadas em termos de especificidade, apresentando reações cruzadas não somente com outras espécies da família Trypanosomatidae, mas também com outros organismos filogeneticamente distantes. O uso de antígenos purificados melhora a sensibilidade e a especificidade, entretanto ainda podem ocorrer reações cruzadas com outros tripanossomatídeos. Alguns antígenos recombinantes como o rK39, rK9 e rK26 conferem grande sensibilidade quando utilizados para a realização de diagnósticos sorológicos. Testes comerciais de imunocromatografia podem ser utilizados tanto em seres humanos quanto em animais. Geralmente utilizam como antígenos proteínas recombinantes. Suas vantagens são a simplicidade de uso e a rápida resposta, em cerca de 10 a 15 minutos.

Na dependência da técnica e do antígeno utilizados pode ocorrer

reação cruzada entre leishmaniose visceral e doença de Chagas, erliquiose, toxoplasmose e neosporose. É importante ressaltar, no entanto, que os animais erroneamente classificados como positivos apresentaram reações fracamente positivas, com títulos de RIFI, e densidades ópticas de ELISA, próximos ao ponto de corte estabelecido pela reação. Desta forma, as reações sorológicas cruzadas devem ser aventadas em pacientes sem confirmação parasitológica de leishmaniose visceral e quando o método sorológico utilizado fornecer resultados que se aproximam do ponto de corte.

Atualmente o Ministério da Saúde utiliza, para o diagnóstico da LVC, o teste rápido DPP[®] (Dual Path Platform. Bio-Manguinhos/FIOCRUZ) como teste de triagem e o ELISA (EIE)[®] (Bio-Manguinhos) como confirmatório. O primeiro usa a proteína recombinante rK28 (antígenos rK9, rK39 e rK26) com antígeno.

As técnicas sorológicas rotineiramente empregadas para cães não demonstram ser um instrumento eficiente para a determinação da infecção em gatos. Os resultados obtidos em vários estudos sugerem que a resposta imune em gatos difere da observada em cães e que os primeiros raramente desenvolvem uma resposta imune humoral.

A reação em cadeia da polimerase (PCR) permite identificar e ampliar seletivamente seqüências de DNA do parasito em uma variedade de tecidos, incluindo medula óssea, aspirados de linfonodos, baço e fígado, biópsias cutâneas, conjuntiva, sangue, liquor, cortes histológicos de tecidos parafinados e congelados. A escolha do tecido onde será realizada a pesquisa do DNA do parasito influencia a sensibilidade da reação. Nas amostras de sangue a sensibilidade é baixa devido a flutuações na parasitemia, mas eleva-se quando a pesquisa é realizada em órgãos linfoides. Deve-se preferencialmente utilizar a PCR em tempo real, que apresenta maior sensibilidade do que a PCR convencional. Como utiliza um sistema fechado, o risco de contaminação das amostras é menor, elevando também a especificidade do teste. Uma outra vantagem é que por meio dela pode-se quantificar o número de cópias de DNA presentes na amostra biológica, fornecendo uma importante informação quanto a carga parasitária,

principalmente quando do monitoramento do paciente.

De acordo com o possível tempo de evolução da doença, o clínico deve saber optar pelo método de diagnóstico mais indicado, e pelo tipo de material a ser colhido (sangue, linfonodos, medula óssea, etc). Por exemplo, um animal que tenha sido infectado há dois meses não terá realizado soroconversão e, muitas vezes, apresenta uma citologia de órgãos linfoides negativa também. Entretanto, a PCR pode ser capaz de identificar o DNA do parasito no tecido linfóide e até no sangue periférico. No entanto, se o cão apresentar um envolvimento sistêmica crônico, pode ser mais difícil a identificação do parasito circulante e, nesses casos, a melhor opção seria realizar uma PCR de órgãos linfoides.

TRATAMENTO

Em 11 de julho de 2008, o Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento e o Ministério da Saúde, brasileiros publicaram uma portaria proibindo em todo o território nacional o tratamento de leishmaniose visceral canina com produtos de uso humano ou não registrados no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Como no Brasil não há produto registrado para tratamento da leishmaniose visceral canina, conclui-se que o tratamento de cães com leishmaniose não é permitido. Tal portaria baseou-se, no fato de que até o momento, nenhum fármaco ou esquema terapêutico garante a eficácia do tratamento canino, a redução do risco de transmissão para outros cães e humanos; com o agravante de potencial seleção de parasitas resistentes aos medicamentos disponíveis para o tratamento da leishmaniose humana.

Dentre as medidas para o combate a leishmaniose visceral está a realização de inquéritos epidemiológicos para identificação de cães infectados com sua posterior eliminação, campanhas sistemáticas contra os mosquitos transmissores nas áreas em que a doença foi registrada e o tratamento dos casos humanos. A eliminação de cães domésticos apresenta o menor suporte técnico-científico entre as três estratégias do programa de

controle. O tempo decorrido entre a coleta do sangue, o diagnóstico e a eutanásia do cão é um dos pontos contestados e que seguramente gera falhas no controle da doença. Outro fator é a elevada taxa de reposição canina após a eutanásia, nos ambientes ainda contaminados

A diminuição da transmissão da doença deve ser baseada fundamentalmente no controle dos mosquitos transmissores que deve ser efetuado com a borrifação do domicílio e peri-domicílio com organoclorados, organofosforados e piretróides (Fig. 6), limpeza de quintais e principalmente a educação sanitária da população, pela conscientização da necessidade da limpeza constante de quintais, remoção de fezes de animais e de resíduos orgânicos.

PREVENÇÃO E CONTROLE

No Brasil, data de 14 de março de 1963 a publicação do Decreto Lei no. 51.838, que estabelece normas técnicas especiais para o combate às leishmanioses. Dentre as medidas exigidas encontram-se a realização de inquéritos epidemiológicos para identificação de cães infectados com sua posterior eliminação, campanhas sistemáticas contra os flebótomos nas áreas endêmicas e tratamento dos casos humanos.

A eliminação de cães domésticos apresenta o menor suporte técnico-científico entre as três estratégias do programa de controle. O grande atraso de tempo entre a coleta do sangue, o diagnóstico e a eutanásia do cão, é um dos pontos contestados e que seguramente gera falhas no controle da leishmaniose visceral. Outro fator a ser considerado é a elevada taxa de reposição canina após a retirada de cães infectados para a eutanásia.

A diminuição da transmissão da doença deve ser baseada fundamentalmente no controle de vetores. O combate ao vetor deve ser feito por meio de borrifação do domicílio e peri-domicílio com organoclorados, organofosforados e piretróides, limpeza de quintais e, principalmente, educação sanitária da população. É necessário que se faça a educação sanitária da população no sentido de realizar constantemente a limpeza de

quintais, remoção de fezes de animais e de resíduos orgânicos, tais como folhas e frutas caídas. É imprescindível que as medidas empregadas no controle da leishmaniose sejam realizadas de forma integrada para que sejam efetivas.

Medidas para proteger individualmente cães incluem manter o animal dentro de casa ou em canis telados no período de maior atividade do vetor, e uso de inseticidas tópicos como permetrina e deltametrina em soluções, *spot-on*, sprays e coleiras. Os piretróides protegem contra a picada dos vetores devido a efeitos repelente e inseticida, e pela redução na taxa de alimentação dos flebotomíneos nos animais. De todas as medidas de proteção, a utilização de coleiras impregnadas com deltametrina é a mais efetiva, e recomendada pela Organização Mundial da Saúde. Atualmente é possível encontrar no mercado brasileiro três coleiras contendo deltametrina para proteção de cães contra leishmaniose visceral. Apesar de existirem alguns estudos comprovando a eficácia de todas, apenas uma possui, até a presente data, vários estudos a campo realizados no Brasil em condições de desafio semelhantes ao local onde serão utilizadas, isto é, no que diz respeito ao tipo de vetor, densidade populacional de vetores, imunocompetência de cães expostos e condições ambientais. Os resultados obtidos apontam para uma efetividade da utilização das coleiras associada às demais medidas de controle, demonstrando uma redução da incidência de casos humanos e da prevalência de cães infectados em áreas onde os cães são encoleirados. Apesar de uma delas poder ser utilizada em gatos, não existem ainda estudos realizados nesta espécie animal no que tange à prevenção de infecção por flebotomíneos transmissores de leishmaniose visceral.

O desenvolvimento de uma vacina efetiva contra a leishmaniose visceral canina tem sido objeto de inúmeras pesquisas. Por se tratar de uma zoonose transmitida pela picada de um flebotomíneo, o ideal é que a vacina não só confira imunidade celular, impedindo a infecção e o desenvolvimento de sintomas, como também impeça a transmissão do parasito, caso o animal vacinado adquiria a infecção, mesmo mantendo-se assintomático. Não basta

que a doença seja evitada, pois animais assintomáticos também possuem capacidade de infectar flebotomíneos. Vacinas com estas qualidades resultariam na prevenção da enfermidade canina e, provavelmente, na diminuição da incidência de casos da doença em seres humanos.

Atualmente existe uma única vacina contra LVC no mercado brasileiro, que utiliza como antígeno a proteína recombinante A2, encontrada em formas amastigotas de *L. donovani*. Apesar do registro e de sua comercialização, o Ministério da Saúde do Brasil ainda não recomenda a utilização dessa vacina como medida de controle da doença, uma vez que, até o momento, não existe comprovação, de forma acurada, de redução da incidência da infecção em humanos, da prevalência da doença em cães e da transmissão do parasito ao vetor, com a utilização da mesma.

De acordo com o Ministério da Saúde do Brasil, os municípios nos quais a leishmaniose visceral canina é endêmica só poderão utilizar vacinas que permitam diferenciar cães vacinados de cães infectados. As vacinas deverão ser usadas somente em cães com diagnóstico sorológico negativo para leishmaniose visceral, utilizando kits para diagnóstico registrados no MAPA. Ainda, segundo o Ministério da Saúde, mesmo com o atestado de vacinação, um animal sorologicamente positivo deve ser submetido à eutanásia, uma vez que a aplicação da vacina não confere imunidade a todos os cães e este animal poderia estar infectado.