



Secretaria
de Vigilância
em Saúde

ANO 03, Nº 05
12/12/2003

EXPEDIENTE:

Ministro da Saúde
Humberto Costa

Secretário de Vigilância em Saúde
Jarbas Barbosa da Silva Júnior

Ministério da Saúde
Secretaria de Vigilância em Saúde
Edifício Sede - Bloco G - 1º andar
Brasília - DF
CEP: 70.058-900
fone: (0xx61) 315 3777

www.saude.gov.br/svs

BOLETIM eletrônico EPIDEMIOLÓGICO

Leishmaniose Visceral

REUNIÃO NACIONAL DAS LEISHMANIOSES

UBERABA-MG, 22 A 24 DE OUTUBRO DE 2003

OFICINA DE TRABALHO: VACINA ANTI-LEISHMANIOSE VISCERAL CANINA

COORDENADOR

ANA NILCE SILVEIRA MAIA (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE)

RELATORAS

WANESKA ALEXANDRA ALVES (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE)

GEANE MARIA DE OLIVEIRA (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE)

ESTADO DA ARTE

JOÃO CARLOS FRANÇA DA SILVA (UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS)

MECANISMO DE AÇÃO DA VACINA CANINA

WASHINGTON DOS SANTOS (CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ/FIOCRUZ-BA)

REGISTRO DA VACINA ANTI-LEISHMANIOSE CANINA

ANTÔNIO ARAÚJO ANDRADE JUNIOR (MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO)

DESAFIOS DO USO DA VACINA NA VIGILÂNCIA E CONTROLE DA LV

EDUARDO HAGE CARMO (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE)

DEBATEDORES

ALDINA BARRA (CENTRO DE PESQUISA GONÇALO MONIZ/FIOCRUZ-BA)

GUILHERME WERNECK (UFRJ e UERJ)

MARGARITA URDANETA (SECRETARIA DE VIGILÂNCIA EM SAÚDE)

As leishmanioses são consideradas pela Organização Mundial da Saúde uma das mais importantes endemias mundiais. A leishmaniose visceral (LV) é uma zoonose causada pela infecção com *Leishmania chagasi*, transmitida por vetores do gênero *Lutzomyia*, na qual os cães atuam como reservatórios naturais do parasito. A leishmaniose visceral, considerada inicialmente de transmissão silvestre, com características de ambientes rurais, vem apresentando atualmente mudanças no padrão de transmissão em decorrência das modificações socioambientais, como o desmatamento e o processo migratório caracterizado pelo êxodo rural. Sua dinâmica de transmissão se diferencia entre os locais de ocorrência em função das variáveis relacionadas aos parasitas, aos vetores, ao nível de susceptibilidade dos hospedeiros, aos ecossistemas e aos processos sociais de produção de uso do solo.

No Brasil, a leishmaniose visceral atinge 19 estados e tem uma média anual de 3.000 casos, sendo que 50% ocorrem em crianças de 0 a 9 anos de idade. Nos últimos anos a LV vem se expandindo territorialmente e em número de casos em todo o país, destacando-se um aumento da letalidade, a peri-urbanização e a urbanização com ocorrência de surtos recentes em algumas capitais brasileiras como Belo Horizonte, Teresina, Campo Grande e Palmas. Isto tem consistido em uma preocupação crescente para os profissionais de saúde que trabalham com este agravo e que sentem a necessidade de atividades de vigilância e controle direcionadas e efetivas.

O Programa de Controle da Leishmaniose Visceral (PCLV) inclui medidas de prevenção dirigidas à população humana, ao vetor e a população canina. Tais medidas, no entanto, apresentam uma efetividade limitada pelo qual o desenvolvimento de uma vacina constitui uma prioridade. Do ponto de vista de saúde pública, a expectativa sobre uma vacina contra a leishmaniose visceral canina como potencial medida de intervenção é a da exclusão do cão como reservatório do parasita e potencial fonte de infecção para o vetor e deste para o ser humano. Isso pode ser comprovado através da demonstração de uma diminuição da incidência da infecção humana ou da comprovação de que a vacina impediu a transmissão do parasita do cão para o flebótomo. Na ausência desses dados, outros sinais indiretos da possível eficácia de uma vacina seriam os relacionados à indução de resistência do cão à infecção ou à doença, como o desaparecimento dos sinais de infecção ou doença canina ou, o surgimento de marcadores imunológicos de resistência a *Leishmania*, ressaltando-se que esses sinais indiretos não garantem a eliminação do cão como reservatório do parasita.

Recentemente foi introduzida no mercado uma vacina contra a leishmaniose visceral canina desenvolvida pelo Instituto de Microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ). Com o propósito de discutir a nova vacina, debater sobre o seu uso potencial em saúde pública e recomendar diretrizes aos serviços do Sistema Único de Saúde do Brasil, a Secretaria de Vigilância em Saúde do Ministério da Saúde (SVS/MS) promoveu uma oficina de trabalho, durante a “Reunião Nacional das Leishmanioses”, realizada durante o período de 21 a 26 de outubro de 2003, cujo tema foi “Expectativas do uso da vacina anti-leishmaniose visceral canina em Saúde Pública”. Estiveram presentes à reunião os responsáveis técnicos pelas vigilâncias epidemiológica e entomológica das leishmanioses das unidades federadas do Brasil. Este evento teve como objetivo dar continuidade ao processo de discussão que vem sendo construído nos últimos anos com relação a leishmaniose tegumentar americana – LTA e mais recentemente, com a leishmaniose visceral. Para isto, apresentou-se o novo “Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral” e avaliou-se a situação epidemiológica atual das leishmanioses no Brasil. O Ministério da Saúde (MS) juntamente com os técnicos das Secretarias Estaduais de Saúde, promoveu a discussão sobre a nova proposta para as atividades de vigilância e controle da LV e deu continuidade a discussão sobre a proposta em andamento, apre-

sentada em 2001, para as atividades de vigilância e controle da LTA.

A solicitação de registro da vacina anti-leishmaniose canina desenvolvida pela UFRJ ao Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) deu-se no dia 06 de julho de 2001, atendendo a todos os critérios exigidos para registro de produto como um imunobiológico. A vacina foi registrada em 11 de junho de 2003, com o nome de Leishimune® pelo laboratório Fortdodge. O produto destina-se a cães saudáveis, acima de 4 meses de idade, devendo-se aplicar 3 doses, com intervalo de 21 dias e reforço anual. A vacina será apresentada em frascos de 1 e 10 doses. O MAPA fará o controle do produto durante 2 anos através de mapas trimestrais de distribuição para casas comerciais, clínicas veterinárias e médicos veterinários. A validade da licença desse registro expira em 10 de dezembro de 2004.

A vacina Leishimune® está constituída de uma fração glicoproteica (FUCOSE-MANOSE-LIGAND) de *Leishmania donovani* e os principais ensaios realizados em cães foram publicados em três artigos. Os principais resultados descritos nas publicações encontram-se descritos a seguir:

- No primeiro estudo (da Silva *et al.*, 2001), foram utilizados 117 animais: 58 cães vacinados com a vacina FML e 59 controles, vacinados com salina. A avaliação da resposta imunológica dos animais à vacina - placebo foi feita por meio de testes de ELISA-FML e a intradermorreação de Montenegro (IDRM). O ELISA-FML foi positivo em 100% dos animais do grupo vacinado e em 68% do grupo controle ao final de 24 meses. A IDRM foi positiva em 94% dos animais do grupo vacinado (diâmetro médio das áreas de induração = 9,1 mm) e em 32% no grupo controle (diâmetro médio das áreas de induração = 5 mm). No grupo controle, quatro animais morreram e outros seis desenvolveram sinais clínicos de doença. Em todos esses animais a infecção por *Leishmania* foi confirmada parasitologicamente ou através de PCR. No grupo vacinado, cinco animais desenvolveram sinais clínicos de doença, tendo sido a infecção comprovada em três, por PCR.
- No segundo estudo (Borja-Cabrera *et al.*, 2002), foram utilizados 85 animais: 44 cães vacinados com a vacina FML-QuilA e 41 controles tratados com salina. A avaliação da resposta imunológica desses animais foi feita através de ELISA-FML e a IDRM. Ao fim de

41 meses, todos os animais dos grupos controle e vacinados apresentavam ELISA-FML positiva. A IDRM foi positiva em 100% dos animais do grupo vacinado (diâmetro médio das áreas de induração = 8,8 mm) e negativa em todos os animais do grupo controle. Nos grupos controle e vacinado 25% e 5% dos animais, respectivamente, desenvolveram doença e morreram.

- O terceiro estudo (Mendes *et al.*, 2003) refere-se ao perfil de resposta sérica referente aos isotipos (IgG1 e IgG2) de imunoglobulinas em animais vacinados (68 animais de área não endêmica) ou naturalmente infectados com *Leishmania* (121 animais), com sinais de doença. Em cães vacinados, a atividade de anticorpos do isotipo IgG2 anti-FML em ELISA foi maior que IgG1, enquanto no grupo naturalmente infectado com sinais de doença a atividade de anticorpos do isotipo IgG1 foi maior que IgG2.

Os dados apresentados nos ensaios de fase III da vacina em questão, ainda que potencialmente influenciados pelas múltiplas injeções de antígeno durante os testes de Montenegro (Nascimento *et al.* 1993; Cardoso *et al.*, 1998) mostram diferenças entre os grupos de animais vacinados e não vacinados, sugerindo um efeito protetor da vacina. Em todos os estudos foram utilizadas como variáveis de desfecho a morte e a presença de sinais de doença. A avaliação da resposta imunológica foi determinada por meio da determinação de anticorpos específicos contra a FML, a reação de hipersensibilidade tardia e a resposta sérica por IgG1 e IgG2, que constituem sinais indiretos da eficácia da vacina com relação à eliminação do cão como reservatório da doença.

O teste de Montenegro constitui um indicador de hipersensibilidade tardia, potencialmente associado à proteção, mas não à ausência de parasitismo na leishmaniose visceral canina (Pinelli *et al.*, 1994; Paranhos-Silva *et al.*, 2003).

Ainda que os dados apresentados sobre um aumento da atividade de anticorpos do isotipo IgG1 em cães com sinais clínicos de leishmaniose visceral corroborem dados da literatura (Bourdoiseau *et al.* 1997; Leandro *et al.* 2001, Nieto *et al.* 1999 e dados do nosso laboratório), os dados referentes a IgG2 são discrepantes. Um predomínio da resposta sérica por IgG2 tem sido descrita em animais infectados com *Leishmania*, independente da presença ou ausência de sinais de enfermidade. Ainda que essa

discrepância possa resultar do uso de um sistema de ELISA diferente (ELISA-FML), o real significado dos achados apresentados pelos autores e a sua relevância como elemento de discriminação entre cães capazes ou não de funcionar como reservatório do parasito precisa ser determinado. São necessários mais estudos com relação à resposta imunológica em cães, uma vez que os trabalhos já apresentados demonstraram que em camundongos e no homem a resposta vacinal induz a um aumento de IgG1 e há poucos estudos publicados com relação a resposta vacinal em cães.

Com os dados publicados nos estudos de fase III não foi possível identificar o método utilizado para determinar a eficácia vacinal (EV) nem avaliar se o tamanho de amostra foi suficiente, uma vez que não foi apresentado estimativas de EV com seus respectivos intervalos de confiança. Utilizando-se a fórmula clássica de estimativa da EV ($EV = 1 - RR/100$) determina-se uma $EV=69\%$, assumindo que não houve perdas ao acompanhamento (não informadas na publicação). O critério de seleção dos animais também não está claro, havendo o relato apenas do critério sorológico como diagnóstico de ausência de infecção. Os grupos selecionados devem ser semelhantes em todos os aspectos com exceção do uso da vacina, entretanto não foi estimada a razão de incidência de doença clínica nos cães. A avaliação da efetividade de estratégia de controle da leishmaniose visceral canina requer uma compreensão da dinâmica da população de cães infectados e da população de flebotomíneos, as quais não se encontram descritas nos trabalhos, bem como a ausência de informações referentes a alocação aleatória de outras características importantes como as condições sociais e demográficas e da força de infecção da área de estudo (diferenças de incidência canina entre as localidades de residência dos animais e a população flebotomínica).

Finalmente, nos dois artigos relacionados aos estudos de fase III (da Silva et al., 2001; Borja-Cabrera et al., 2002) os autores consideram que uma redução do número de casos de leishmaniose visceral humana em São Gonçalo do Amarante-RN, entre 1996 (15 casos) e 1998 (nenhum caso) seria potencialmente atribuível a realização desses ensaios de vacinação. Entretanto, o município de São Gonçalo do Amarante-RN notificou sete casos no ano de 1998, 22 casos em 1999, 27 casos em 2000, seis casos em 2001 e seis casos em 2002, segundo dados oficiais do MS. Interpretações alternativas devem, portanto, ser consideradas para estes resultados re-

lacionados à leishmaniose visceral humana, tais como: (1) o caráter cíclico da incidência de leishmaniose visceral humana tem sido destacado por vários autores e tem sido sugerido que fatores climáticos desempenhariam um importante papel na produção destas flutuações (Franke et al., 2002); (2) a possibilidade de que essa intervenção, realizada sobre um número restrito de animais, tenha originado esse efeito sobre a doença humana no ano de 1998 excede largamente as expectativas originadas de modelos matemáticos baseados em dados correntes da literatura (Dye, 1996).

Os estudos realizados referem-se apenas a eficácia vacinal, não existindo ainda estudos direcionados ao impacto da vacinação canina na incidência da IV humana, nem estudos de custo/efetividade e custo/benefício. Além das limitações dos ensaios já relatadas há o inconveniente de que o produto não é utilizado em dose única, possui um baixo nível de proteção e ainda, interfere com outros recursos diagnósticos utilizados na rede pública de laboratórios.

Diante da fundamentação construída durante a discussão da oficina, as fragilidades metodológicas nos estudos de fase III e a ausência de um estudo de efetividade com relação à incidência em humanos, o Ministério da Saúde determina:

- Não utilização da vacina Leishimune® como medida de controle da leishmaniose visceral no Brasil, até uma avaliação de sua efetividade, com metodologia adequada para este tipo de estudo.
- Coibição da utilização do Teto Financeiro de Epidemiologia e Controle de Doenças (TFECD), por parte das Secretarias Municipais de Saúde, para a aquisição deste produto.
- A rede pública de laboratórios não está autorizada a realizar exames sorológicos com a finalidade de descartar a infecção canina para posterior vacinação, exceto em protocolos de investigação devidamente aprovados pela SVS.
- O diagnóstico sorológico dos animais a serem vacinados é de responsabilidade exclusiva do médico veterinário, que será responsável pelo animal vacinado e arcará com as despesas do diagnóstico.

Os Programas de Vigilância e Controle de Doenças utilizam vacinas como uma importante ferramenta para a prevenção de agravos transmissíveis. Para que uma vacina seja utilizada como

medida de controle pelo Ministério da Saúde é necessário que a mesma tenha uma alta efetividade associada a um baixo custo assim como, ser operacionalmente viável, segura, eficaz e de proteção duradoura. No caso de vacinas direcionadas ao cão é necessário ainda que haja uma adesão dos profissionais de saúde, proprietários dos animais, entidades de proteção animal e da população em geral para que possa ser alcançada uma alta cobertura vacinal (> 80%).

A Secretaria de Vigilância em Saúde estará discutindo com grupos de pesquisa, a realização de estudos por grupos independentes, no sentido de avaliar o real impacto da vacina sobre a incidência da leishmaniose visceral humana ou sobre a transmissão do parasito por cães aos flebotomíneos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, da Silva VO, Paraguai de Souza E, Santos WR, Gomes EM, Luz KG, Palatnik M, Palatnik de Sousa CB. Long lasting protection against canine kala-azar using the FML-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (Sao Goncalo do Amarante, RN). *Vaccine*. 2002 Sep 10;20(27-28):3277-84.
- Bourdoiseau G, Bonnefont C, Hoareau E, Boehringer C, Stolle T, Chabanne L. Specific IgG1 and IgG2 antibody and lymphocyte subset levels in naturally Leishmania infantum-infected treated and untreated dogs. *Vet Immunol Immunopathol*. 1997 Oct 6;59(1-2):21-30.
- Cardoso L, Neto F, Sousa JC, Rodrigues M, Cabral M. Use of a leishmanin skin test in the detection of canine Leishmania-specific cellular immunity. *Vet Parasitol*. 1998 Nov 16;79(3):213-20.
- Silva VO, Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, de Souza EP, Luz KG, Palatnik M, Palatnik de Sousa CB. A phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (Sao Goncalo do Amarante, RN). *Vaccine*. 2000 Dec 8;19(9-10):1082-92.
- De Oliveira Mendes C, Paraguai de Souza E, Borja-Cabrera GP, Maria Melo Batista L, Aparecida dos Santos M, Ellner Parra L, Menz I, Palatnik M, Palatnik de Sousa CB. IgG1/IgG2 antibody dichotomy in sera of vaccinated or naturally infected dogs with visceral leishmaniasis. *Vaccine*. 2003 Jun 2;21(19-20):2589-97.
- Dye, C., 1996. The logic of visceral leishmaniasis control. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 55, 125-130.
- Franke CR, Ziller M, Staubach C, Latif M. Impact of the El Nino/Southern Oscillation on visceral leishmaniasis, Brazil. *Emerg Infect Dis*. 2002 Sep;8(9):914-7.

Leishmaniose visceral canina (continuação)

Leandro C, Santos-Gomes GM, Campino L, Romao P, Cortes S, Rolao N, Gomes-Pereira S, Rica Capela MJ, Abranches P. Cell mediated immunity and specific IgG1 and IgG2 antibody response in natural and experimental canine leishmaniosis. Vet Immunol Immunopathol. 2001 May 30;79(3-4):273-84.

Nascimento MD, Alcantara-Neves NM, Muniz ME, Nunes SE, Paranhos M, de Carvalho LC. Induction and modulation of the immune response to Leishmania by Montenegro's skin test. Trans R Soc Trop Med Hyg. 1993 Jan-Feb;87(1):91-3.

Nieto CG, Garcia-Alonso M, Requena JM, Miron C, Soto M, Alonso C, Navarrete I. Analysis of the humoral immune response against total and recombinant antigens of Leishmania infantum: correlation with disease progression in canine experimental leishmaniasis. Vet Immunol Immunopathol. 1999 Feb 1;67(2):117-30.

Paranhos-Silva M, Pontes-de-Carvalho LC, de Sa Oliveira GG, Nascimento EG, dos-Santos WL. Skin reactions to thimerosal and Leishmania in dogs from a leishmaniasis endemic area: it is better to keep them apart. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2001 Jul;96(5):679-81.

Pinelli E, Killick-Kendrick R, Wagenaar J, Bernadina W, del Real G, Ruitenberg J. Cellular and humoral immune responses in dogs experimentally and naturally infected with Leishmania infantum. Infect Immun. 1994 Jan;62(1):229-35.

ELABORAÇÃO

Ana Nilce Silveira Maia-Secretaria de Vigilância em Saúde/MS

Waneska Alexandra Alves-Secretaria de Vigilância em Saúde/MS

João Carlos França da Silva-Universidade Federal de Minas Gerais

Washington dos Santos-Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ-BA

Eduardo Hage Carmo-Secretaria de Vigilância em Saúde/MS

Aldina Barra-Centro de Pesquisa Gonçalo Moniz/FIOCRUZ-BA

Maria Margarita Urdaneta-Secretaria de Vigilância em Saúde/MS