

Simpósio Internacional
“Leishmaniose Visceral: Desafios para o Controle no Contexto da Diversidade dos Cenários”



Leishmaniose canina: diagnóstico e manejo do reservatório urbano

Canine leishmaniasis: diagnosis and management of the urban reservoir

RIALA6/1763

Filipe DANTAS-TORRES^{1,2*}

*Endereço para correspondência: ¹Departamento de Imunologia, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz). Avenida Professor Moraes Rego s/n, Recife, Brasil, CEP: 50740-465. Tel: +55 81 2123 7826. E-mail: filipe.dantas@cpqam.fiocruz.br

²Departamento de Medicina Veterinária, Universidade de Bari, Valenzano, Itália

Recebido: 17.09.2018 - Aceito para publicação: 28.12.2018

RESUMO

A leishmaniose canina é uma doença multifacetada, causada por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, transmitidos por várias espécies de flebotomíneos, em diferentes tipos de ambiente. A leishmaniose tem um impacto psicossocial e socioeconômico considerável em áreas endêmicas no Brasil, onde as populações mais afetadas já são historicamente castigadas por outros males e condicionantes do processo saúde-doença, como a própria pobreza e má-nutrição. Diante desse contexto, a leishmaniose canina deixou, há muito tempo, de ser um “problema veterinário” e passou a ser uma questão de saúde pública. Nos últimos anos, vários avanços foram alcançados no que diz respeito a leishmaniose canina. No presente artigo, alguns aspectos relacionados ao diagnóstico e manejo de cães infectados por *Leishmania infantum*, sejam esses sadios ou doentes, são discutidos. É preciso utilizar de forma correta os testes diagnósticos disponíveis e interpretar os resultados à luz dos achados clínicos. Uma vez que o diagnóstico de leishmaniose canina for confirmado, veterinários e profissionais da saúde pública devem considerar todas as opções disponíveis antes de decidir qual a melhor estratégia a ser adotada em cada caso individual. Por fim, o uso de produtos à base de piretróides permanece como a principal medida de prevenção a ser adotada em cães em áreas endêmicas.

Palavras-chave. leishmaniose, cães, diagnóstico, tratamento, prevenção.

ABSTRACT

Canine leishmaniasis is a multifaceted disease, caused by several species of *Leishmania*, transmitted by several species of sand flies, in different types of environment. Leishmaniasis has a considerable psychosocial and socioeconomic impact in endemic areas in Brazil, where the most affected populations are historically punished by other ills and conditioners of the health-disease process, such as poverty and malnutrition. In this context, canine leishmaniasis has long been a “veterinary problem” and has become a public health issue. In recent years, several advances have been achieved with regard to canine leishmaniasis. In this article, some aspects related to the diagnosis and management of dogs infected with *Leishmania infantum*, whether healthy or sick, are discussed. It is important to use available diagnostic tests in a correct way and to interpret results in light of clinical findings. Once the diagnosis of canine leishmaniasis is confirmed, veterinarians and public health professionals should consider all the options available before deciding on the best strategy to adopt in each individual case. Finally, prevention of infection through the use of pyrethroid-based products remains the main measure to be adopted in uninfected dogs in endemic areas.

Keywords. leishmaniasis, dogs, diagnosis, treatment, prevention.

INTRODUÇÃO

Há muito tempo, antes mesmo de o cão se tornar o melhor amigo do homem (ou, atualmente, um membro da família), vivíamos em ambientes naturais, nas florestas tropicais que cobriam o Brasil, de norte a sul, de leste a oeste. Nessa época, não existiam áreas rurais, não existiam cidades. Os ciclos enzoóticos de protozoários do gênero *Leishmania* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) ocorriam exclusivamente nesses ambientes naturais, com a participação de mamíferos silvestres como hospedeiros, incluindo pequenos roedores, marsupiais, quatis, tatus, bichos-preguiça, primatas não humanos, entre outros¹.

Com a chegada dos colonizadores europeus e, de forma mais intensa, após a revolução industrial, o território brasileiro foi completamente transformado. Por exemplo, a floresta atlântica brasileira foi praticamente dizimada, restando atualmente menos de 10% da sua cobertura original². Os ambientes naturais foram transformados em áreas rurais, caracterizadas por habitações humanas esparsas, áreas de plantações e pastagens. Posteriormente, com o progresso, algumas dessas áreas foram transformadas em urbanas. De fato, muitas das grandes cidades brasileiras (por exemplo, Rio de Janeiro, São Paulo e Recife) foram construídas em áreas de influência da mata atlântica.

Em ambientes modificados pelo homem, insetos vetores de agentes infecciosos encontram abrigo e alimento. Por exemplo, várias espécies de flebotômíneos vetores de *Leishmania* spp. se adaptaram a viver ao redor ou mesmo dentro de habitações humanas. Nesses ambientes, os animais domésticos podem servir como fonte alimentar e eventualmente como fonte dos parasitos para os flebotômíneos vetores. Em particular, o cão doméstico é um animal bastante susceptível a várias espécies de *Leishmania*, incluindo *Leishmania braziliensis* e *Leishmania infantum*³.

Na América do Sul, a leishmaniose canina é uma doença multifacetada, causada por várias espécies de *Leishmania* e, conseqüentemente, com aspectos clínico-epidemiológicos variados³. Por exemplo, os aspectos clínicos da leishmaniose canina nessa região também podem variar desde pequenas úlceras cutâneas localizadas (como é o caso das lesões causadas por *L. braziliensis* e *Leishmania panamensis*), até quadros mais graves, sistêmicos que podem levar o animal a óbito como é o caso da leishmaniose visceral por *L. infantum*.

A leishmaniose tem um impacto psicossocial e socioeconômico considerável em áreas endêmicas no Brasil, onde as populações mais afetadas já são historicamente castigadas por outros males e condicionantes do processo saúde-doença, como a própria pobreza e má-nutrição. Diante desse contexto, a leishmaniose canina deixou, há muito tempo, de ser um “problema veterinário” e passou a ser uma questão de saúde pública. Nos últimos anos, vários avanços foram alcançados no que diz respeito a leishmaniose canina. No presente artigo, alguns aspectos relacionados ao diagnóstico e manejo de cães infectados por *L. infantum*, sejam esses sadios ou doentes, são discutidos.

MATERIAL E MÉTODOS

Esse artigo foi elaborado a partir da transcrição da palestra “Diagnóstico e manejo do reservatório vivendo entre nós” proferida por mim, no simpósio internacional “Leishmaniose visceral: desafios para o controle no contexto da diversidade de cenários”, realizado nos dias 23 e 24 de abril de 2018, no Teatro da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Essa palestra foi baseada no artigo “*Canine visceral leishmaniasis: Diagnosis and management of the reservoir living among us*”⁴. O artigo de revisão em questão foi elaborado após consultas em diferentes bases de dados (*PubMed*, *Library of Congress*, *Web of Science*, *Scielo* e *Google Scholar*), sem critério de data. A pesquisa foi realizada com a utilização dos seguintes termos e suas associações: “*canine visceral leishmaniasis*”, “*leishmaniasis*”, “*diagnosis*”, “*molecular diagnostic methods*”, “*serology*”, “*treatment*”, “*xenodiagnosis*”, “*infectivity*”, “*prevention*”, “*control*”, “*dog culling*” e “*vaccination*”. A seleção dos artigos foi baseada na informação específica fornecida em cada artigo que seria relevante para os temas abordados na revisão: diagnóstico e manejo da leishmaniose canina.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Diagnóstico da leishmaniose canina

Diretrizes para o diagnóstico da leishmaniose canina estão disponíveis na literatura internacional⁵. Contudo, um dos principais problemas relacionados ao manejo de um cão infectado por *L. infantum* é exatamente como comprovar que se trata de uma infecção ativa (exposição versus infecção) e se se trata de uma infecção “assintomática” ou “sintomática”

(infectado sadio versus infectado doente). Muitos cães soropositivos, na verdade, foram expostos ao parasito, mas não apresentam infecção ativa. Similarmente, cães aparentemente “assintomáticos” podem apresentar alterações laboratoriais que, muitas vezes, não são investigadas durante a rotina diagnóstica, seja no âmbito privado ou da saúde pública.

No Brasil, o diagnóstico oficial preconizado pelo Ministério da Saúde inclui dois testes sorológicos. Os cães são triados pelo teste rápido DPP LVC (Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil) e, se positivos, pelo ensaio imunoenzimático EIE LVC (Bio-Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil), teste confirmatório. Porém, o diagnóstico sorológico apresenta várias limitações. De fato, resultados negativos não excluem a infecção (alguns animais são soronegativos, mas PCR positivos) e resultados positivos não confirmam infecção ativa (apenas exposição ao parasito). Um dos problemas relacionados aos testes sorológicos é a janela imunológica, ou seja, o tempo decorrido da infecção até a produção de anticorpos detectáveis, que pode durar de poucas a várias semanas. Testes sorológicos quantitativos e semi-quantitativos são mais informativos que testes qualitativos (isto é, positivo versus negativo). Títulos altos de anticorpos geralmente indicam infecção ativa e estão associados a presença de sinais clínicos, alterações hematológicas e/ou bioquímicas.

Existem vários testes sorológicos atualmente disponíveis (por exemplo, reação de imunofluorescência indireta, ensaio de imunoabsorção enzimática, teste de aglutinação direta, teste de aglutinação rápida e citometria de fluxo), utilizando diversos antígenos com sensibilidade e especificidade diferentes. Alguns desses testes foram padronizados para uso em campo, com amostras de soro ou sangue total⁴.

De fato, tem-se defendido o uso de testes rápidos que possam ser realizados no campo. Esses testes apresentam as vantagens de serem de fácil execução, rápidos e não necessitam de aparelhos sofisticados. Desvantagens incluem a baixa sensibilidade e especificidade, sobretudo em cães com baixos títulos de anticorpos. Um estudo recente comparou o teste oficial DPP LVC com dois testes comercialmente disponíveis no Brasil⁶. Um dos testes comerciais apresentou uma concordância de apenas 74% com o DPP LVC. Isso significa que mais de 25% dos animais testados por esse teste comercial podem apresentar resultados falso-

negativos. Resultados falsos negativos ou positivos são um problema grave em se tratando de leishmaniose canina, uma vez que o erro diagnóstico pode levar a sérias consequências, desde a permanência de um animal infectado sem manejo, até eutanásia indevida de um animal não infectado.

O diagnóstico molecular da infecção por *Leishmania* spp. em animais e humanos tem evoluído consideravelmente. Existem vários protocolos disponíveis na literatura com sensibilidade analítica elevada, ou seja, capazes de detectar quantidades de DNA equivalentes a menos de um parasito por reação. Diversos alvos genéticos têm sido utilizados, sendo o DNA do cinetoplasto (kDNA) um dos alvos mais usados, especialmente os minicírculos que estão presentes em grande quantidade (10 mil cópias por parasito), favorecendo a sensibilidade do teste em vários tipos de amostras.

Vários tipos de amostras têm sido empregadas para o diagnóstico molecular da infecção por *Leishmania* spp. em cães. Amostras como medula óssea, baço e linfonodos geralmente contêm uma quantidade maior de parasitos. O sangue não é a amostra mais indicada, porém é a mais acessível, sobretudo em condições de campo e em estudos epidemiológicos. Logo, é importante o desenvolvimento de testes moleculares mais sensíveis, capazes de detectar pequenas quantidades de DNA de *Leishmania* spp. nesse tipo de amostra. Testes moleculares com DNA extraído de amostras de pele podem apresentar resultados variados, mas muitas vezes satisfatórios pois muitos animais com infecção ativa apresentam parasitismo cutâneo elevado⁷. Outras amostras não invasivas incluem *swab* conjuntival e urina.

Um das questões presentes atualmente na literatura e entre pesquisadores é o desenvolvimento de testes moleculares mais econômicos e que possam ser utilizados em condições ambulatoriais ou de campo. Recentemente, otimizamos um protocolo de PCR em tempo real para detecção de *Leishmania* em aproximadamente 34 minutos, utilizando um baixo volume final de reação⁸. Com isso, reduzimos os custos e o tempo necessário para obtenção dos resultados. Contudo, testes como esse ainda requerem a utilização de aparelhos sofisticados e condições de laboratório adequadas. Testes moleculares de uso remoto têm sido propostos, mais ainda apresentam uma baixa sensibilidade em comparação com os testes moleculares utilizados em condições de laboratório⁹.

Manejo do reservatório urbano

A eutanásia de cães infectados tem sido empregada como medida de controle para leishmaniose visceral no Brasil, sendo uma das principais estratégias recomendadas pelo Ministério da Saúde. Atualmente, existe muita resistência contra essa medida, não apenas por razões éticas, mas principalmente por questões científicas¹⁰. Revisões sistemáticas de estudos avaliando o efeito da eutanásia na incidência da leishmaniose visceral humana concluíram que não existem estudos, com desenho experimental adequado, livres de vieses, que comprovem a eficácia de tal medida^{11,12}. Ademais, atualmente existe uma miríade de estratégias alternativas de controle e prevenção como, por exemplo, o uso de repelentes a base de piretróides, imunomoduladores, vacinas e até mesmo o tratamento de animais doentes^{5,13,14}.

Estudos demonstraram que o tratamento de animais com leishmaniose visceral reduz a infecciosidade, ou seja, a capacidade desse animal servir como fonte de infecção para os flebotomíneos vetores⁴. Em um trabalho apresentado recentemente no Congresso Mundial de Leishmaniose em Toledo, na Espanha, demonstrou-se uma redução de 74,2% na infecciosidade de cães tratados com miltefosina¹⁵, droga atualmente licenciada para o tratamento da leishmaniose visceral canina no Brasil. Porém, é imperativo enfatizar que esse não é o objetivo do tratamento. O tratamento tem por objetivo curar clinicamente o animal enfermo, ou seja, não é uma medida de saúde pública, mas sim uma medida individual. Todos os animais em tratamento precisam estar protegidos com repelentes à base de piretróides, a fim de reduzir o risco de reinfecção e o risco para outros animais e pessoas.

CONCLUSÃO

Muitos avanços foram obtidos nos últimos anos no que se refere ao diagnóstico e manejo de cães infectados por *Leishmania* spp., inclusive no tratamento da leishmaniose canina. Contudo, a prevenção continua sendo, sem dúvidas, a melhor opção. Estudos de laboratório e de campo comprovam que o uso de repelentes à base de piretróides constitui a medida mais eficaz na prevenção da infecção por *L. infantum* em cães^{4,5,13}.

A eutanásia em massa tem sido paulatinamente abandonada como medida de controle e substituída

por estratégias mais eficazes e éticas. Contudo, a eutanásia permanecerá como uma opção individual, em casos específicos. Por exemplo, em cães com doença terminal, prognóstico desfavorável, em sofrimento, sem possibilidades de tratamento, a eutanásia pode ser uma opção a ser considerada. Certamente, a eutanásia deve seguir rigorosamente as normas vigentes e ser executada ou supervisionada por um médico veterinário.

Por fim, é importante salientar que o impacto negativo de doenças negligenciadas como as leishmanioses só será efetivamente reduzido quando essas deixarem de ser negligenciadas. Essas doenças deixarão de constituir um grave problema de saúde pública quando as populações sob risco tiverem acesso à melhores condições de moradia, em um ambiente menos degradado e com saneamento básico, melhor nutrição, educação de qualidade e amplo acesso aos serviços básicos de saúde. Sem isso, essas populações estarão destinadas a conviverem com parasitos letais e seus vetores.

AGRADECIMENTOS

Obrigado a Kamila Gaudêncio da Silva Sales (Instituto Aggeu Magalhães, Fiocruz-PE, Brasil) por ajudar na transcrição da palestra “Diagnóstico e manejo do reservatório vivendo entre nós” proferida no simpósio internacional “Leishmaniose visceral: desafios para o controle no contexto da diversidade de cenários”, realizado nos dias 23 e 24 de abril de 2018, no Teatro da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

REFERENCIAS

1. Maia C, Dantas-Torres F, Campino L. Parasite biology: The reservoir hosts. In: Bruschi F, Gradoni L. (editors) *The Leishmaniasis: Old Neglected Tropical Diseases*. Springer, Cham; 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72386-0_4
2. Haddad NM, Brudvig LA, Clobert J, Davies KF, Gonzalez A, Holt RD et al. Habitat fragmentation and its lasting impact on Earth's ecosystems. *Sci Adv*. 2015;1(2):e1500052. <http://dx.doi.org/10.1126/sciadv.1500052>

3. Dantas-Torres F. Canine leishmaniosis in South America. *Parasit Vectors*. 2009;2 Suppl 1:S1. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-2-S1-S1>
4. Travi BL, Cordeiro-da-Silva A, Dantas-Torres F, Miró G. Canine visceral leishmaniasis: diagnosis and management of the reservoir living among us. *PLoS Negl Trop Dis*. 2018;12(1):e0006082. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0006082>
5. Solano-Gallego L, Miró G, Koutinas A, Cardoso L, Pennisi MG, Ferrer L et al. LeishVet guidelines for the practical management of canine leishmaniosis. *Parasit Vectors*. 2011;4:86. <http://dx.doi.org/10.1186/1756-3305-4-86>
6. Dantas-Torres F, Sales KGS, da Silva LG, Otranto D, Figueredo LA. Level of agreement between two commercially available rapid serological tests and the official screening test used to detect *Leishmania* seropositive dogs in Brazil. *Vet J*. 2018;234:102-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2018.02.007>
7. Courtenay O, Carson C, Calvo-Bado L, Garcez LM, Quinnell RJ. Heterogeneities in *Leishmania infantum* infection: using skin parasite burdens to identify highly infectious dogs. *PLoS Negl Trop Dis*. 2014;8(1):e2583. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0002583>
8. Dantas-Torres F, da Silva Sales KG, Gomes da Silva L, Otranto D, Figueredo LA. *Leishmania*-FAST15: A rapid, sensitive and low-cost real-time PCR assay for the detection of *Leishmania infantum* and *Leishmania braziliensis* kinetoplast DNA in canine blood samples. *Mol Cell Probes*. 2017;31:65-9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.mcp.2016.08.006>
9. Selder R, Weber K, Bergmann M, Geisweid K, Hartmann K. Sensitivity and specificity of an in-clinic point-of-care PCR test for the diagnosis of canine leishmaniasis. *Vet J*. 2018;232:46-51. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tvjl.2017.12.006>
10. Dantas-Torres F, Miró G, Bowman DD, Gradoni L, Otranto D. Culling dogs for zoonotic visceral leishmaniasis control: the wind of change. *Trends Parasitol*. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2018.11.005>
11. Romero GA, Boelaert M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America: a systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010; 4(1):e584. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pntd.0000584>
12. González U, Pinart M, Sinclair D, Firooz A, Enk C, Vélez ID et al. Vector and reservoir control for preventing leishmaniasis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2015;(8):CD008736. <http://dx.doi.org/10.1002/14651858.CD008736.pub2>
13. Wylie CE, Carbonell-Antonanzas M, Aiassa E, Dhollander S, Zagmutt FJ, Brodbelt DC et al. A systematic review of the efficacy of prophylactic control measures for naturally occurring canine leishmaniosis. Part II: topically applied insecticide treatments and prophylactic medications. *Prev Vet Med*. 2014a;117(1):19-27. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.06.016>
14. Wylie CE, Carbonell-Antonanzas M, Aiassa E, Dhollander S, Zagmutt FJ, Brodbelt DC et al. A systematic review of the efficacy of prophylactic control measures for naturally-occurring canine leishmaniosis, part I: vaccinations. *Prev Vet Med*. 2014b;117(1):7-18. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.06.015>
15. De Mari K AV, Nogueira FS, Menz I, Moreira MABM, Chioccola VLP, Hiramoto R et al. Evaluation of the potential of infectivity of dogs with visceral leishmaniasis and treated with miltefosine by using a xenodiagnosis. 6th World Congress on Leishmaniasis (2017), Toledo, Spain 16–19th May.