

# Vacinas Contra Leishmaniose: Uma Revisão

## *Vaccines Vs Leishmaniasis: A Review*

## *Vacunas Contra La Leishmaniasis: Una Revisión*

Kathlenn Liezbeth Oliveira **Silva**<sup>1</sup>

Diego Pacheco **Santos**<sup>2</sup>

Natália Marinho Dourado **Coelho**<sup>2</sup>

Deuvânia Carvalho da **Silva**<sup>1</sup>

Ana Claudia **Okamoto**<sup>3</sup>

Elerson **Gaetti-Jardim Júnior**<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP  
Universidade Estadual Paulista, Araçatuba – SP, Brasil*

<sup>2</sup>*Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal – Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba, UNESP  
Universidade Estadual Paulista, 16050-680, Araçatuba – SP, Brasil*

<sup>3</sup>*Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, UNESP  
Universidade Estadual Paulista, 16015-050, Araçatuba – SP, Brasil*

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à família Trypanosomatidae, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear. No Novo e Velho Mundo diversas ordens de mamíferos silvestres (reservatórios naturais) e várias espécies de flebotomíneos (vetores) estão envolvidas na transmissão da leishmaniose. As novas colonizações em áreas rurais, mudanças no meio ambiente e urbanização não-planejada aumentaram o contato do homem com o vetor e a interação com o reservatório animal. Uma medida profilática simples parece ser o controle do vetor e também de reservatórios da doença. Com o objetivo de levantar as medidas profiláticas que estão sendo utilizadas no controle do vetor, no reservatório da doença e qual a infra-estrutura nesse sentido. Foi realizado um levantamento bibliográfico em julho de 2011 nas bases de dados eletrônicos do Bireme, Medline, Cancerlit, Portal Capes, Scielo, Medscape e PubMed, dos principais textos sobre o assunto. Sendo assim, o desenvolvimento de uma vacina que seja eficaz contra diferentes formas de leishmanioses, no Velho e no Novo Mundo, torna-se necessária e tem sido recomendada pela OMS como uma ferramenta possível para uma efetiva erradicação da doença.

**Palavras chave:** Prevenção e Controle, Controle de Doenças Transmissíveis, *Leishmania*, Vacinação.

## INTRODUÇÃO

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à família *Trypanosomatidae*, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear. As leishmanioses são doenças crônicas, de manifestações cutâneas e viscerais causadas por protozoários flagelados do gênero *Leishmania*<sup>1</sup>, estes são de diferentes espécies, porém morfológicamente semelhantes, sendo diferenciados

apenas por métodos bioquímicos, imunológicos ou mesmo patológicos. Considerada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como uma antropozoonose de grande interesse na saúde pública mundial, representando um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. Segundo a World Health Organization<sup>2</sup> (WHO) estima-se que cerca de 350 milhões de pessoas estejam expostas ao risco de contrair esta enfermidade, com registro aproximado de

dois milhões de novos casos das diferentes formas clínicas ao ano; o que a coloca como uma das cinco doenças infectoparasitárias e endêmicas de maior relevância pelo seu alto coeficiente de infecção e pela capacidade de produzir deformidades.

## MATERIAL E MÉTODO

Foi realizado um levantamento bibliográfico no período de julho de 2011 nas bases de dados eletrônicos do Bireme, Medline, Cancerlit, Portal Capes, Scielo, Medscape e PubMed, dos principais textos sobre o assunto.

Foram utilizadas como descritores palavras chave em português como: *vacinas*, *leishmaniose*, *cão*, *humano* e *leishmaniose visceral canina*. Alguns artigos foram pesquisados e obtidos através da citação feita em folders das próprias vacinas.

O critério utilizado para a inclusão de artigos foi concernente à metodologia empregada e quanto aos testes realizados de preferência no âmbito de eficácia e imunogenicidade e histórico das leishmanioses. Quanto aos critérios de exclusão utilizamos como base para retirada de artigos aquele que continham poucas informações relacionadas a eficiência das vacinas ou textos que não traziam informações adicionais com relação a outros já obtidos e mais completos.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

No Novo e Velho Mundo diversas ordens de mamíferos silvestres (reservatórios naturais) e várias espécies de flebotomíneos (vetores) estão envolvidas na transmissão da leishmaniose<sup>3</sup>. De acordo com Rey<sup>4</sup> devido às diversas características clínicas e epidemiológicas podemos dividir as doenças provocadas por este parasito em quatro grupos: 1. Leishmaniose cutânea; 2. Leishmaniose muco-cutânea ou cutâneo-mucosa; 3. Leishmaniose cutânea difusa, 4. Leishmaniose visceral.

### LEISHMANIOSE VISCERAL

Segundo a OMS<sup>5</sup>, a leishmaniose visceral (LV) ou Calazar (indiana) caracteriza-se por ser uma

doença crônica cuja sintomatologia envolve: febre ondulante, perda de peso, esplenomegalia, hepatomegalia e/ou linfadenopatias e anemia, é a forma mais severa dentre as leishmanioses sendo potencialmente letal.

Causada pela *Leishmania donovani* complexo - *L. d. donovani* e *L. d. archibaldi* (Índia, Ásia e leste da África), *L. d. chagasi* (América) e *L. d. infantum* (Europa, Norte de África e América Latina), a doença é responsável por significativa morbidade e mortalidade nos países em desenvolvimento<sup>6</sup>, pacientes com doença ativa apresentam marcada imunossupressão e, muitas vezes sucumbem a infecções secundárias<sup>7,8</sup>. Os dois tipos de transmissão existentes para a LV são: ciclo zoonótico, onde a doença é transmitida ao homem a partir de um vetor que fez o repasto sanguíneo em reservatório animal e o ciclo antroponótico, onde a LV é transmitida de homem para homem através do vetor. No primeiro, os seres humanos são hospedeiros ocasionais e os animais, principalmente cães, são os reservatórios do parasito<sup>9</sup>. A transmissão de *L. chagasi* se dá pelo ciclo zoonótico, já o ciclo antroponótico é encontrado em áreas de transmissão de *L. donovani*<sup>10</sup>.

A LV não tratada acarreta uma mortalidade de 75-79%, e seu período de incubação varia de 3 a 8 meses<sup>11,12</sup>. Cerca de 200 milhões de pessoas correm o risco de adquirir a LV em 70 países com uma incidência anual estimada de 500.000 casos e 50.000 mortes por ano<sup>13</sup>.

### LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) ou também conhecida como “Úlcera de Bauru” tem por causa a *Leishmania brasiliensis* é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, caracteriza-se pela produção de lesões cutâneas de vários tipos, muitas vezes por lesões secundárias na região nasal ou bucofaringeanas. Distingue-se de outras infecções produzidas por leishmanias do mesmo complexo (*L. guyanensis*, *L. panamensis* e *L.*

*peruviana*) porque estas determinam lesões cutâneas geralmente sem metástases nas mucosas<sup>4</sup>. Primariamente, é uma infecção zoonótica, afetando outros animais que não o ser humano, o qual pode ser envolvido secundariamente.

Dados do Departamento de Informática do SUS (DATASUS), registraram no período de 1999 a 2003, cerca de 33.872 casos de leishmaniose tegumentar americana por ano no Brasil. A doença é registrada em todos os estados, observando-se sua expansão em amplitude sendo 169.361 o número de casos. Assim como na LV a LTA normalmente é uma doença zoonótica tendo uma ampla gama de mamíferos como reservatórios, mas pode ser antroponótica em regiões urbanas endêmicas, especialmente no Sudão, Afeganistão e Índia. O número de casos globais aumentou durante a última década, como resultado do controle inadequado de vetores e reservatórios, bem como o aumento de infecções oportunistas como HIV / AIDS<sup>14</sup>.

### DISTRIBUIÇÃO GEOGRÁFICA

No Brasil, a LV é uma doença endêmica com registro de surtos freqüentes, sendo um importante problema de saúde pública. Ocorre em 65 países, distribuídos em cinco continentes, onde a África é o mais afetado. São esperados 500.000 novos casos e mais de 50.000 mortes anuais. Cerca de 90% dos casos são registrados em áreas pobres rurais e suburbanas de seis países: Bangladesh, Índia, Nepal, Sudão, Etiópia e Brasil<sup>10</sup>. Diversos fatores contribuem para a expansão e modificação das características epidemiológicas da LV estando diretamente relacionada ao fluxo migratório, com a introdução de hospedeiros infectados onde já havia a presença do vetor adaptado em densidade adequada, dando origem a novos focos das endemias<sup>15</sup>.

A leishmaniose tegumentar constitui assim como a LV um problema de saúde pública, principalmente em 88 países, distribuídos em quatro continentes (Américas, Europa, África e Ásia), com registro anual de um a 1,5 milhões de casos<sup>16</sup>.

No leste brasileiro a incidência cresce a partir da Floresta Atlântica na costa do planalto e se prolonga por este rumo ao Ocidente, sendo bastante disseminadas na Bahia, Minas gerais, Espírito Santo, Mato grosso do Sul e Goiás. Atualmente os casos novos são diagnosticados no sul do estado de São Paulo com 336 casos estudados durante um período de 15 meses em 1978-1979<sup>4</sup>.

### VETOR

Das 300 espécies descritas nas Américas, apenas dois gêneros são realmente importantes sendo eles a *Lutzomyia* (vetores de leishmanioses das Américas) e o *Phlebotomus* onde estão todos os transmissores de leishmanioses da África, Europa e Ásia<sup>4</sup>.

A *Lutzomyia longipalpis* está adaptado ao ambiente modificado, sendo comum encontrá-lo fora das residências em galinheiros, chiqueiros, canil, paiol e outros, onde as fêmeas encontram animais para seu repasto sanguíneo. O período preconizado de maior atividade do flebotomíneo inicia-se cerca de uma hora após o crepúsculo, e esgota-se aproximadamente às 23 horas<sup>17</sup>.

Embora ainda não tenha sido comprovado o papel da *L. neivai* e *L. fisheri* como vetores da LTA, estas espécies tem sido encontradas com freqüência em ambientes domiciliares onde há oferta de resíduos sólidos orgânicos em locais com umidade e sombreamento<sup>16</sup>.

Como consequência principalmente dos desmatamentos, os flebotomíneos passaram a circular no peri e intradomicílio rural e atualmente urbano, aumentando a incidência da LV em cães e humanos. 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<sup>1</sup>.

Nos últimos anos, *L. longipalpis* está sendo considerado um complexo de espécies ocorrendo,

portanto, variações no ciclo biológico, na morfologia e na fisiologia entre as colônias. Essas variações dentro do complexo podem auxiliar a explicar o fato de existirem manifestações clínicas tão diferentes da LV<sup>18</sup>.

### MAXADILAN

Estudos da saliva de *L. longipalpis* de colônias diferentes podem evidenciar essa correlação. A saliva de *L. longipalpis* contém um potente peptídeo vasodilatador denominado maxadilan<sup>19</sup>.

A forma visceral da leishmaniose é afetada pela quantidade de maxadilan, pois é observado na *L. longipalpis* da Costa Rica, pouca quantidade dessa substância e quando infectado com *L. chagasi*, causa somente lesões cutâneas. Ao contrário do Brasil e da Colômbia, onde a *L. longipalpis*, apresenta maior quantidade de maxadilan, o que, acredita-se, ocasionar uma visceralização dos parasitas, induzindo assim à Leishmaniose visceral<sup>20</sup>.

### VACINAÇÃO CONTRA LEISHMANIA

A leishmaniose é uma das mais importantes doenças parasitárias emergentes no mundo, que afeta humanos, e principalmente cães<sup>21</sup> que tem sido apontados como altamente susceptíveis à infecção, e os tratamentos empregados apresentam-se ineficazes<sup>22</sup>. As novas colonizações em áreas rurais, mudanças no meio ambiente e urbanização não-planejada aumentaram o contato do homem com o vetor e a interação com o reservatório animal. Pelo fato de haver várias espécies de *Leishmania* que estão relacionadas às diferentes manifestações clínicas da doença; é quase impossível a obtenção de um único enfoque capaz de controlar e combater a leishmaniose em geral. Uma medida profilática simples parece ser o controle do vetor e também de reservatórios da doença. No entanto, medidas de controle como estas requerem uma infraestrutura que a maior parte dos países não consegue manter<sup>23</sup>. Sendo assim, o desenvolvimento de uma vacina que seja eficaz contra diferentes formas de leishmaniose, no Velho e no Novo Mundo, torna-se necessária e tem sido recomendada pela OMS como

um ferramenta possível para uma efetiva erradicação da doença<sup>23,22,24</sup>, reduzindo a propagação de *Leishmania* por meio dos vetores, e conseqüentemente casos humanos de leishmaniose<sup>25</sup>.

Segundo a FIOCRUZ<sup>3</sup>, o emprego de organismos virulentos para imunização contra leishmânias é bastante antigo, sendo que as primeiras experiências foram realizadas na Europa em 1910 com estudos em parasitas vivos. Estudos iniciais tornaram tradicional a prática de “leishmanização”, que tem como base a observação de que, após a cura da lesão primária da leishmaniose cutânea, existe a imunidade duradoura contra a reinfecção. A leishmanização é efetuada expondo certas áreas da pele à picada de mosquitos possivelmente contaminados ou escarificando a pele com material de lesões em atividade. Em 1912, Wenyon inoculou-se com material proveniente de uma lesão de botão do oriente, obtendo lesões típicas.

De acordo com Barbieri<sup>26</sup> (2006), as drogas empregadas no tratamento da LVC são de incerta eficácia; e o desenvolvimento de uma vacina contra a *Leishmania* tem sido uma das principais alternativas estratégicas da OMS<sup>27</sup>.

Diversas vacinas têm sido testadas, incluindo as vacinas vivas ou inativadas, frações purificadas de *Leishmania*, antígenos recombinantes, expressão do antígeno e DNA plasmidial de *Leishmania* através de bactéria recombinante<sup>24</sup>.

Uma vacina comercializada no Brasil para a prevenção da leishmaniose visceral canina é a Leishmune. Ela consiste de uma fração glicoproteica purificada, (FML), fucose-manose ligand<sup>24</sup> que é um antígeno presente sobre a superfície do parasita ao longo de seu ciclo de vida, que provê uma segura proteção e alta imunogenicidade para os cães<sup>28,24</sup>. A vacina foi capaz de inibir a penetração de formas promastigotas e amastigotas em macrófagos de camundongos *in vitro*<sup>24</sup>.

Em estudo de eficácia realizado por Borja-Cabrera<sup>28</sup> et al. com 85 cães observamos a detecção de

anticorpos anti-FML quando a soropositividade dos animais vacinados com Leishmune alcançou 100% dos indivíduos 2 meses após a vacinação (Tabela 1).

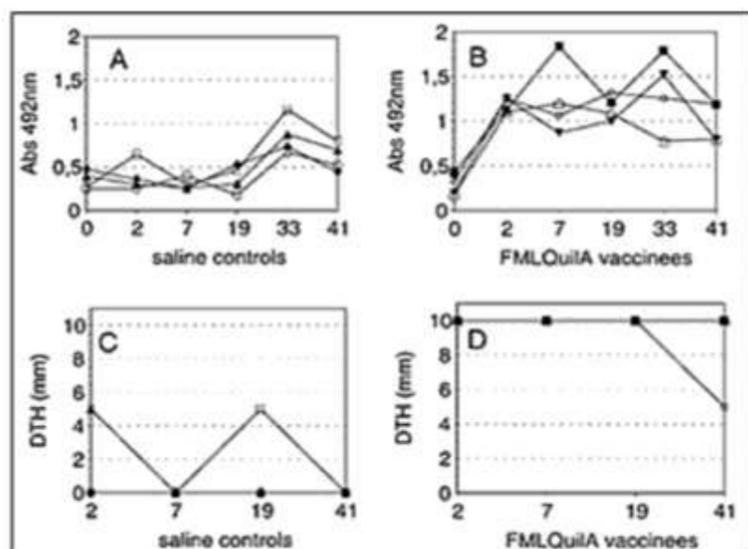
**Tabela 1.** Positividade, absorvância e tamanho de testes de pele de cães vacinados e cães controle - Fonte: Borja-Cabrera et al.<sup>28</sup> (2002) - Adaptado

	2 months			7 months			19 months			33 months			41 months		
	Sal	FML	P	Sal	FML	P	Sal	FML	P	Sal	FML	P	Sal	FML	P
ELISA (%) <sup>a</sup>	45	100	<0.005	34	96	<0.005	55	100	<0.005	91	100	<0.05	100	100	<0.05
DTH (%) <sup>a</sup>	32	100	<0.005	37.5	100	<0.005	29	100	<0.005	ND	0	100	0	100	<0.005
Abs <sup>b</sup>	0.476	1.309		0.411	1.260		0.454	1.113		0.690	1.300		0.610	0.990	<0.001
DHT <sup>c</sup>	1.716	9.090		1.765	9.160		1.428	10		ND	ND		0	1.750	<0.001

<sup>a</sup>Valor representativo do percentual de reações positivas em amostras coletadas no 2º, 7º, 19º, 33º e 41º meses após a vacinação. Significância de proporções comparadas por  $\chi^2$  - e pelo teste exato de Fisher's.

<sup>b</sup>Abs = significa a média da absorvância de 492 nm dos valores de soro do ensaio de FML-ELISA. DTH = tipo de hipersensibilidade tardia (mm): média dos valores de tamanho da reação intradermal para o lisado de promastigotas de *Leishmania donovani*. A significância das diferenças foi comparada pelo ANOVA.

Em uma figura dos mesmos autores conseguimos visualizar a evolução dos anticorpos anti-FML (Figura 1). Podemos verificar a alta taxa de eficácia da vacina Leishmune, que alcançou 92%<sup>27</sup>, 95%<sup>28</sup> e 98% de soropositividade para FML<sup>29</sup> em quatro cães vacinados e quatro cães controle foram analisados individualmente por um período de 41 meses após a vacinação.



**Figura.1.** Evolução dos anticorpos anti-FML, valores absorvância e tamanho de reação intradermal para um lisado de *L. donovani* com tempo de exposição natural de cães vacinados e cães controles tratado com salina. (A) e (B) Evolução de soropositividade para FML em controles com salina e vacinados com FML-QuilA, respectivamente. (C) e (D) Evolução do tamanho da reação intradermal em controles com salina e vacinados com FML-QuilA, respectivamente. Fonte: Borja-Cabrera et al.<sup>28</sup> - Adaptado

Outra vacina anti-leishmânia canina disponível no mercado é a Leish-Tec<sup>30</sup>, e segundo o manual dessa vacina ela promove respostas imune celular, humoral, parasitológica e clínica de cães imunizados com o

antígeno recombinante A2, associado ao adjuvante saponina.

O antígeno A2 é uma proteína formada por múltiplas cópias de unidade de 10 aminoácidos, expresso preferencialmente em formas amastigotas de *L. (L.) donovani* e *L. (L.) chagasi*. A inibição da expressão de A2 em formas amastigotas resulta na perda da virulência de *L. (L.) donovani*<sup>30</sup>.

No estudo realizado pelos pesquisadores da UFMG, animais imunizados com Leish-Tec apresentaram níveis de anticorpos IgG2 anti-rA2 significativamente maiores, indicando a indução de resposta TH1. De acordo com Ravindran<sup>31</sup>; Kar<sup>32</sup> e Luvizotto<sup>33</sup> em cães infectados, o parasitismo resulta em uma disfunção imunológica específica do sistema fagocítico, produzindo diferentes graus de sinais clínicos e imunológicos podendo ser reversíveis com o tratamento específico ou espontâneo nos indivíduos imunologicamente competentes. Alguns cães podem permanecer assintomáticos por longos períodos antes que os sinais clínicos se desenvolvam, essa resistência à doença está associada à ativação da resposta Th1 mediada por células CD4+ e CD8+ com a produção de interferon-gama (IFN- $\gamma$ ), além de apresentar habilidade de lisar macrófagos infectados. Observa-se também aumento nos níveis de IgG2 específicos em cães assintomáticos ou resistentes à infecção.

A resposta humoral, entretanto, não é considerada competente em aferir resistência à infecção, sendo que estes animais apresentam a doença em progressão ativa levando-os à morte. Estando associado, nestes casos, o envolvimento da ativação da resposta Th2 com a expansão e proliferação de células B e produção de IL-4, IL-6 e IL-10, sendo responsável pelo aumento dos níveis séricos de imunoglobulinas, contribuindo para a formação de imunocomplexos os quais não conferem efeito protetor, e nestes cães o subtipo IgG1 encontra-se em níveis elevados<sup>34</sup>.

Cães imunizados com a vacina Leish-Tec, apresentam uma elevada produção de IFN- $\gamma$  e significativamente maior de IgG2, específico à A2,

permitindo a diferenciação sorológica entre animais vacinados e animais infectados, um requisito importante para uma vacina para leishmaniose visceral canina (LVC). Esses animais vacinados mantêm sorologia negativa, frente aos testes de rotina, por RIFI ou por ELISA, onde é empregado o SLA como antígeno de captura, portanto a vacina Leish-Tec, induz resposta imune protetora contra a infecção por *L. (L.) donovani*, *L. (L.) amazonensis* e *L. (L.) chagasi*, sendo associados à resposta imune Th1, caracterizada por altos níveis de IFN específico à proteína A2, além de diferenciar cães infectados e cães saudáveis<sup>30</sup>.

A eficácia da vacina em humanos ainda é preliminar<sup>25</sup>. A primeira tentativa de proteção em massa de humanos com vacina viva foi realizada na União Soviética em 1937, obtendo cerca de 80% de infecções imunizantes. Pouco mais tarde, em 1941, foi realizado um estudo mais amplo, vacinando 200 indivíduos, e a re-inoculação confirmou que uma única lesão era suficiente para proteger o indivíduo contra uma futura reinfecção, a este tipo de vacinação deu-se o nome de leishmanização. Neste período realizavam-se os primeiros estudos da "vacina viva" em Israel. Estudos subsequentes sobre vacinação foram principalmente realizados em indivíduos das forças armadas. Durante a guerra Irã e Iraque a técnica de leishmanização foi utilizada pelo Governo iraniano, em soldados e voluntários. Neste caso houve indução de 70% de resistência nos indivíduos inoculados, porém uma significativa percentagem de indivíduos inoculados teve complicações, como o desenvolvimento de lesões que só curavam em um período de anos após a inoculação e de tamanho maior do que o esperado, sendo necessária a utilização da terapia com sais de antimônio. O uso de organismos atenuados ou produtos parasitários é uma abordagem que visa evitar os perigos e as inconveniências do emprego de parasitas infectantes, sejam homólogas ou heterólogas, virulentas ou não<sup>3</sup>.

Pessoa, Pestana<sup>35</sup> realizaram uma vacinação com parasitas em maior escala (600 a 700 milhões), que

levaram a resultados que sugerem o efeito protetor do esquema imunizante através da baixa ocorrência de novos casos<sup>35</sup>. A experiência de vacinação foi então ampliada, envolvendo mais indivíduos e outras localidades, e sua avaliação mostrou que após 20 meses de observação, encontrou-se entre 600 indivíduos controle, um índice de desenvolvimento da doença da ordem de 18%, enquanto que entre os 527 vacinados, somente 3,2% adoeceram<sup>36</sup>.

Mesmo com essas evidências contrárias alguns pesquisadores reiniciaram o teste com a vacina de formas mortas no Brasil, no município de Caratinga (MG), no qual utilizaram uma vacina composta de promastigotas mortas de 5 diferentes tipos de *Leishmania*, por via intramuscular em humanos. Embora suas observações tenham sido inconclusivas, devido ao desaparecimento da doença na região de vacinação, 78,4% dos indivíduos vacinados passaram a apresentar resposta positiva no teste de hipersensibilidade cutânea tardia (Teste de Montenegro - TM), enquanto que todos os indivíduos não vacinados permaneceram negativos ao Teste de Montenegro<sup>37</sup>.

Quando a mesma vacina foi utilizada em militares na floresta amazônica, em área de alto risco para leishmaniose, observou-se uma redução de 67,3% em 1980 e 7% em 1983 na incidência da doença entre os indivíduos vacinados que passaram a apresentar Teste de Montenegro positivo<sup>38</sup>, tendo sido sugerido que o teste intradérmico, em humanos, seria um importante indicador da resposta imune o que, de certa forma, refletiria um estágio de proteção. Nenhum efeito de exacerbação da doença foi observado, contrastando com os resultados experimentais feitos em camundongos, onde a injeção subcutânea ou intramuscular de antígenos de *L. major* resultava em exacerbação da infecção<sup>39</sup>.

Em 1985, resultados de uma campanha de vacinação durante epidemia de leishmaniose tegumentar na cidade de Viana no Espírito Santo revelaram diferenças estatisticamente significantes nos

níveis de infecção entre os grupos vacinados e não vacinados, com 87,6% dos indivíduos vacinados apresentando Teste de Montenegro positivo após a vacinação<sup>40,41</sup>.

Visto que a vacina foi capaz de proteger o homem, projetos foram desenvolvidos com a finalidade de caracterizar os principais antígenos responsáveis pela proteção. Os estudos sorológicos dos indivíduos vacinados levaram a identificação de duas proteínas, a Leish 97 e Leish 65 em soros de indivíduos vacinados e protegidos. Estas proteínas foram purificadas através de cromatografia de afinidade com o emprego de anticorpos monoclonais. Os níveis mais elevados de imunidade foram obtidos com a imunização por via intravenosa. A via intraperitoneal obteve menor eficácia e a subcutânea foi desprovida de efetividade. A quantidade de antígeno também é importante na determinação de imunidade ou agravamento da doença. Muitos autores têm demonstrado que a imunização com altas doses de parasita (105 a 106) leva a um agravamento da infecção, enquanto que a imunização com baixas doses (102 a 103) leva a proteção. Provavelmente altas doses estariam induzindo a expansão do subtipo Th2 de células T CD4+ e baixas doses estariam induzindo o subtipo Th1<sup>42</sup>.

O uso de parasitas irradiados ou atenuados quimicamente apresenta perigo no escape do parasita ao tratamento ou de sua reativação. Estes perigos são importantes devido à capacidade que algumas *Leishmanias* têm de produzir formas graves da doença, como a leishmaniose cutâneo-mucosa e a forma difusa. Com o objetivo de evitar esses perigos têm sido usados produtos obtidos por fracionamento parasitário. O uso experimental de frações purificadas e enriquecidas na doença de Chagas mostrou boas perspectivas, pois são bons imunógenos e são capazes de induzir proteção<sup>43</sup>.

Muitas das vacinas testadas atualmente utilizam parasitas mortos. Ensaio clínico de imunização profilática com promastigotas de *Leishmania* mortas

começaram nos anos 40 e têm mostrado taxas variáveis de proteção, variando de 82% a nenhum efeito. As informações sobre eficácia e segurança das vacinas em humanos decorrem do uso de parasitas mortos, como os de *L. amazonensis* no Brasil e de vacinas de segunda e terceira gerações que ainda estão sendo testadas em macacos. Na Venezuela, estão usando promastigotas mortas de *L. mexicana* (com e sem BCG) ou *L. braziliensis* (com BCG) em um estudo envolvendo 14000 pessoas. No Irã, uma vacina usando *L. major* morta é misturada com BCG antes da injeção. Os efeitos de diversas doses desta vacina combinada com BCG já tiveram seus testes de fase I e II realizados<sup>44</sup>. No Brasil, Antunes<sup>38</sup> et al. realizaram diversos testes clínicos, com êxitos diferentes, com cada indivíduo recebendo três injeções intramusculares de uma vacina contendo antígeno total de quatro espécies de *Leishmania*: *L. mexicana* (cepa BH6), *L. amazonensis* (cepa PH8), *L. guyanensis* (cepa M1176), e *L. major* like (cepa BH121 e cepa BH49). Os resultados deste estudo mostraram testes positivos da vacinação pela reação intradérmica de Montenegro em cerca de 70% dos indivíduos. Atualmente, uma versão simplificada da vacina, usando antígeno total de apenas uma espécie (*L. amazonensis*), está sendo preparada pela BIOBRÁS, Montes Claros, Brasil conforme as Boas Práticas de Manipulação. Esta vacina produz uma resposta predominantemente de células CD8+, conforme observado no estudo utilizando a vacina composta. No entanto, uma resposta proliferativa foi observada mesmo no grupo placebo e isso pode ter sido resultado da administração do antígeno para a análise da Reação Intradérmica de Montenegro<sup>45</sup>.

Em um estudo usando macacos *rhesus* imunizados com a vacina simples<sup>46</sup>, o grupo imunizado apesar de ter respondido com intradermorreação, quando desafiados com promastigotas de *L. amazonensis*, desenvolveram uma infecção mais exacerbada que os controles não imunizados. Foram

necessárias doses relativamente altas de IL12 e/ou alúmen como adjuvantes para que a vacina induzisse a proteção parcial contra a infecção<sup>47</sup>.

Estas observações levantam a questão sobre a eficácia e segurança da vacina aplicada em humanos, além do emprego da reação de Montenegro para monitorar a eficácia da vacina. O foco da pesquisa moderna de vacinas é o uso de proteínas recombinantes, parasitas vivos atenuados e vacinas de DNA. Essa idéia parte do princípio de que uma boa vacina contra a leishmaniose deve ser molecularmente definida e capaz de induzir memória imunológica na ausência de organismos vivos persistentes. Além disso, essa vacina não deve induzir respostas do tipo Th2 que no caso da leishmaniose é deletéria e pode levar a uma patologia severa. As diferentes espécies de *Leishmania* possuem variações na expressão de proteínas durante o seu processo de diferenciação e as formas amastigotas e promastigotas não apresentam o mesmo padrão antigênico (quantidade e qualidade); podendo haver a possibilidade de que diferentes antígenos estejam relacionados a mecanismos imunes efetores diferentes, que estão sendo estudados em virtude de não estarem totalmente esclarecidos. Com relação a vacinas de DNA, não se pode afirmar com precisão os possíveis efeitos deletérios do seu uso<sup>48</sup>.

## CONCLUSÃO

Conforme as postulações de Pinheiro<sup>49</sup>, no momento, é impossível combater a leishmaniose, utilizando-se um único enfoque. Um conjunto de fatores deve ser observado, tais como o controle do vetor e a própria terapia antimonial, cuja administração induz severa toxicidade. A vacinação, desta forma, parece ser uma exceção, já que a obtenção de uma vacina segura e eficaz poderá ser utilizada, de forma profilática, impedindo a disseminação da doença.

Ainda há um longo caminho a ser percorrido no âmbito das pesquisas, até que se produza uma vacina contra a leishmaniose que seja segura, eficaz, estável e de baixo custo, haja vista que a maior incidência da

doença acontece em países em desenvolvimento, sendo, portanto questão primordial a acessibilidade a estas ferramentas de contenção de doenças.

## ABSTRACT

*Leishmania is a protozoan belonging to the family Trypanosomatidae, obligate intracellular parasite cells of the mononuclear phagocyte system. In the New and Old World several orders of wild mammals (natural reservoirs) and various species of sandflies (vectors) are involved in the transmission of leishmaniasis. The new settlements in rural areas, changes in the environment and unplanned urbanization increased human contact with vector and interaction with the animal reservoir. A simple prophylactic measure seems to be the vector control as well as disease reservoir. With the goal of raising the prophylactic measures that are being used in vector control, the reservoir of the disease and what the infrastructure accordingly. We conducted a literature review in July 2011 in the electronic databases of Bireme, Medline, CancerLit, Portal Capes, SciELO, PubMed and Medscape, the main texts on the subject. Thus, the development of a vaccine that is effective against various forms of leishmaniasis in the old and new world, it is necessary and has been recommended by WHO as a possible tool for effective eradication of the disease.*

**Keywords:** Prevention and control, control of communicable diseases, Leishmania, Vaccination.

## RESUMEN

*Leishmania es un protozoo que pertenece a la familia de los Tripanosomátidos, obliga a las células de parásitos intracelulares del sistema de fagocitos mononucleares. En el Nuevo y Viejo Mundo en varios órdenes de mamíferos silvestres (reservas naturales) y varias especies de mosquitos (vectores) están involucrados en la transmisión de la leishmaniasis. Los nuevos asentamientos en las zonas rurales, los cambios en el medio ambiente y la urbanización no planificada con mayor contacto humano con el vector y la interacción con el reservorio animal. Una medida profiláctica sencilla parece ser el control de vectores, así como depósito de la enfermedad. Con el objetivo de aumentar las medidas profiláticas que se están utilizando en la lucha antivectorial, el reservorio de la enfermedad y lo que la infraestructura correspondiente. Se realizó una revisión de la literatura, en julio de 2011 en las bases de datos electrónicas de Bireme, Medline, CancerLit, Portal Capes, SciELO, PubMed y Medscape, los principales textos sobre el tema. Por lo tanto, el desarrollo de una vacuna que sea eficaz contra las diversas formas de leishmaniasis en el*

*mundo antiguo y lo nuevo, es necesario y ha sido recomendado por la OMS como una posible herramienta para la efectiva erradicación de la enfermedad.*

**Palabras clave:** Prevención y control, El control de las enfermedades transmisibles, Leishmania, Vacunación.

## REFERÊNCIAS

- Vasconcelos DRB. Detecção de *Leishmania chagasi* em *Lutzomyia longipalpis* por meio de qPCR em tempo real: triagem de genes e métodos quantitativos. Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias) – Universidade Estadual do Ceará, Faculdade de Veterinária. Fortaleza, 2010.
- WHO - World Health Organization. Control of the leishmaniasis. Geneva: World Health Organization; (Technical Report Series, 793); 1990.
- Fiocruz. As Leishmanioses. Laboratório de Imunomodulação – Departamento de Protozoologia/IOC; 1997. Disponível em: [http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/vacina\\_\\_o.htm](http://www.dbbm.fiocruz.br/tropical/leishman/leishext/html/vacina__o.htm). acesso em: 20 jul 2011.
- Rey, L. Parasitologia: parasitos e doenças parasitárias do homem nos trópicos ocidentais. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2008. p. 330-7.
- WHO - World Health Organization. Scientific working group on Leishmaniasis. TDR Research Publication; 2004.
- Davies CR, Kaye P, Croft SL, Sundar S. Leishmaniasis: new approaches to disease control. Br Med J. 2003; 326: 377-82.
- Bryceson A. Tropical medicine for the 21st century. Tropical medicine should be concerned with medical problems endemic to the tropics. Br Med J. 1996; 312(7025): 247.
- Backer R, Chiodini P, Kaye PM. Leishmaniasis. In: James GD, Zumla A, editors. The granulomatous diseases. Cambridge, UK: Cambridge University Press; 1999. 212–34.
- Alvar J, Canavate C, Molina R, Moreno J, Nieto J. Canine leishmaniasis. Ad Parasitol. 2004; 57: 1-88.
- Chappuis F, Sundar S, Hailu A, Ghalib H, Rijal S, Peeling RW, et al. Visceral leishmaniasis: what are the needs for diagnosis, treatment and control? Nat Rev Microbiol. 2007; 5: 873-82.
- Manson-Bahr PEC, Southgate BA, Harvey AEC. Development of kala-azar in man after inoculation with a *Leishmania* from a Kenyo sandfly. Br Med J. 1963; 1: 1208-10.
- Piscopo TV, Mallia AC. Leishmaniasis. Postgrad Med J. 2006; 82: 649-57.
- Desjeux P. Leishmaniasis: current situation and new perspectives. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2004; 27: 305-18.
- Cruz I, Neito J, Moreno J, Canavate C, Desjeux P, Alvar J. *Leishmania*/HIV coinfections in the second decade. Indian J Med Res. 2006; 123: 357-88.
- Lindoso JAL, Goto H. Leishmaniose visceral: situação atual e perspectivas futuras. Boletim Epidemiológico Paulista-BEPA. 2006; 3(26). Disponível em: [http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa26\\_lva.html](http://www.cve.saude.sp.gov.br/agencia/bepa26_lva.html). Acesso em: 20 jul. 2011.
- Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde, Departamento de Vigilância Epidemiológica. Manual de Vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana. 2. ed. Brasília : Editora do Ministério da Saúde; 2007.(Série A. Normas e Manuais Técnicos). Disponível em: [http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07\\_0454\\_M.pdf](http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/07_0454_M.pdf). Acesso em: 20 jul. 2011.
- Castro AG. Controle, diagnóstico e tratamento da leishmaniose visceral (Calazar) – Normas Técnicas. Brasília: Fundação Nacional de Saúde. 1996: 86p.
- Lainson R, Rangel EF. *Lutzomyia longipalpis* and the eco-epidemiology of American visceral leishmaniasis, with particular reference to Brazil: a review. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2005; 100: 811-27.
- Lerner EA, Ribeiro JMC, Nelson RJ, Lerner M. Isolation of Maxadilan, a potent vasodilatory peptide from the salivary glands of the sandfly *Lutzomyia longipalpis*. J Biol Chem. 1991; 266: 11234-6.
- Warburg A, Saraiva E, Lanzaro GC, Titus RG, Neva F. Saliva of *Lutzomyia longipalpis* sibling species differs in its composition and capacity to enhance leishmaniasis. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci. 1994; 345: 223-30.
- Lemesre JL, Holzmüller P, Cavaleyra M, Gonçalves RB, Hottin G, Papierok G. Protection against experimental visceral leishmaniasis infection in dogs immunized with purified excreted secreted antigens of *Leishmania infantum* promastigotes. Vaccine. 2005; 23: 2825-40.
- Dye C. The logic of visceral leishmaniasis control. Am J Trop Med Hyg. 1996; 55: 125-30.
- Modabber, F. Leishmaniasis. In: OMS. Tropical diseases research progress 1991-1992. Geneve: World Health Organization; 1993. p. 77-87.

24. Lima VMF, Ikeda FA, Rossi CN, Feitosa MM, Vasconcelos RO, Nunes CM, et al. Diminished CD4+/CD25+ T cell and increased IFN- $\gamma$  levels occur in dogs vaccinated with Leishmune<sup>®</sup> in an endemic area for visceral leishmaniasis. *Vet Immunol Immunopathol.* 2010; 135: 296-302.
25. Khalil EA, El Hassan AM, Zijlstra EE, Mukhtar MM, Ghalib HW, Musa B. Autoclaved *Leishmania major* vaccine for prevention of leishmaniasis: a randomized, double-blind, BCG-controlled trial in Sudan. *Lancet.* 2000; 356: 1565-9.
26. Barbieri CL. Immunology of canine leishmaniasis. *Parasite Immunol.* 2006; 28: 329-37.
27. Silva VO, Borja-Cabrera GP, Correia Pontes NN, Paraguai de Souza E, Luz KG, Palatnik M, et al. A Phase III trial of efficacy of the FML-vaccine against canine kala-azar in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). *Vaccine.* 2001; 19: 1082-92.
28. 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-QuilA saponin vaccine in an endemic area of Brazil (São Gonçalo do Amarante, RN). *Vaccine.* 2002; 20: 3277-84.
29. Borja-Cabrera GP, Santos FN, Bauer FS, Parra LE, Menz I, Morgado AA, et al. Immunogenicity assay of the Leishmune<sup>®</sup> vaccine against canine visceral leishmaniasis in Brazil. *Vaccine.* 2008; 26: 4991-7.
30. Hermont VJ. Manual Técnico da Leish-Tec; 2008. Disponível em: <http://www.hertapecalier.com.br/site/empresa/pecas.php?campanha=105>. jul, 2011.
31. Ravindran R, Anam K, Bairagi BC, Saha B, Guha RPG, Goswami RP, et al. Characterization of immunoglobulin G and its subclass response to indian kala-azar infection before and after chemotherapy. *MBio.* 2004; 72. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC321573/pdf/0497.pdf>. jul, 2011.
32. Kar S, Metz C, McMahon-Pratt D. CD4+T cells play a dominant role in protection against new world induced by vaccination with the p-4 amastigote antigen. *Infec Immun.* 2005; 73: 3823-7.
33. Luvizotto, MCR. Alterações patológicas em animais naturalmente infectados. Anais do 1o. Fórum sobre Leishmaniose Visceral Canina; Colégio Brasileiro de Parasitologia Veterinária; Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinária da Universidade Estadual Paulista. Jaboticabal (SP): FCCV; 2006.
34. Estrada RA. Leishmaniose Visceral – Uma zoonose re-emergente. Disponível em: [http://www.qualittas.com.br/artigos/artigo.php?artigo\\_id=399](http://www.qualittas.com.br/artigos/artigo.php?artigo_id=399). jul, 2011.
35. Pessoa SB, Pestana, BR. A intradermoreação de Montenegro nas campanhas sanitárias contra a leishmaniose. *Arqui Hig.* 1941; 6: 124-37.
36. Pessoa SB. Segunda nota sobre a vacinação preventiva na Leishmaniose Tegumentar Americana com leptomonas mortas. *Rev Paul Med.* 1941; 19: 1-9.
37. Mayrink W, Magalhães PA, Dias M, da Costa CA, Melo MN, Lima AO. Responses to Montenegro antigen after immunization with killed *Leishmania* promastigotes. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 1978; 72: 676.
38. Antunes CMF, Mayrink W, Magalhães PA, Costa CA, Melo MN, Dias M, et al. Controlled field trials of a vaccine against new world cutaneous leishmaniasis. *Int J Epidemiol.* 1986; 15: 572-80.
39. Liew FY, Millott S Li Y, Lelchuk R, Chan WL, Ziltener H. Macrophage activation by interferon-gamma from host-protective T cells is inhibited by interleukin (IL) 3 and IL 4 produced by disease-promoting T cells in leishmaniasis. *Eur J Immunol.* 1989; 19: 1227-32.
40. Barros GC. Foco de leishmaniose tegumentar americana nos municípios de Viana e Cariacica, Estado do Espírito Santo, Brasil. *Rev Saúde Pública.* 1985; 19: 146-53.
41. Mayrink W, Williams P, da Costa CA, Magalhães PA, Melo MN, Dias M, et al. An experimental vaccine against American dermal leishmaniasis: experience in the State of Espírito Santo, Brazil. *Ann Trop Med Parasitol.* 1985; 79: 259-69.
42. Bretscher PA, Wei G, Menon JN, Bielefeldt-Ohmann H. Establishment of stable, cell-mediated immunity that makes "susceptible" mice resistant to *Leishmania major*. *Science.* 1992; 257: 539-42.
43. Gonçalves da Costa SC, Lagrange PH. Development of cell mediated immunity to flagellar antigens and acquired resistance to infection by *Trypanosoma cruzi* in mice. *Mem Inst Oswaldo Cruz.* 1981; 76: 367-81.
44. Bahar K, Shidani B, Dowlati Y, Deihimi I. Overview of human vaccine studies using killed *L. major*. 13th International Congress for Tropical Medicine and Malaria Faculty of Tropical Medicine; 1993. Bangkok: Mahidol University; 1993. Abstract 1. p. 183.
45. José FF, Silva IM, Araújo ML, Almeida RP, Bacellar O, Carvalho EM. Evaluation of the ability of Montenegro skin

- test to induce specific immune response. Rev Soc Bras Med Trop. 2001; 34: 537-42.
46. Hermeto MV, Daniel V-D, Genaro O, Costa CA, Toledo VPCP, Michalick MSM, et al. Delayed hypersensitivity skin-test using Leishvacin® for epidemiological survey of canine cutaneous leishmaniasis in a rural area of Minas Gerais state, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 1993; 88: 635-6.
  47. Kenney RT, Sacks DL, Sypek JP, Vilela, L, Gam AA, Evans-Davis K. Protective immunity using recombinant human IL-12 and alum as adjuvants in a primate model of cutaneous leishmaniasis. J Immunol. 1999; 163 :4481-8.
  48. Handman E. Leishmania vaccines: old and new. Parasitol Today. 1997; 13: 236-8.
  49. Pinheiro RO. Efeito supressor do antígeno de *Leishmania amazonensis*: a apoptose como mecanismo de supressão. 91f. Monografia de Mestrado – Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho – UFRJ, Rio de Janeiro, 2000.

**Correspondência**

**Kathlenn Liezbeth Oliveira Silva**  
UNESP – Universidade Estadual Paulista  
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba  
Departamento de Clínica, Cirurgia e Reprodução Animal  
Laboratório de Imunologia  
kathlennliezbeth@gmail.com