

Leishmanioses

Os tripanossomatídeos parasitas

Família: Trypanosomatidae

Gêneros: *Leishmania* - Leishmaniose cutânea e visceral

Trypanosoma - *T. cruzi* - Doença de Chagas

T. brucei - Doença do Sono

Phytomonas - Parasitas de plantas

Espécies e Formas clínicas

Leishmaniose cutânea- *L.V.braziliensis*,
L.L.amazonensis,
L.V.guyanensis
L.L.major

Leishmaniose difusa - *L.L.amazonensis*

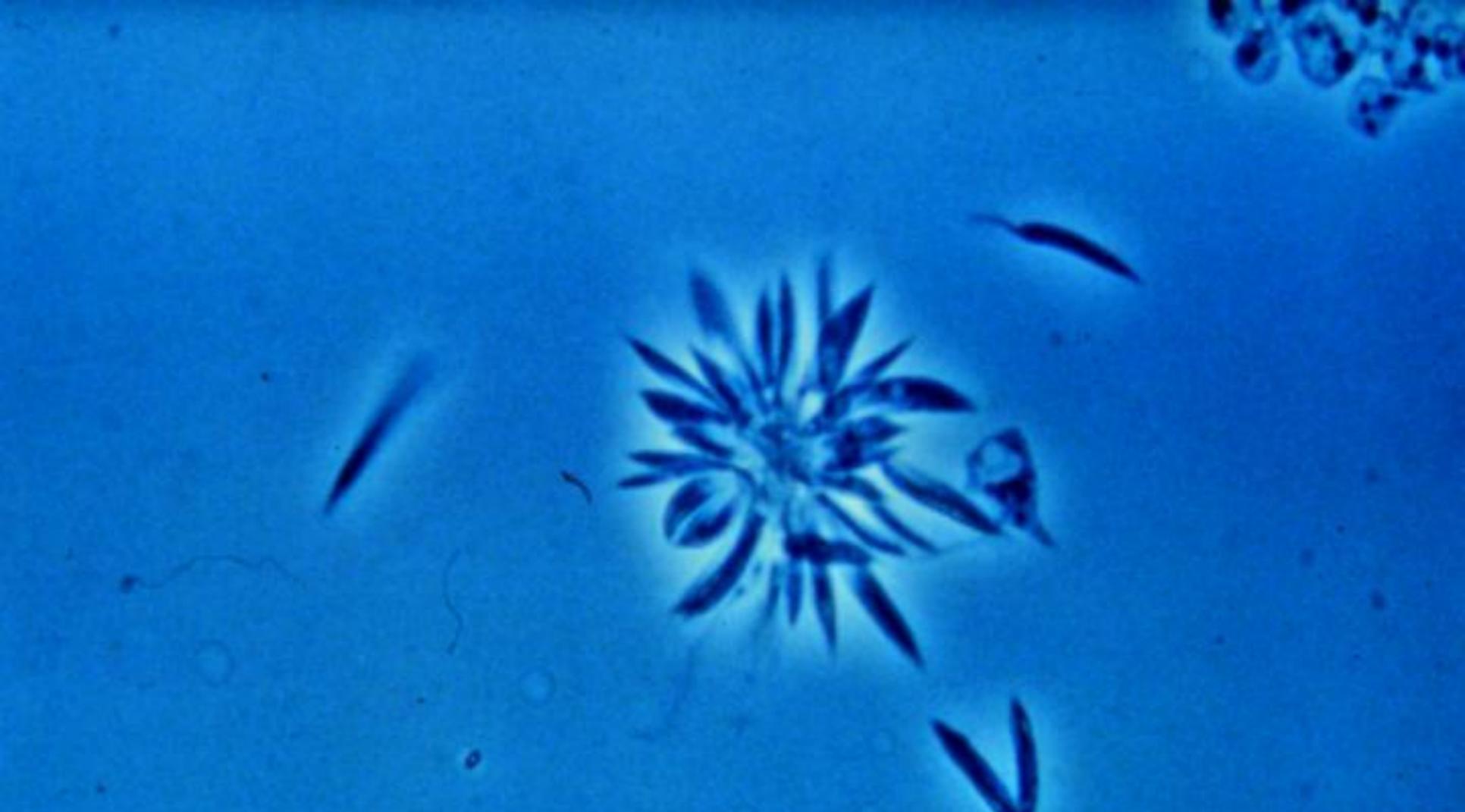
Leishmaniose mucocutânea -*L.V.braziliensis*

Leishmaniose visceral -*L.L.chagasi*, *L.L.donovani*

Novo Mundo

Velho Mundo





Epidemiologia

Leishmaniose - Quadro Mundial

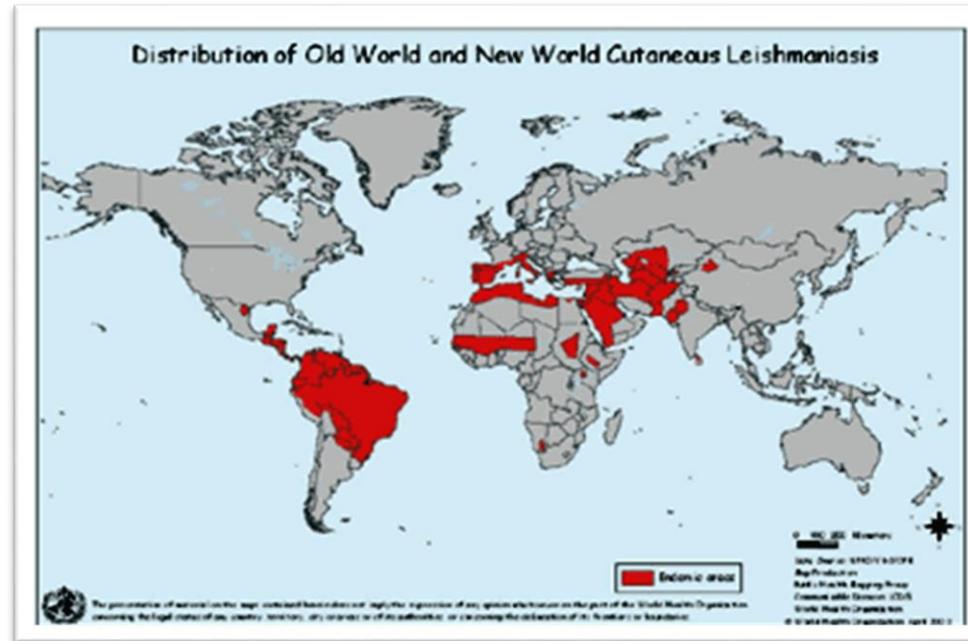
- **População sob risco: 350 milhões**
- **Distribuição: 88 países em 4 continentes**
- **Prevalência: 12 milhões de casos**
- **Mortes: 57.000/ ano**
- **Coinfecção Leishmania/HIV**

Paisagem & Epidemiologia



- ▶ **Doença de transmissão relacionada à proximidade de áreas de desmatamento, ou próximas a florestas.**
- ▶ **Recentemente, tem se expandido para áreas urbanas, especialmente a doença visceral, ou calazar.**

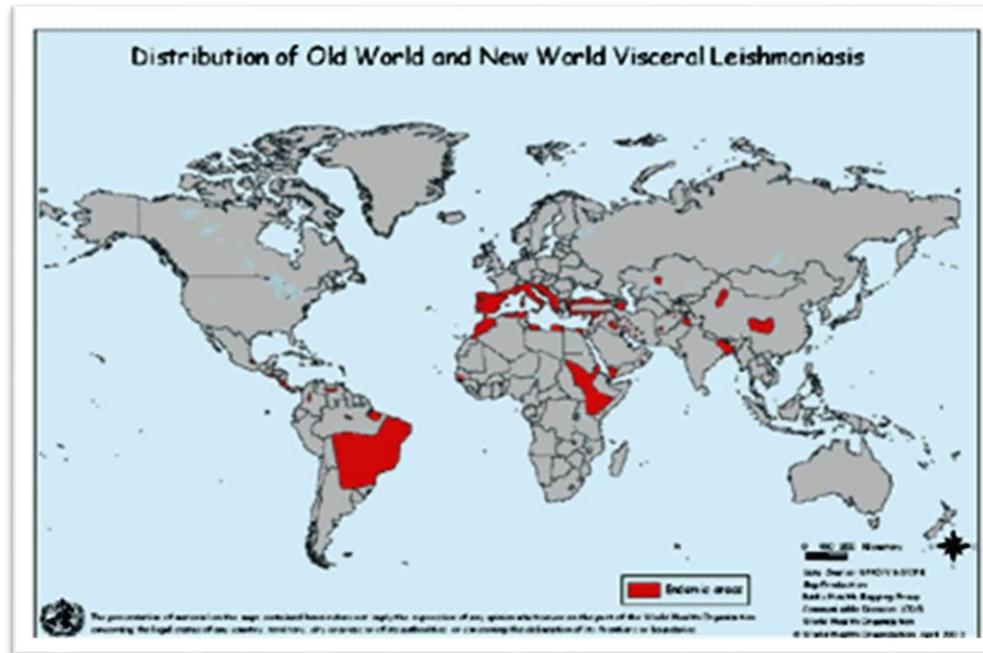
Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea



- ▶ 90% dos casos de **leishmaniose cutânea** ocorrem no Afeganistão, Brasil, Iran, Peru, Arábia Saudita e Síria. (100.000 casos em Kabul em 2002).
- ▶ 90% dos casos de **leishmaniose mucocutânea** ocorrem na Bolívia, Brasil e Peru.

1,5 milhão de casos novos por ano

Distribuição Geográfica da Leishmaniose Visceral



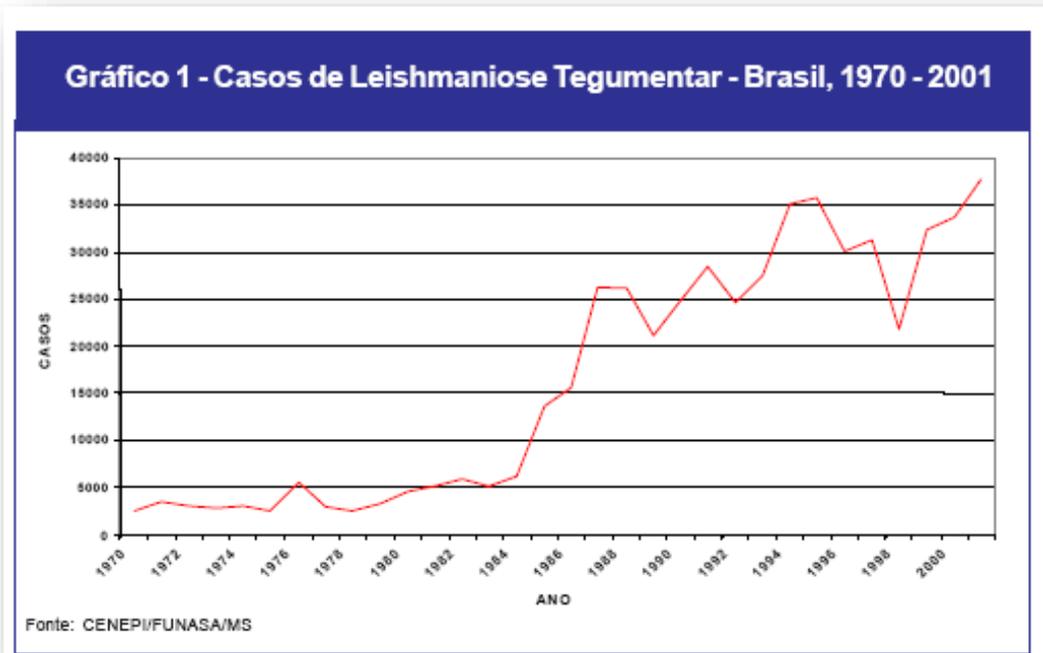
- ▶ 90% dos casos em Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal e Sudão.
- ▶ Nos anos 90, 100.000 mortes no Sudão (dentre 300.000).

500.000 casos novos por ano

Leishmaniose Tegumentar no Brasil

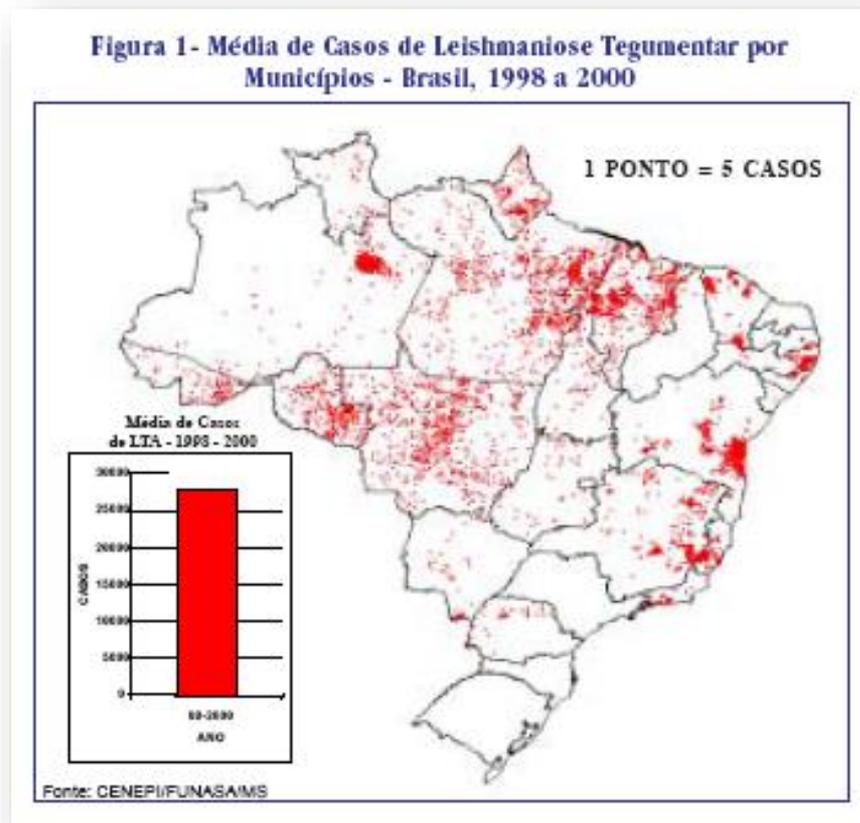
- Número crescente de casos de LTA no Brasil (aumento real + melhoria da notificação)

- 1980 – 4.560 casos
- 1985 – 13.654 casos
- 1990 – 24.753 casos
- 1995 – 35.748 casos
- 2000 – 33.439 casos



Tegumentar= Cutânea, cutânea difusa e Muco-cutânea

Leishmaniose Tegumentar no Brasil

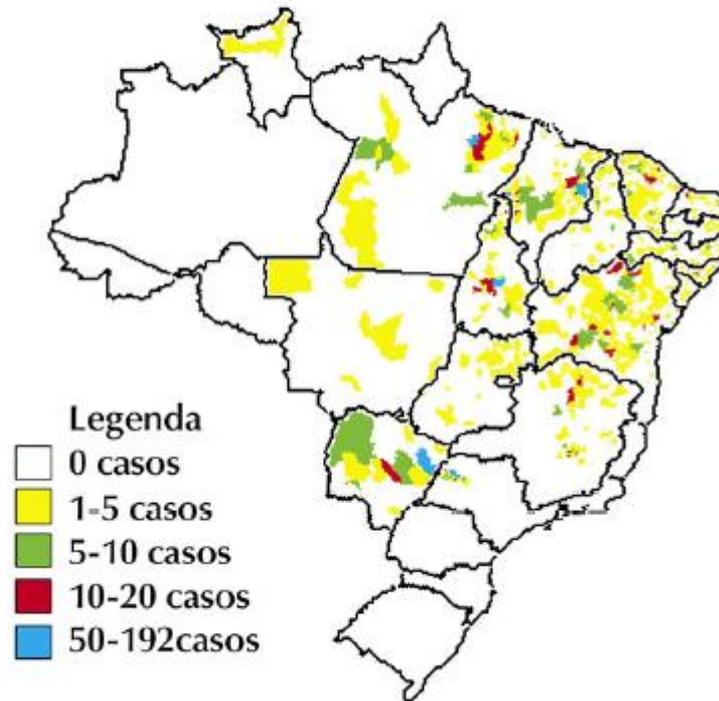


Doença de ampla distribuição no território nacional (N, NE, CO, SE)

Agentes: *Leishmania braziliensis*, *L. amazonensis*, *L. guyanensis*,

L. Visceral no Brasil - Distribuição Geográfica

Figura 2 - Distribuição de casos autóctones de Leishmaniose Visceral segundo município, Brasil 2002

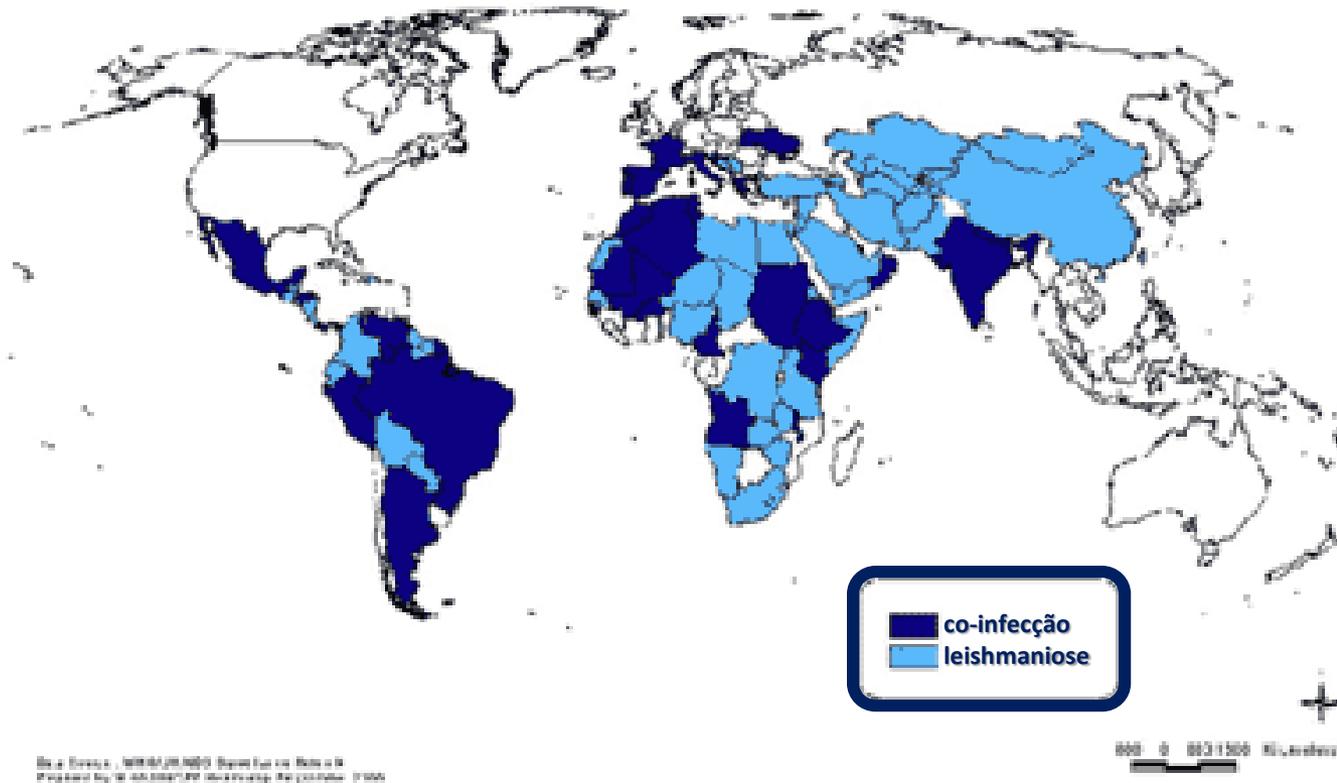


Fonte: SINAN- COVEV/ CGDT/DEVEP/SVS/MS

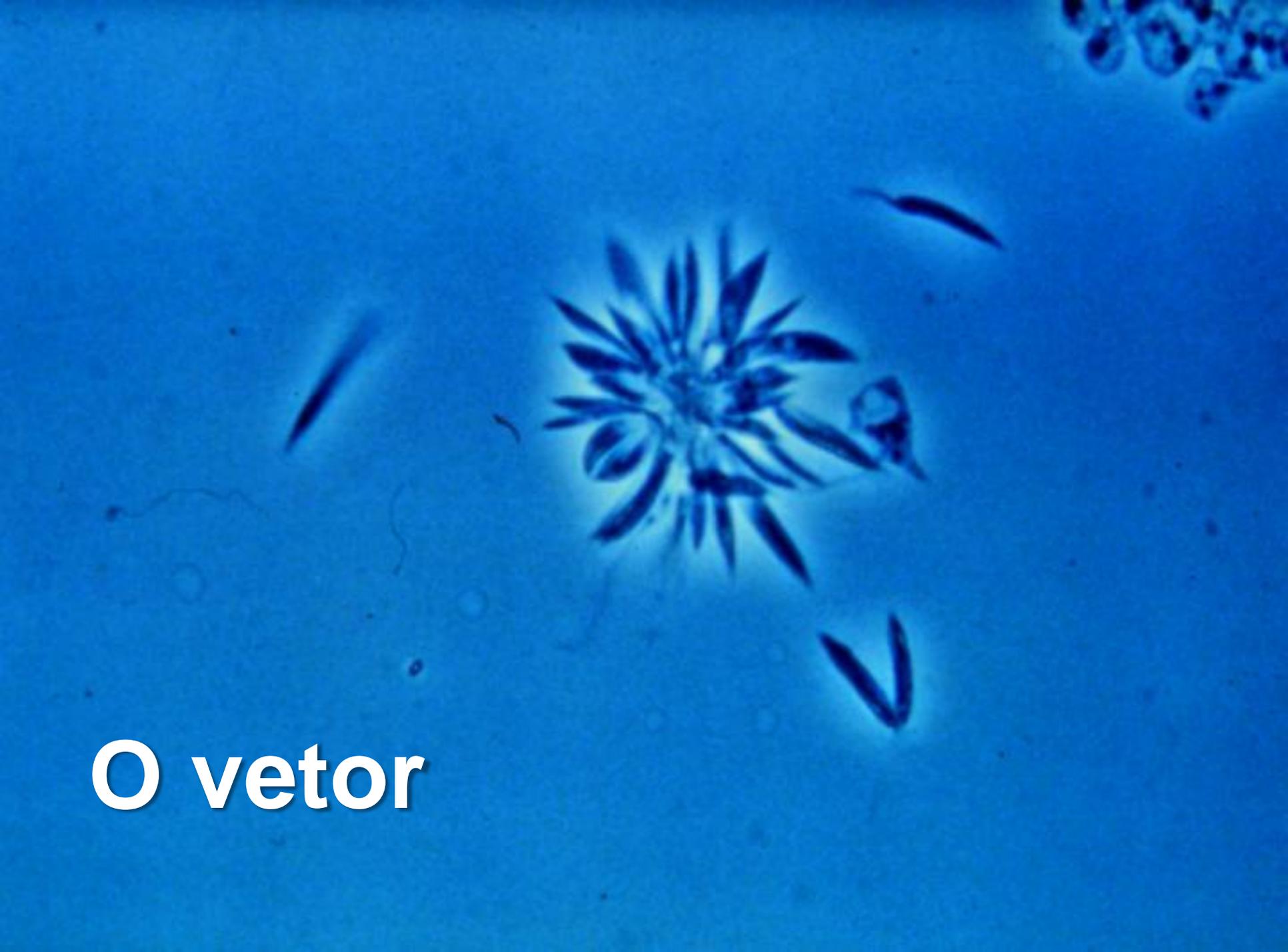
- Distribuição ampla: N, NE, SE, CO
- Região NE: 90% década 90 para 77% anos 2000
- Urbanização da LV (surto RJ, BH, Araçatuba, Natal, São Luís, Santarém, etc..)

Distribuição geográfica leishmaniose visceral/AIDS

34 Countries Reporting Leishmania / HIV Co-Infection Worldwide



O vetor



Insetos flebotomíneos



Phlebotomus papatasi

Lutzomyia e
Psychodopigus nas
Américas

Phlebotomus na
África, Europa e Ásia

“Mosquito palha”,
“Birigui”

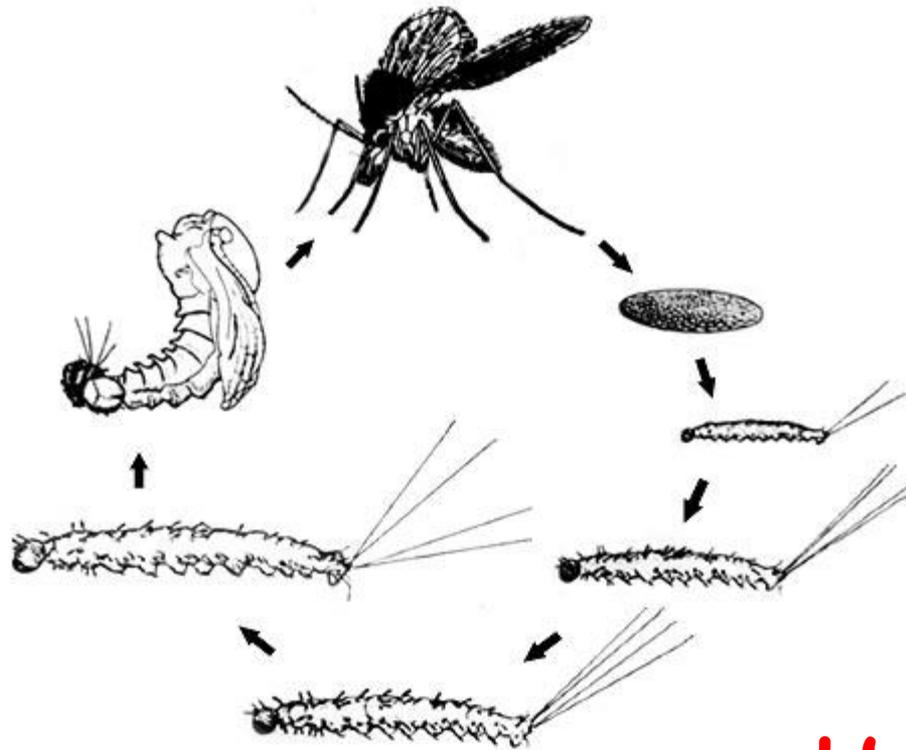
- ▶ A doença é transmitida por insetos flebotomíneos, que são pequenos e se reproduzem e vivem em solo úmido em áreas de matas ou florestas.
- ▶ A **fêmea** se alimenta de sangue de animais silvestres e/ou domésticos ou homens.

Insetos flebotomíneos

- ▶ 2-3mm, corpo e asas peludas
- ▶ Marrons “luminosos” (oleosidade)
- ▶ Asas em V
- ▶ Regiões tropicais e temperadas (20 a 30 graus)
- ▶ A fêmea se alimenta de sangue no entardecer/noite, vôo curto (até 100m), baixo e direto
- ▶ Picada dolorida- “bebem” sangue da ferida



Insetos flebotomíneos



Holometábolo

Ovo- adulto: 4 a 7 semanas, Adulto vive 15 a 30 dias

Larvas e pupas: habitat úmido, quente e com nutrientes

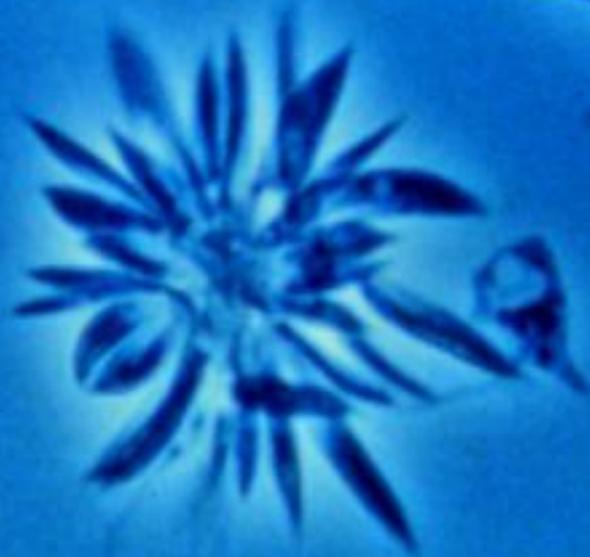
Difícil encontrar locais de desova, larvas e pupas: difícil controle!

VETORES



Habitat silvestres/peri-domiciais: lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres.

O parasita



Leishmania

Ordem **Kinetoplastida**

Família **Trypanosomatidae**

Gênero ***Leishmania***

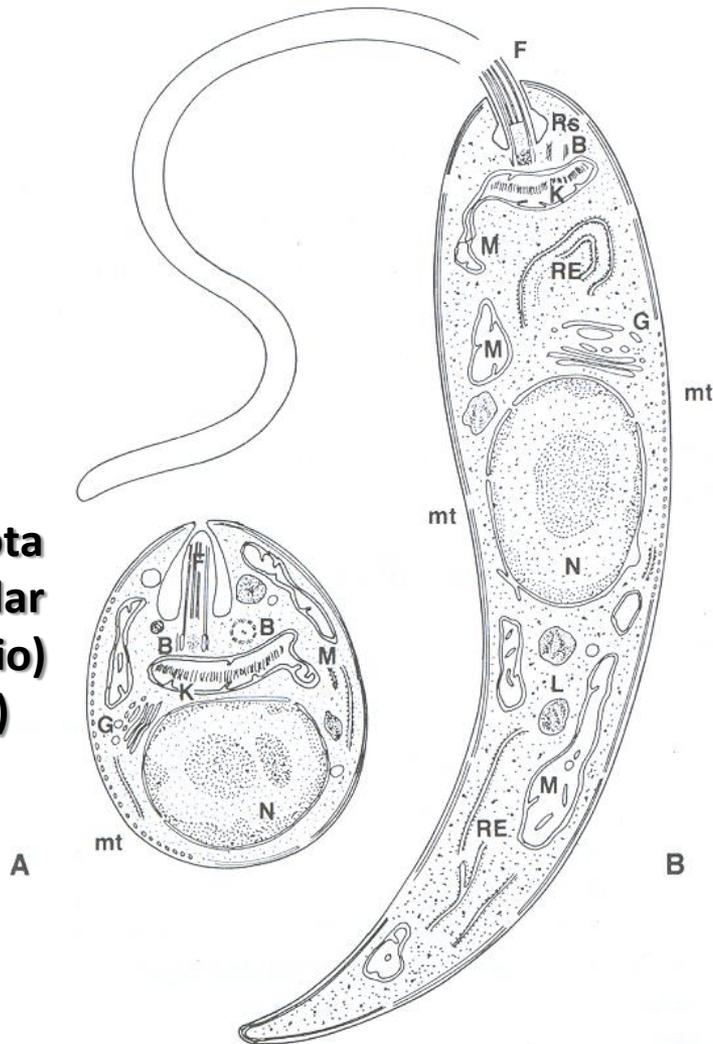
Sub-gêneros ***Leishmania***
Viannia



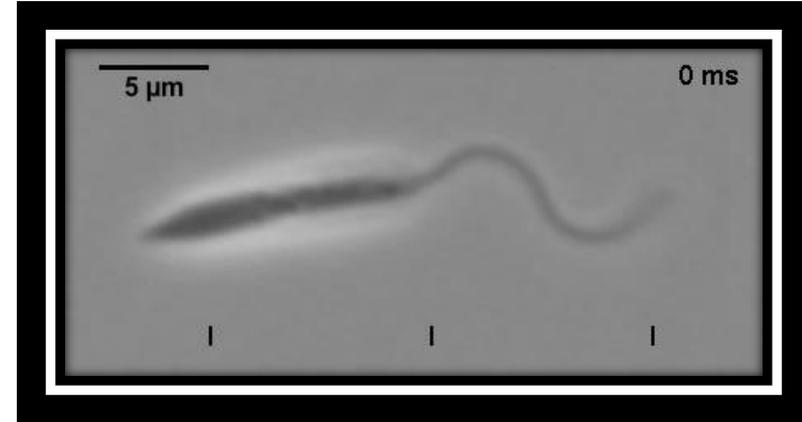
“20 espécies patogênicas para homem”

FORMAS DO PARASITA

**Amastigota
Intracelular
(anaeróbio)
(2-6µm)**



**Promastigota
Vetor, cultura
(aeróbio)
(14-20µm)**



Amastigota

- ▶ Infecta células do sistema mononuclear fagocítico: macrófagos, neutrófilos, células dendríticas.
- ▶ Reprodução por fissão binária.

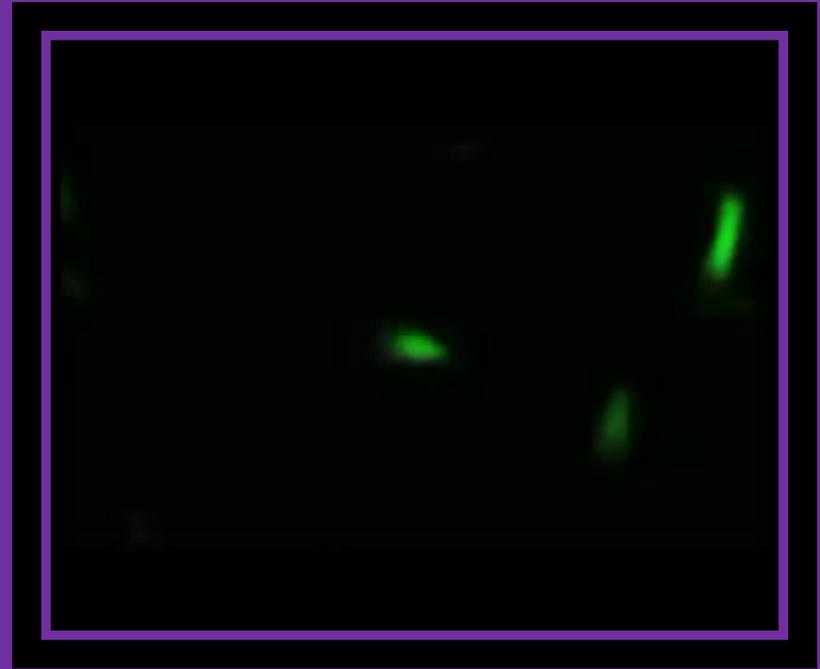




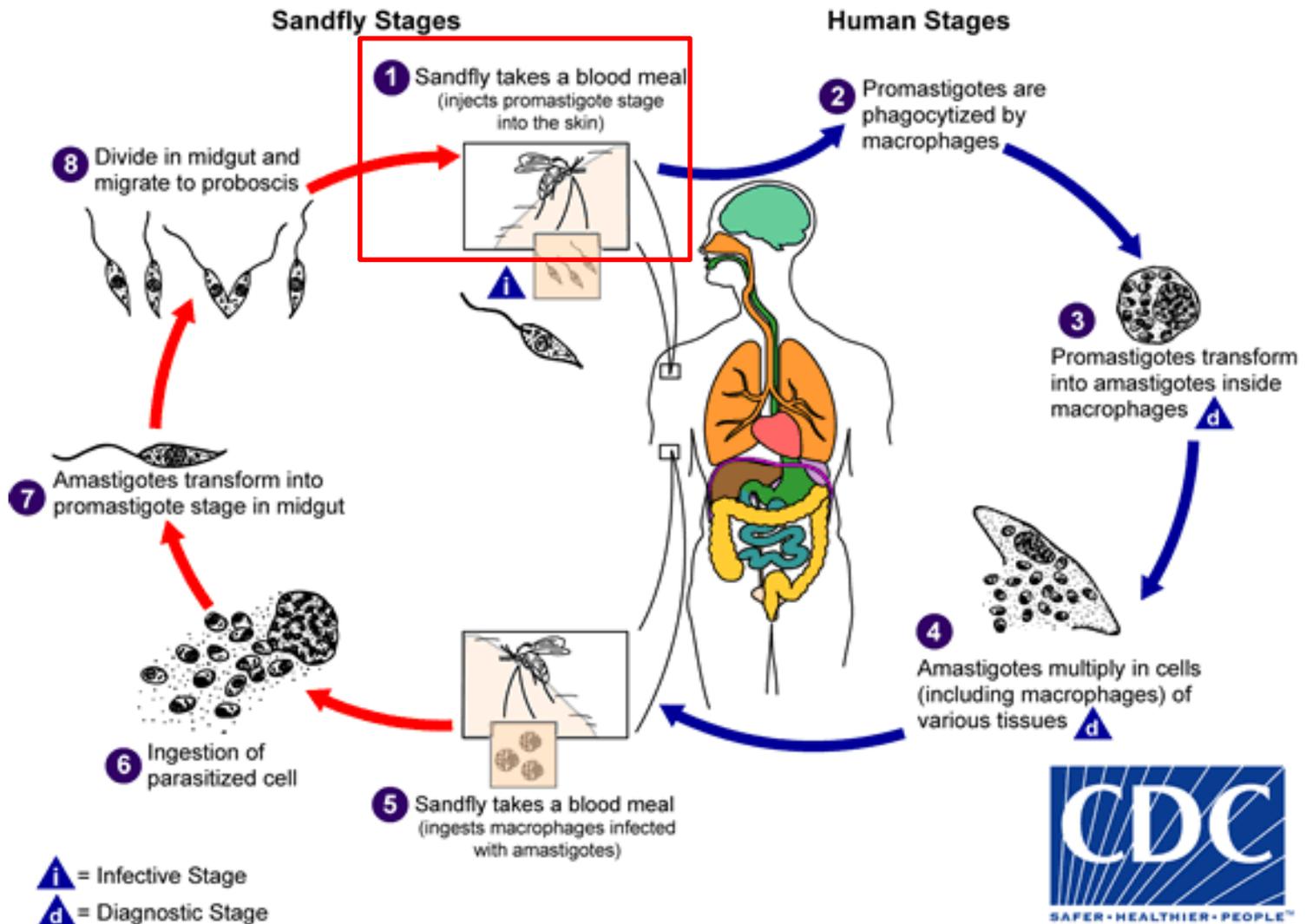
- ▶ Reprodução por fissão binária
- ▶ Forma invasiva: promastigota metacíclico

Leishmania in tissue culture. DNA in blue, Leishmania in green

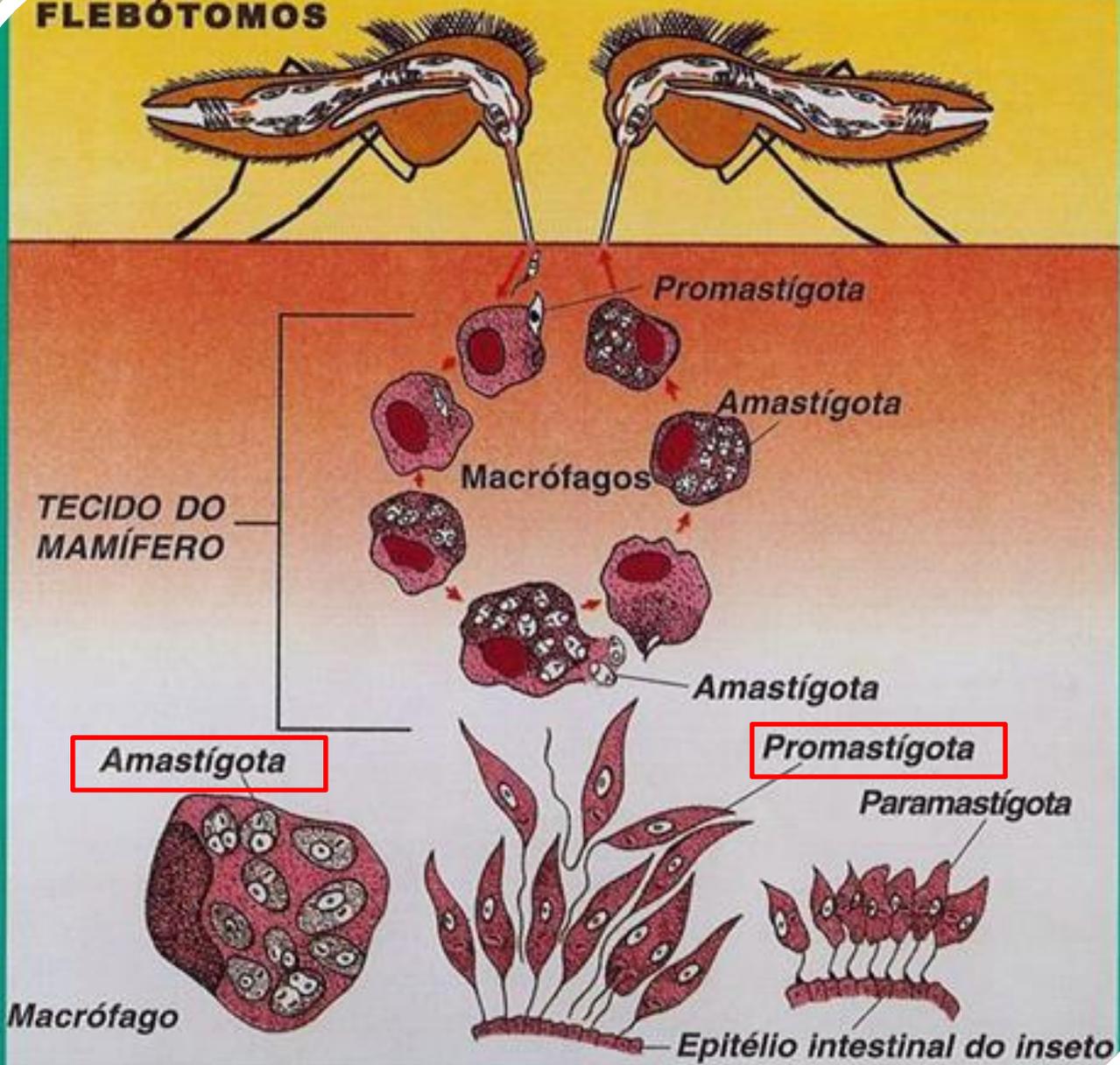
Leishmania em cultura

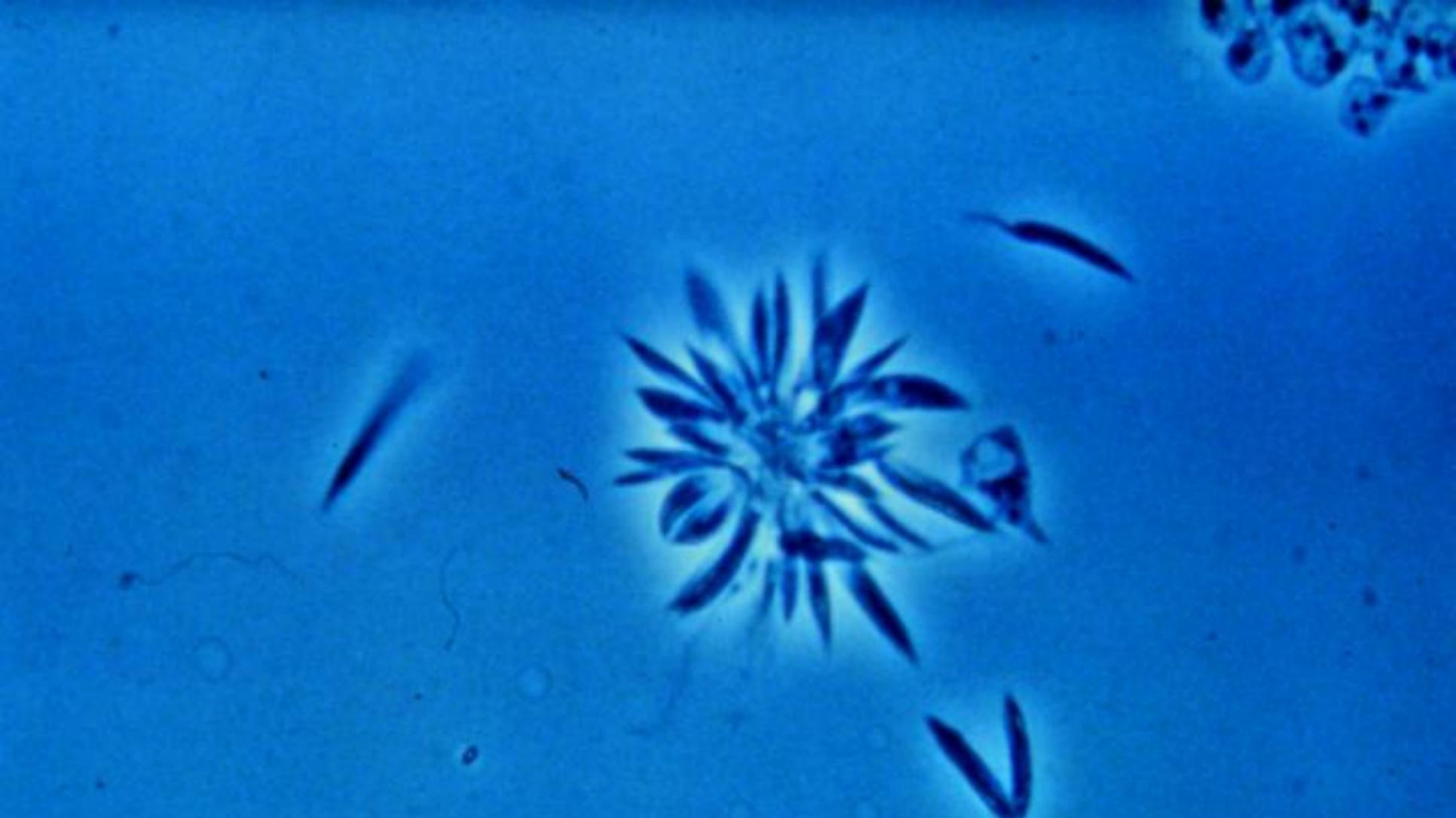


Ciclo de vida



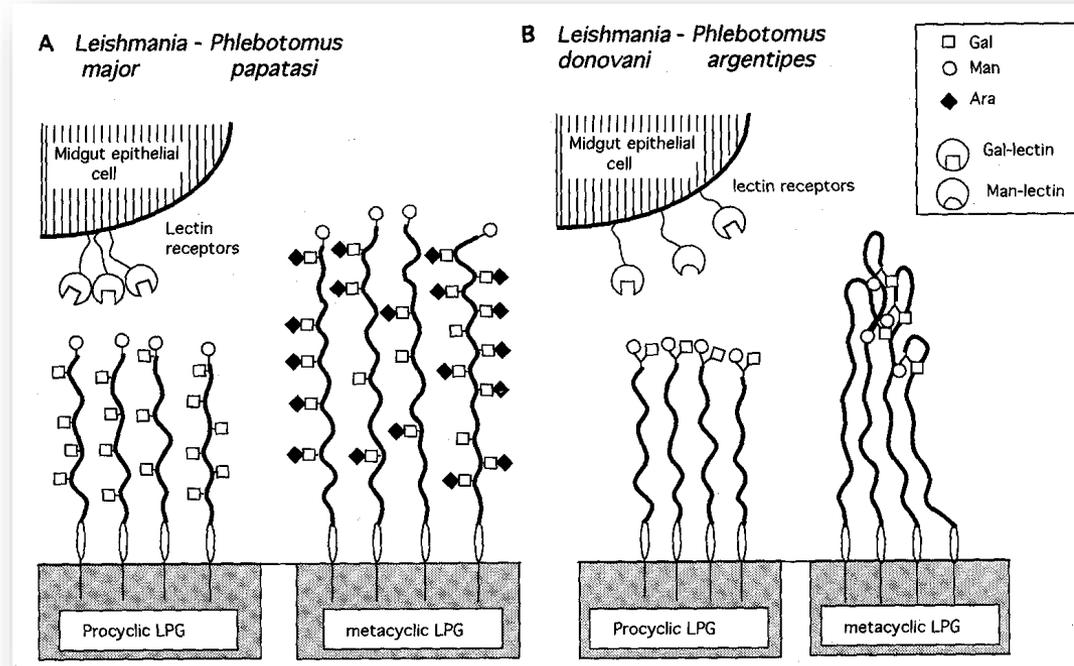
FLEBÓTOMOS





Mecanismos de evasão

Mecanismos de evasão

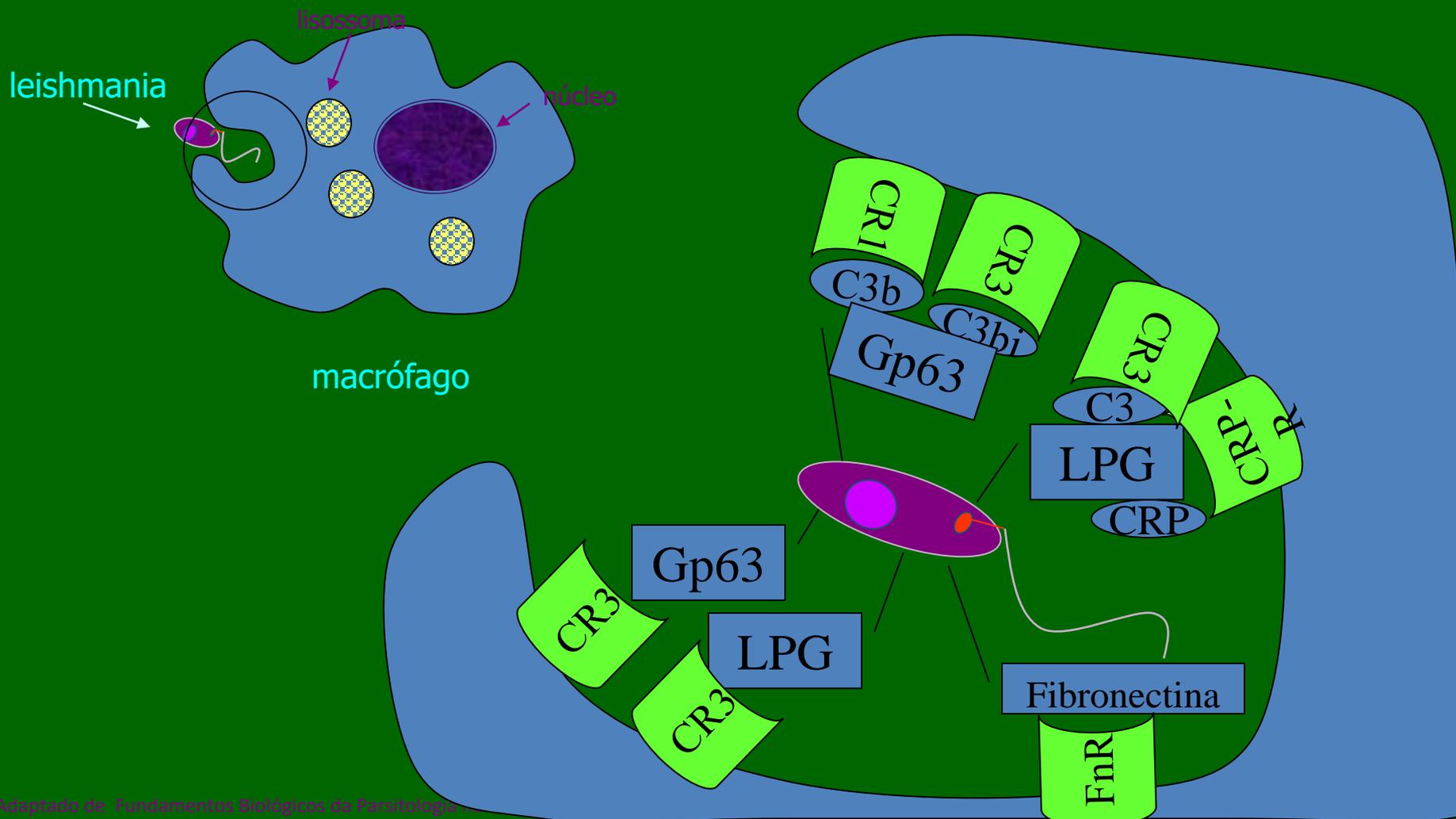


O **LPG** é modificado durante a **metaciclogênese**, facilitando a migração do promastigota para o esôfago.

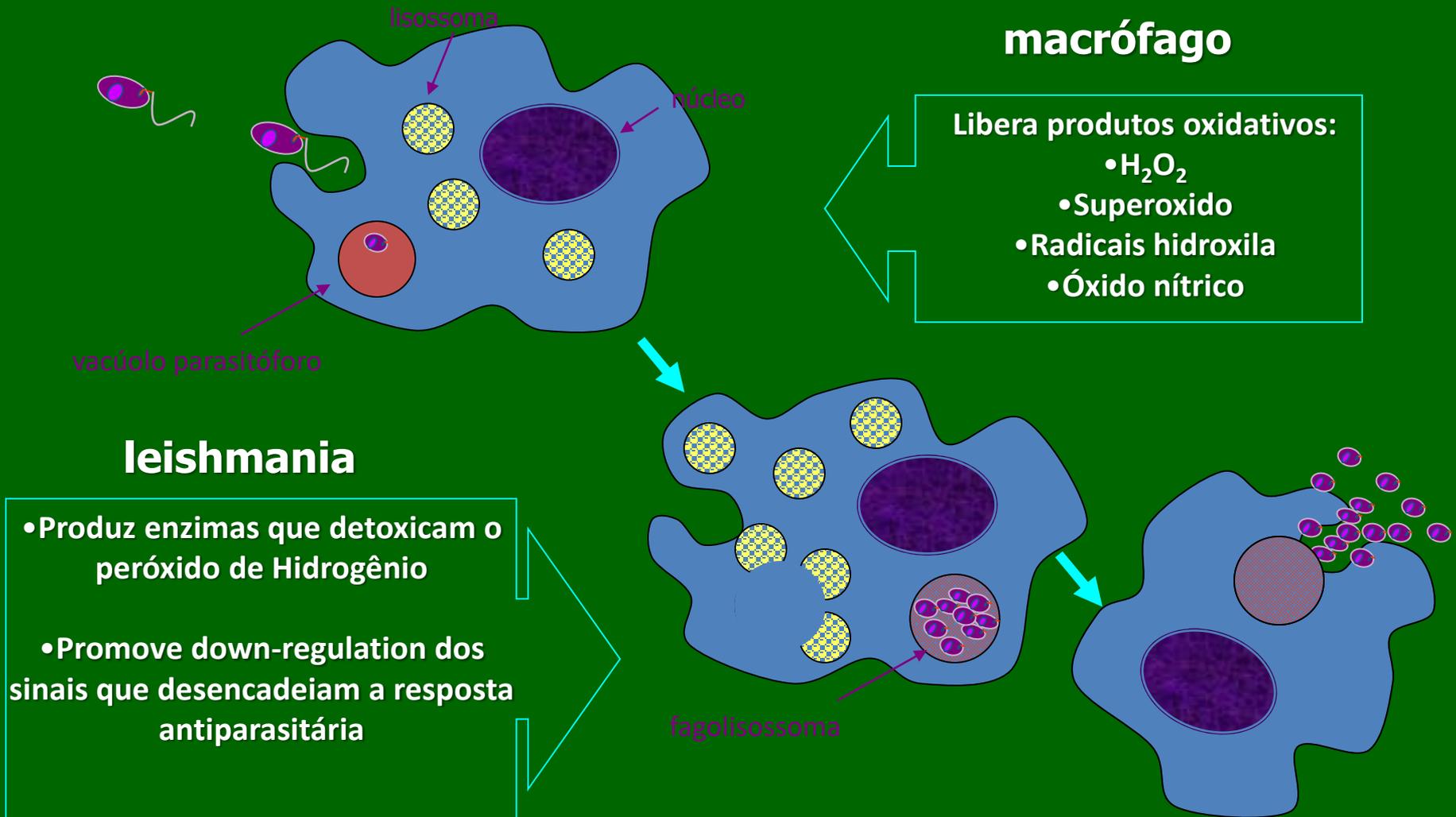
As modificações no **LPG** também estão relacionadas à **resistência à lise por complemento** que os promastigotas metacíclicos apresentam, quando injetados no hospedeiro mamífero.

GP63 - degrada enzimas proteolíticas dos lisossomas

LPG - Invasão



Relação parasita-célula



Resposta imune

1- Celular

Macrófago infectado

Ativação do “burst respiratório” e produção de NO

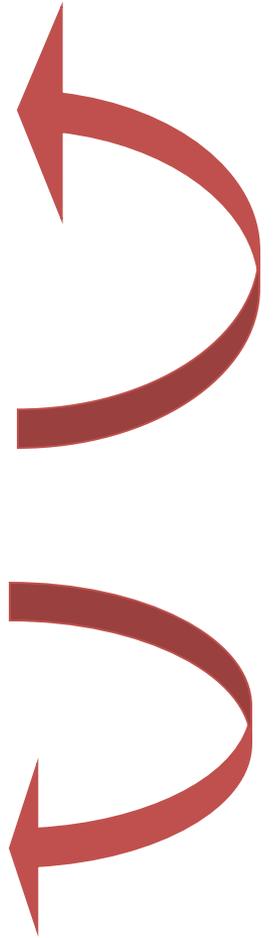
Apresentação de antígenos na superfície

Linfócitos imunes

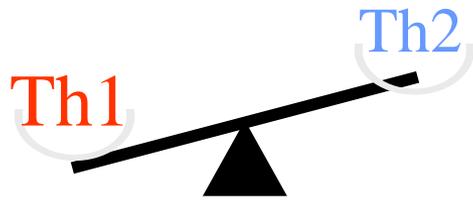
Th1 (IL2, IFN γ)

Th2 (IL4, IL5)

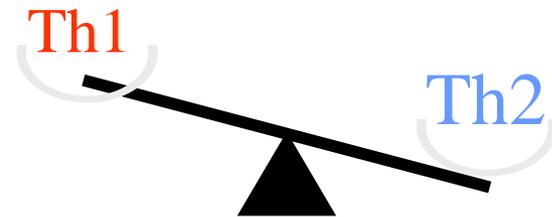
Ausência de ativação de macrófagos



Resposta imune



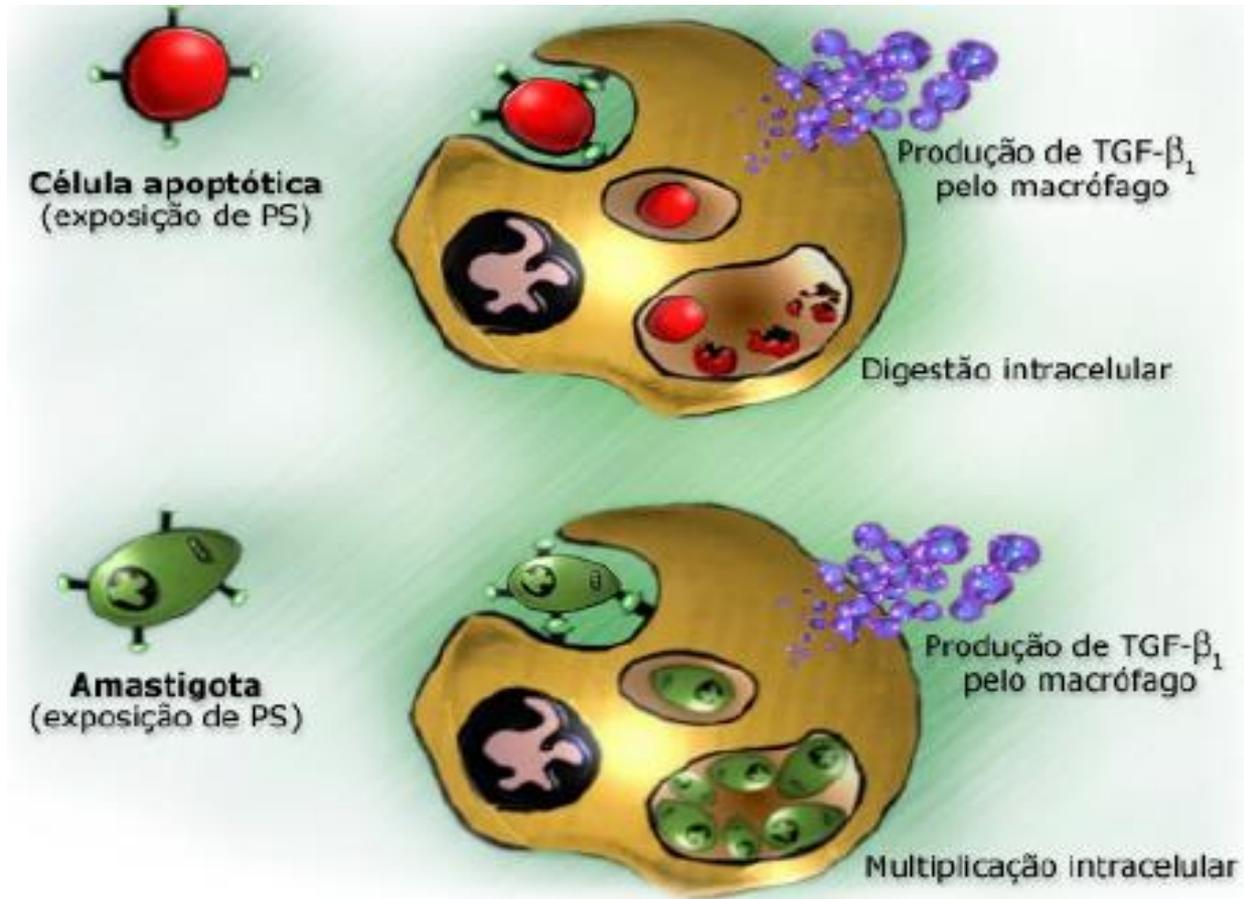
Resposta imune do tipo 1, baixos títulos de Ac e ampla linfoproliferação



Resposta imune do tipo 2, Infecção progressiva, Ac altos, RI deficiente ou anérgica

Mimetismo Apoptótico (amastigotas)

Amastigotas expõem PS, inativam macrófago mas não entram em apoptose



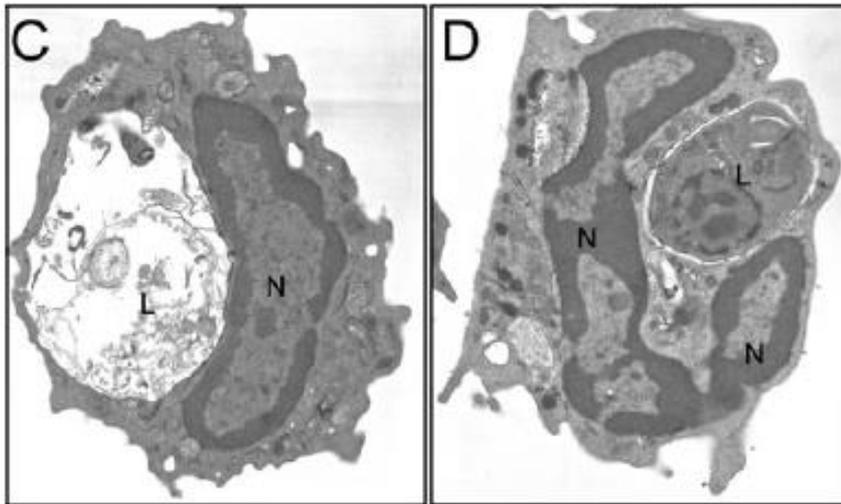
Promastigotas apoptóticos “altruístas” induzem produção de TGF β e inativam macrófago-sobrevida dos parasitas

Neutrófilos e *Leishmania*: Cavalo de Tróia?

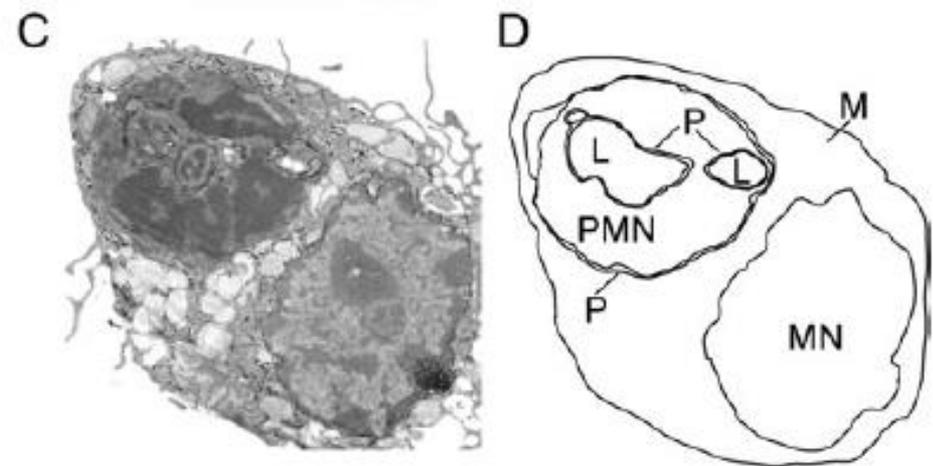
Rápido recrutamento de neutrófilos após inoculação (30min).

LPG inibe lise em alguns neutrófilos

Neutrófilos em apoptose (horas) são fagocitados por macrófagos.



Leishmania donovani em neutrófilos



Macrófago fagocita neutrófilos com *L. donovani*



Science **321**, 970 (2008);
DOI: 10.1126/science.1159194

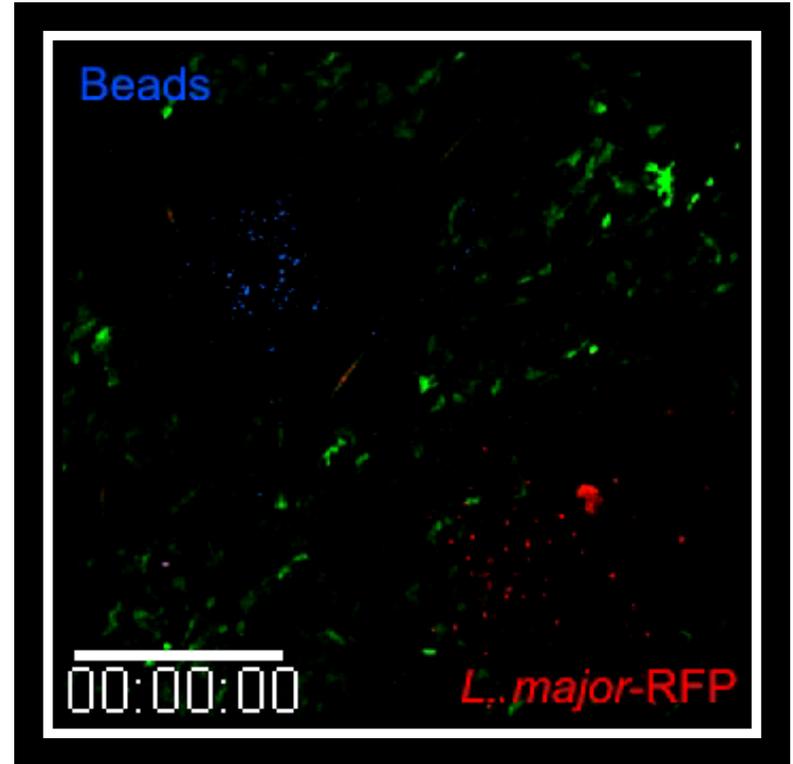
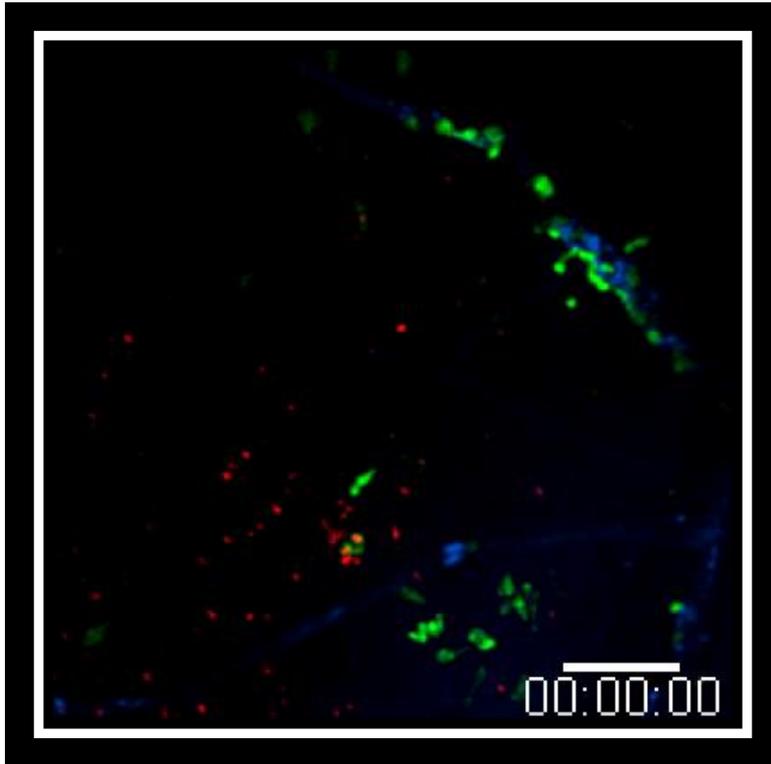
In Vivo Imaging Reveals an Essential Role for Neutrophils in Leishmaniasis Transmitted by Sand Flies

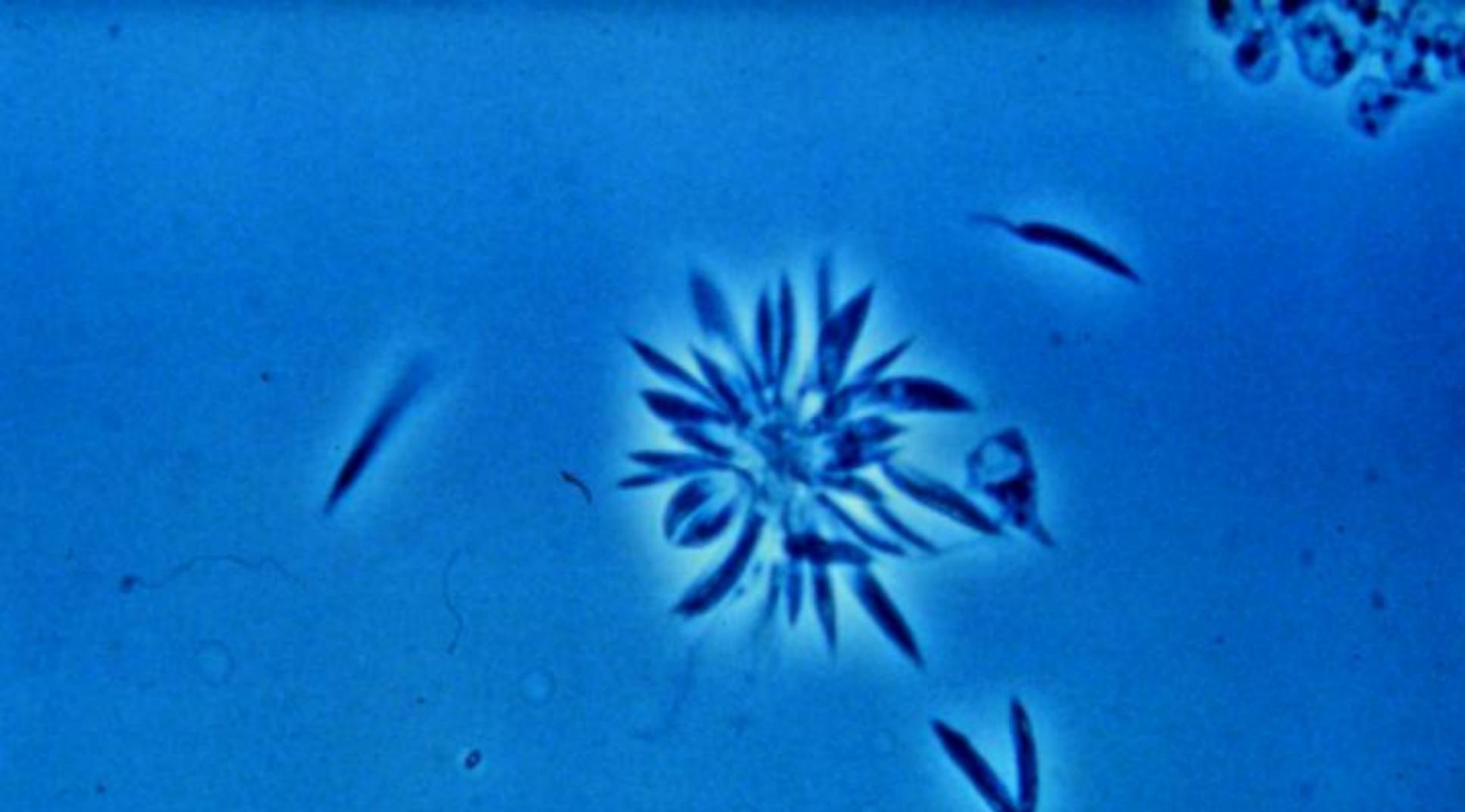
Nathan C. Peters,^{1*} Jackson G. Egen,^{2*†} Nagila Secundino,¹ Alain Debrabant,³ Nicola Kimblin,¹ Shaden Kamhawi,¹ Phillip Lawyer,¹ Michael P. Fay,⁴ Ronald N. Germain,^{2‡} David Sacks^{1†‡}

Infection with the obligate intracellular protozoan *Leishmania* is thought to be initiated by direct parasitization of macrophages, but the early events following transmission to the skin by vector sand flies have been difficult to examine directly. Using dynamic intravital microscopy and flow cytometry, we observed a rapid and sustained neutrophilic infiltrate at localized sand fly bite sites. Invading neutrophils efficiently captured *Leishmania major* (*L.m.*) parasites early after sand fly transmission or needle inoculation, but phagocytosed *L.m.* remained viable and infected neutrophils efficiently initiated infection. Furthermore, neutrophil depletion reduced, rather than enhanced, the ability of parasites to establish productive infections. Thus, *L.m.* appears to have evolved to both evade and exploit the innate host response to sand fly bite in order to establish and promote disease.

Neutrófilos & *Leishmania*

Neutrófilos (**verdes**) migram dos vasos (**azuis**) para local do inóculo de *L. major* (**vermelha**).



A microscopic image of a plant tissue section, likely stained with a blue dye. The central feature is a cluster of elongated, needle-shaped clefts, characteristic of cholesterol crystals. Surrounding this cluster are various cellular structures, including what appears to be a large, multi-layered cell wall or membrane structure. The overall appearance is that of a pathological lesion, possibly a xanthoma or a similar inflammatory response to a foreign body.

A doença

Síndromes clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Quadro clínico - forma cutânea localizada

L. braziliensis
L. guyanensis
L. amazonensis
L. mexicana



Evolução clássica:

2-8 sem após infecção

1. Nódulo/Pápula no local
infecção

2. Crosta central

3. Úlcera clássica



Quadro clínico - forma cutânea localizada



L. braziliensis
L. guyanensis
L. amazonensis
L. mexicana



Reservatório: roedores silvestres, marsupiais (gambá), preguiça, tamanduá



Síndromes clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Quadro clínico - forma cutânea difusa

L. amazonensis



- Anergia da resposta imune
- Disseminação da doença (lesões nodulares) e difícil tratamento

Reservatório: roedores silvestres



Diffuse cutaneous leishmaniasis. Facial lesion.

Síndromes clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Quadro clínico - forma muco-cutânea

L. braziliensis

- Evolução pode ser concomitante a uma manifestação de LC ou até vários anos após tratamento de LC
- Ulceração e erosão que destroem progressivamente tecidos moles e cartilagens das cavidades oronasal e faríngea.



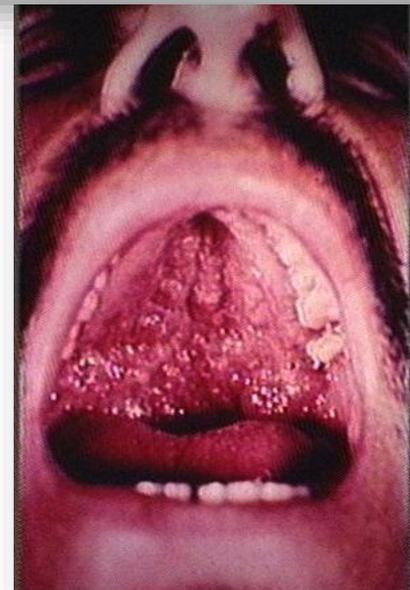
Reservatório: ?
roedores silvestres

Quadro clínico - forma muco-cutânea

L. braziliensis

Em geral, o acometimento inicial é de cornetos e septos nasais, faringe, palato e úvula.

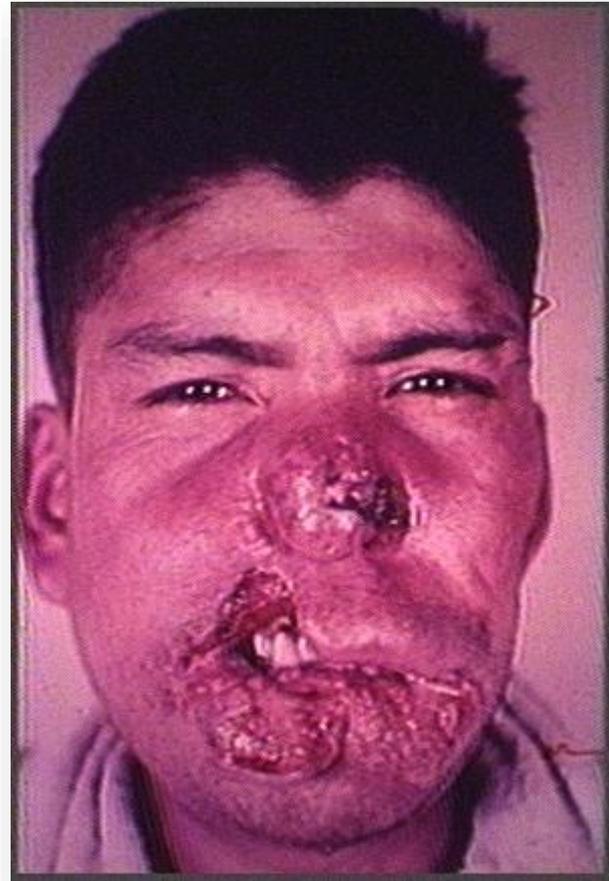
Posteriormente a doença pode se estender à epiglote, laringe e cordas vocais, o que caracteriza doença grave.



Quadro clínico - forma muco-cutânea

L. braziliensis

- Doença crônica, associada a considerável morbidade e estigma social.
- Tratamento é prolongado e tóxico.



Síndromes clínicas

Leishmaniose cutânea localizada

Leishmaniose cutâneo difusa

Leishmaniose cutâneo-mucosa

Leishmaniose visceral

Quadro clínico - forma visceral ou Calazar

L. chagasi

L. donovani

L. infantum

No Brasil, crianças são grupo de risco.

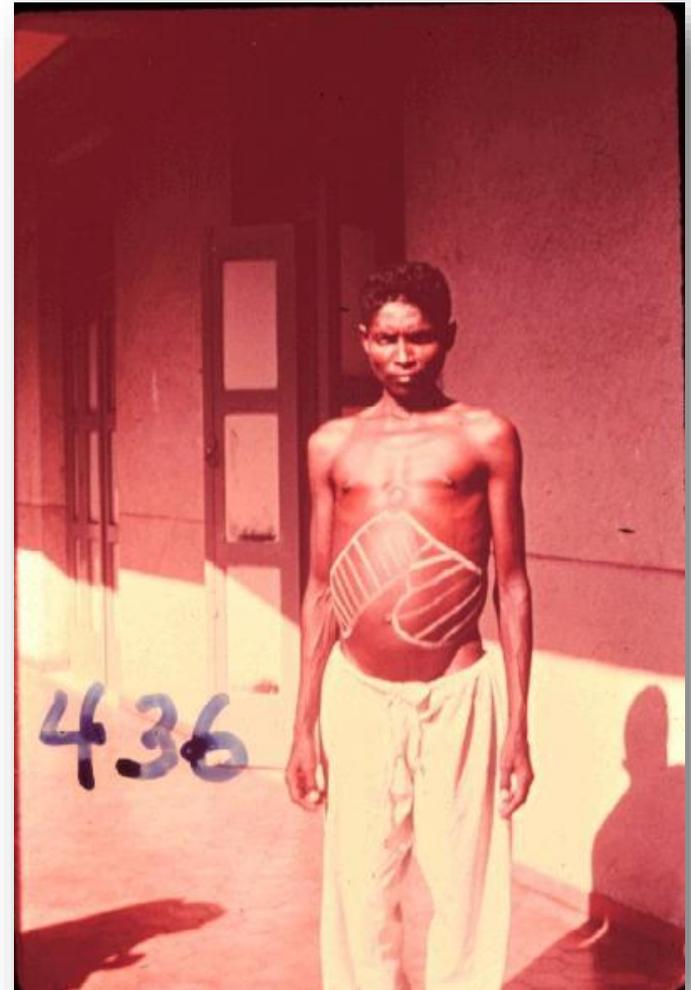
► febre irregular, perda de peso acentuada, aumento de baço e fígado, e anemia.



Quadro clínico - forma visceral

L. chagasi
L. donovani
L. infantum

- Período de incubação pode variar de 10 dias a 24 meses, com média de 2 a 6 meses.
- Porém, somente uma parcela dos indivíduos infectados irão evoluir com sinais e sintomas da doença.



Forma visceral - reservatórios

L. chagasi

- Área urbana:
canídeo é o reservatório principal (infecção é mais prevalente do que no homem)

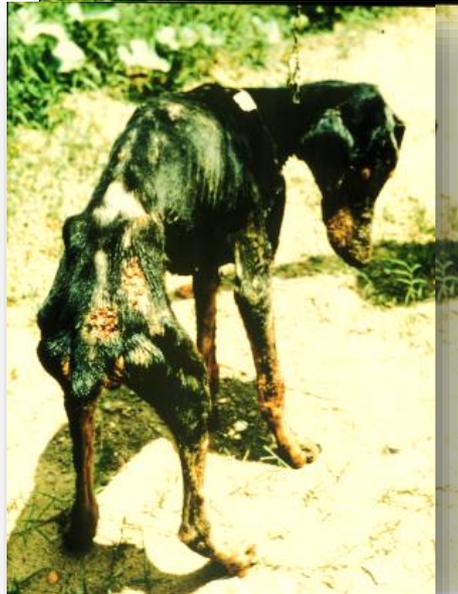


Figura 22 - Cão com emagrecimento, ceratoconjuntivite, lesões de face e orelha.

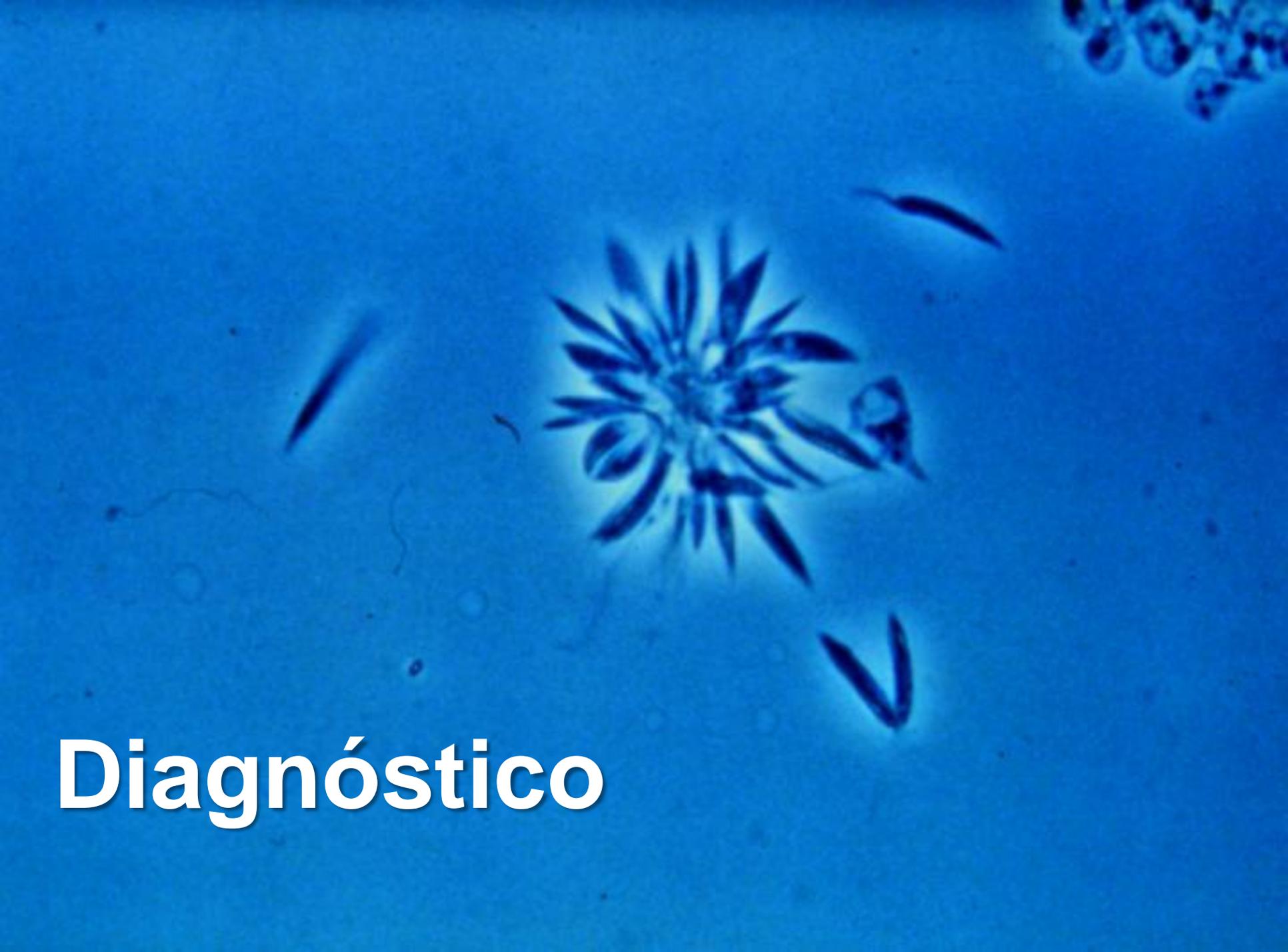
- Ambientes silvestres:
raposa e marsupiais foram encontrados infectados.



Figura 6- Raposa: reservatório silvestre da *Leishmania chagasi*



Figura 7- Marsupial didelfídeo: reservatório silvestre da *Leishmania chagasi*



Diagnóstico

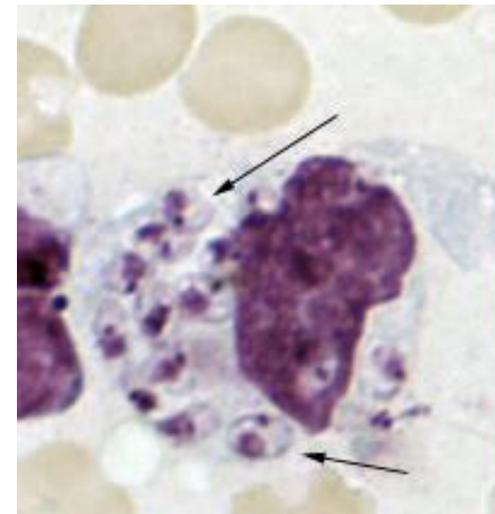
Diagnóstico Parasitológico

1- Identificação de amastigotas do parasita:

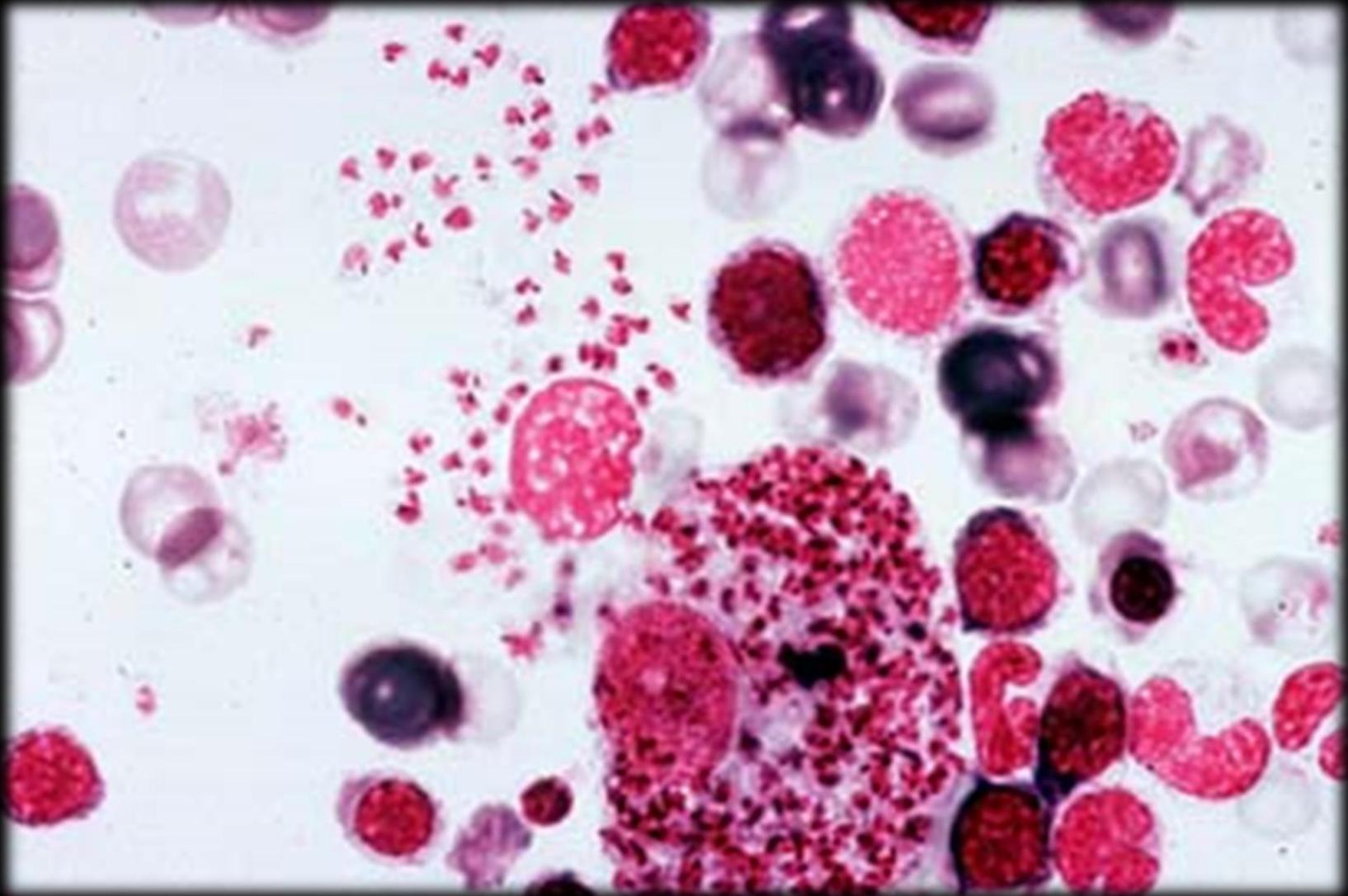
- **LC** – biópsia ou raspado de lesão de pele
 - **LV** - aspirado de medula óssea, baço, fígado ou linfonodos.
- pesquisa direta – ainda o mais utilizado.
 - cultura (meio LIT) – 5 dias a 4 semanas para o diagnóstico.
 - inoculação de animais – não é muito útil para DP de rotina.

SENSIBILIDADE : ↓ (variável)

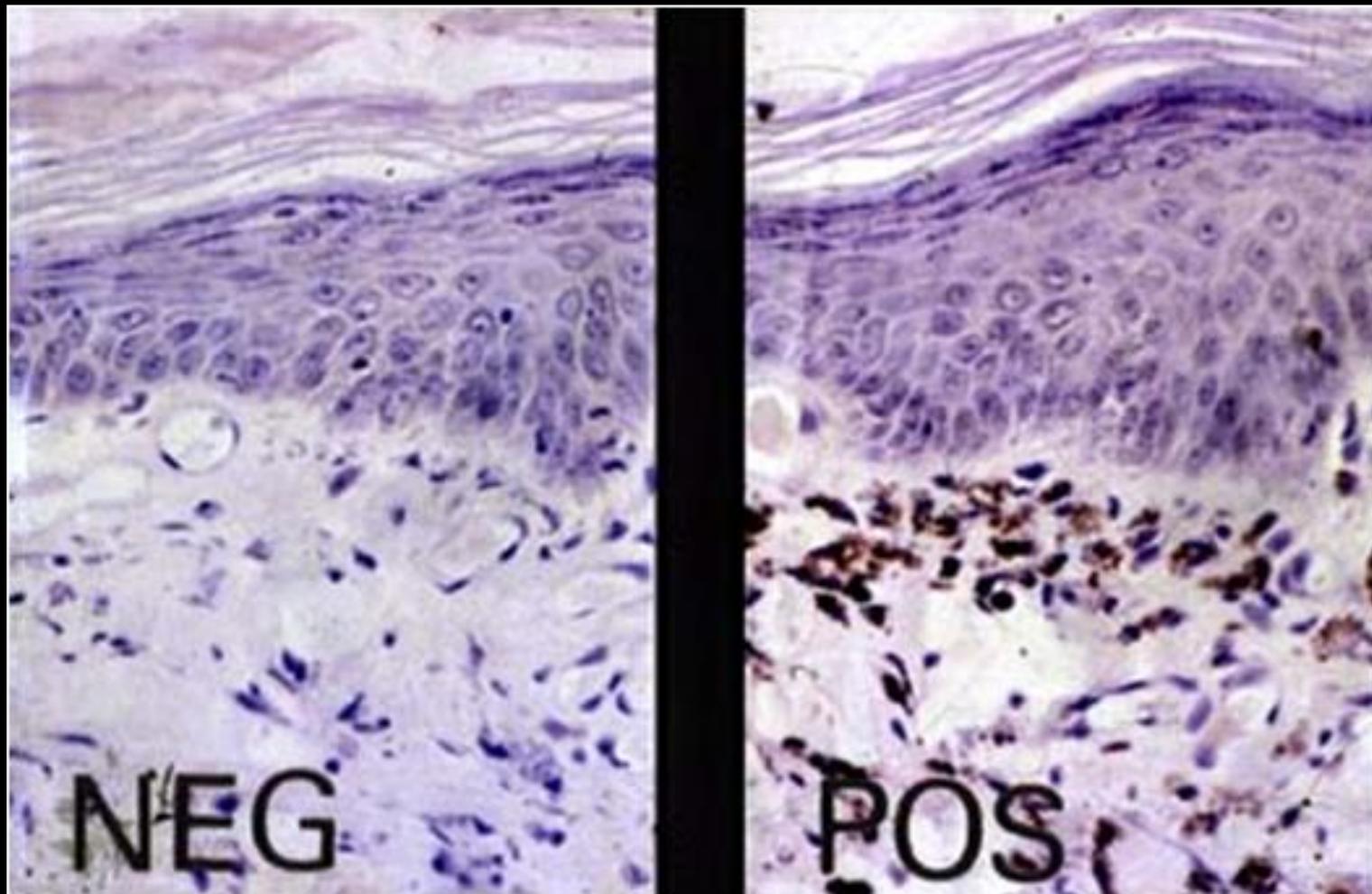
ESPECIFICIDADE: ↑ (gênero)



LV - aspirado de medula óssea



LC – biópsia



Diagnóstico Parasitológico

2- Identificação de amastigotas do parasita:

- LC – biópsia ou raspado de lesão de pele
- LV - aspirado de medula óssea, baço, fígado ou linfonodos.

pesquisa direta → DNA (PCR)

cultura → Isoenzimas (gold std espécies)
anticorpos monoclonais

SENSIBILIDADE : ↑

ESPECIFICIDADE: ↑

Diagnóstico Parasitológico

3- Imunodiagnóstico

- Reação de Montenegro (ainda muito útil para LC)
- Sorologia (imunofluorescência indireta ou ELISA)



SENSIBILIDADE : ↓ (calazar)

ESPECIFICIDADE: ↓ (gênero, reações cruzadas)



Terapêutica

Terapêutica - mecanismos de ação

Antimoniais pentavalentes (Gaspar Vianna, 1913)

-Intravenosos ou intramusculares (hospital)

-20 dias (cutânea) ou 28 dias (mucosa ou visceral)

Bloqueiam quinases da glicólise

▶ Resistência na Índia (VL Bihar: 6-8x dose curou 1/3).

Anfotericina B: interage com ergosterol da membrana do parasita, tornando-a permeável a íons e pequenas moléculas.

▶ Ainda não há resistência.

Pentamidina: altera a estrutura do cinetoplasto e síntese de poliaminas.

▶ Resistência na Índia.

Terapêutica - mecanismos de ação

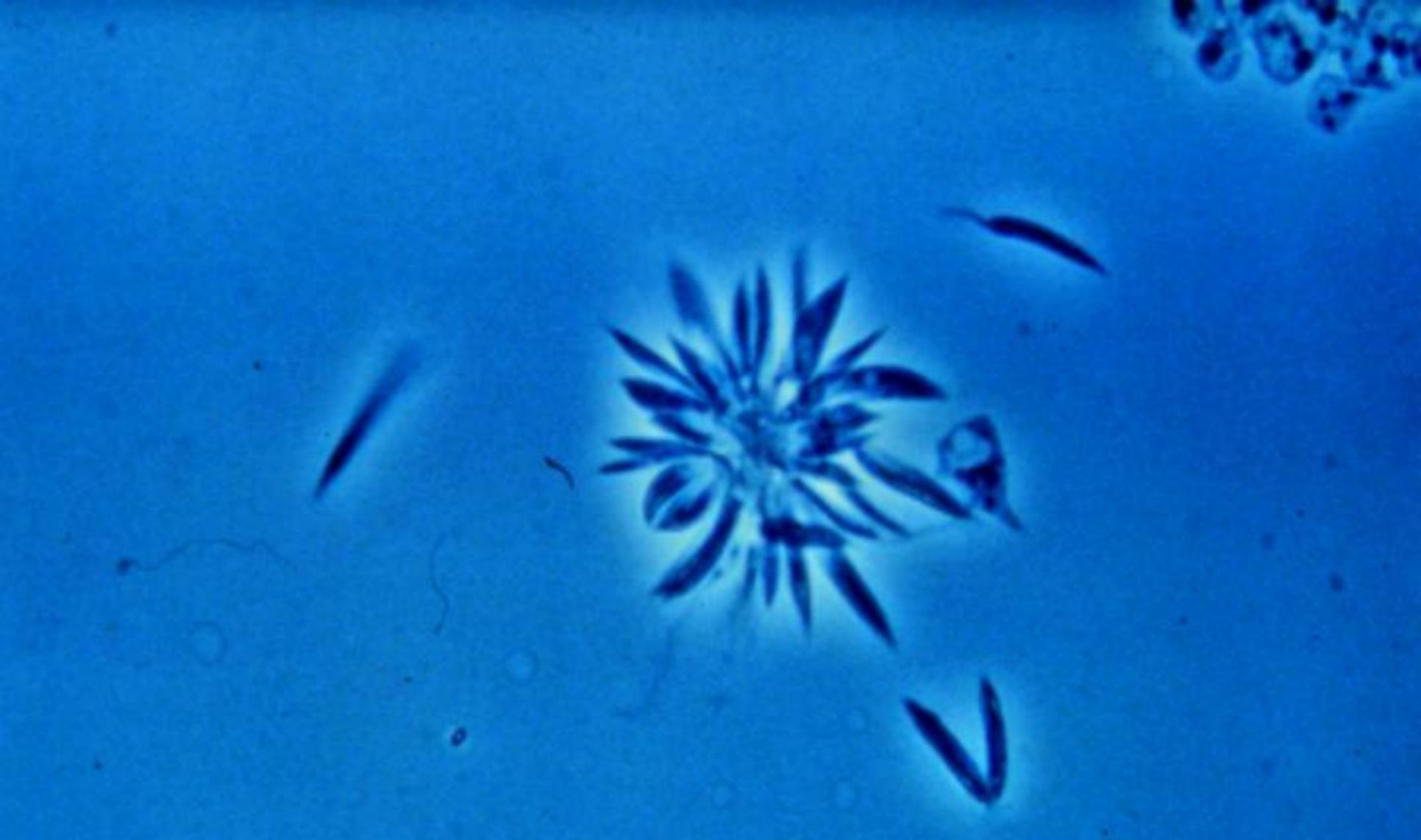
Tratamentos disponíveis:

Difícil administração, longo, tóxico, caro, resistência

- Antimoniais pentavalentes: **tóxicos, hospitalização.**
- Amphotericina B: **tóxicos, hospitalização.**
- Liposomal amphotericin B (AmBisome®): excelente mas caro (US\$ 2800/tto), intravenoso.
- Paromomycin: testada apenas na Índia.
- Miltefosine: primeira droga oral, cara (US\$200) e teratogênica (proibida para gestantes). Desde 2002.

Tratamento ideal:.

Oral, seguro, eficaz, baixo custo, curta duração (~10 dias)



Profilaxia

Profilaxia

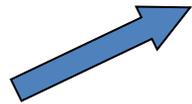
Controle do vetor

- construção de moradias distantes da mata
- telas de proteção
- repelentes.

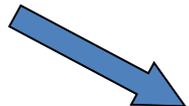
Problemas: o vetor não é domiciliar, é capaz de desenvolver resistência aos inseticidas. Os inseticidas apresentam efeito residual curto.

Profilaxia

**Controle do
hospedeiro
mamífero**



RESERVATÓRIOS - eliminação dos reservatórios domésticos



PACIENTES - tratamento

Problemas:

- os reservatórios selvagens não podem ser “eliminados”;
- o tratamento é longo, existem efeitos colaterais, muitos pacientes não têm acesso ao tratamento.



VACINA

Profilaxia

VACINAS

- No começo deste século, utilizava-se inoculação de fragmentos de lesão em áreas do corpo não expostas (Rússia, Europa Oriental; *L. major*).



- **Parasitas mortos**, com ou sem BCG: vacina atualmente sendo submetida a **testes clínicos** (*L. amazonensis*, Brasil; *L. major*, Sudão).

Em fase de desenvolvimento:

- Parasitas vivos, recombinantes.
- Bacterias ou vírus recombinantes (*Salmonella*-gp63; *Vaccinia*-gp46).
- Subunidades definidas (gp63 recombinante; peptídeos sintéticos).
- Vacinas de DNA.