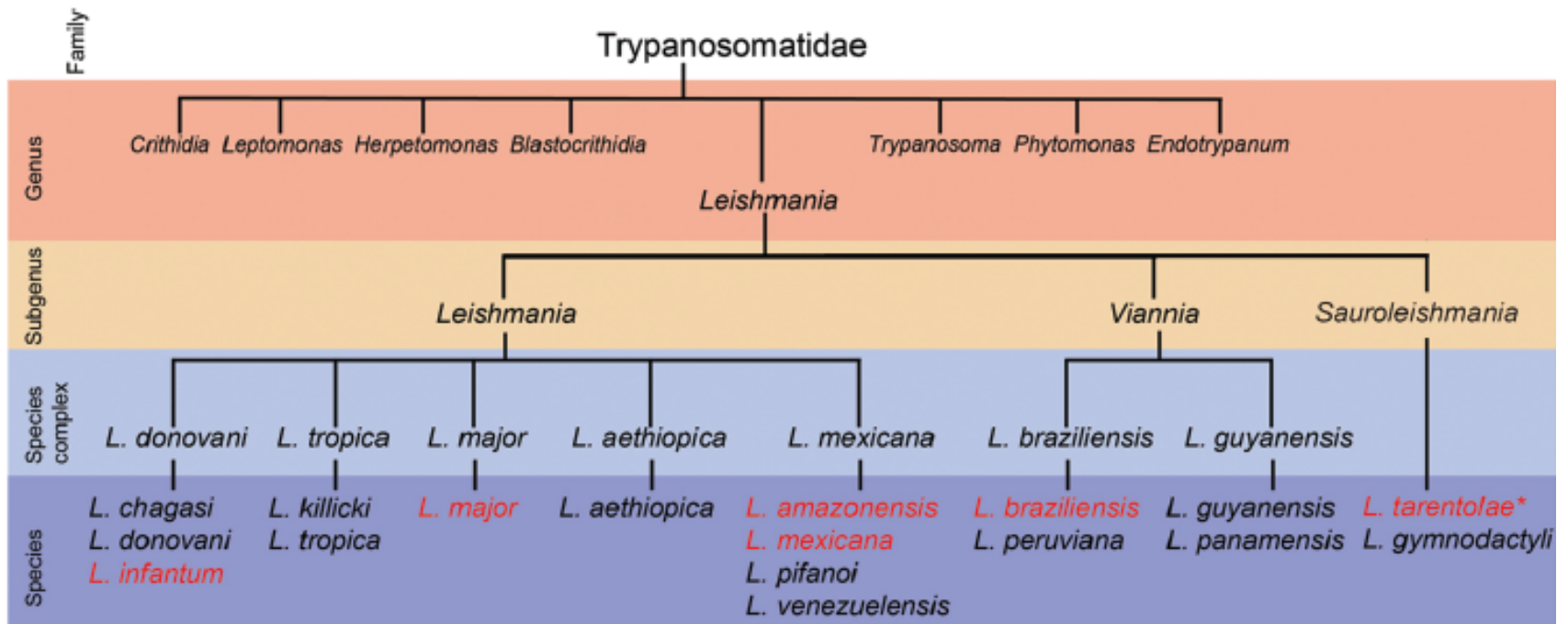


# LEISHMANIOSES



# Ordem Kinetoplastida (cinetoplasto)

## Família Trypanosomatidae



Real et al., 2013

Ancestral de tripanosomatídeos: parasita de insetos

Gênero *Leishmania*

Sub-gêneros *Leishmania*  
*Viannia*



Classificação com base na diferenciação no tubo digestivo do inseto:

- *Leishmania* no intestino anterior e médio,
- *Viannia* no anterior, médio e posterior

Outras diferenças: genoma, RNAi, vírus de RNA...

# ESPÉCIES DO GÊNERO LEISHMANIA

Mais de 20 espécies patogênicas ao homem

Evolução clonal- spp separadas há 15-50 milhões de anos,  
2,5% genes espécie-específicos

Espécies morfologicamente semelhantes (exceções)

Transmitidos por diferentes espécies de vetores-  
compatibilidade vetorial

Infectam diferentes hospedeiros vertebrados

Diferem quanto as moléculas de adesão, fatores de  
virulência e formas clínicas

Identificadas por métodos moleculares

# Espécies x Formas clínicas

## TEGUMENTAR

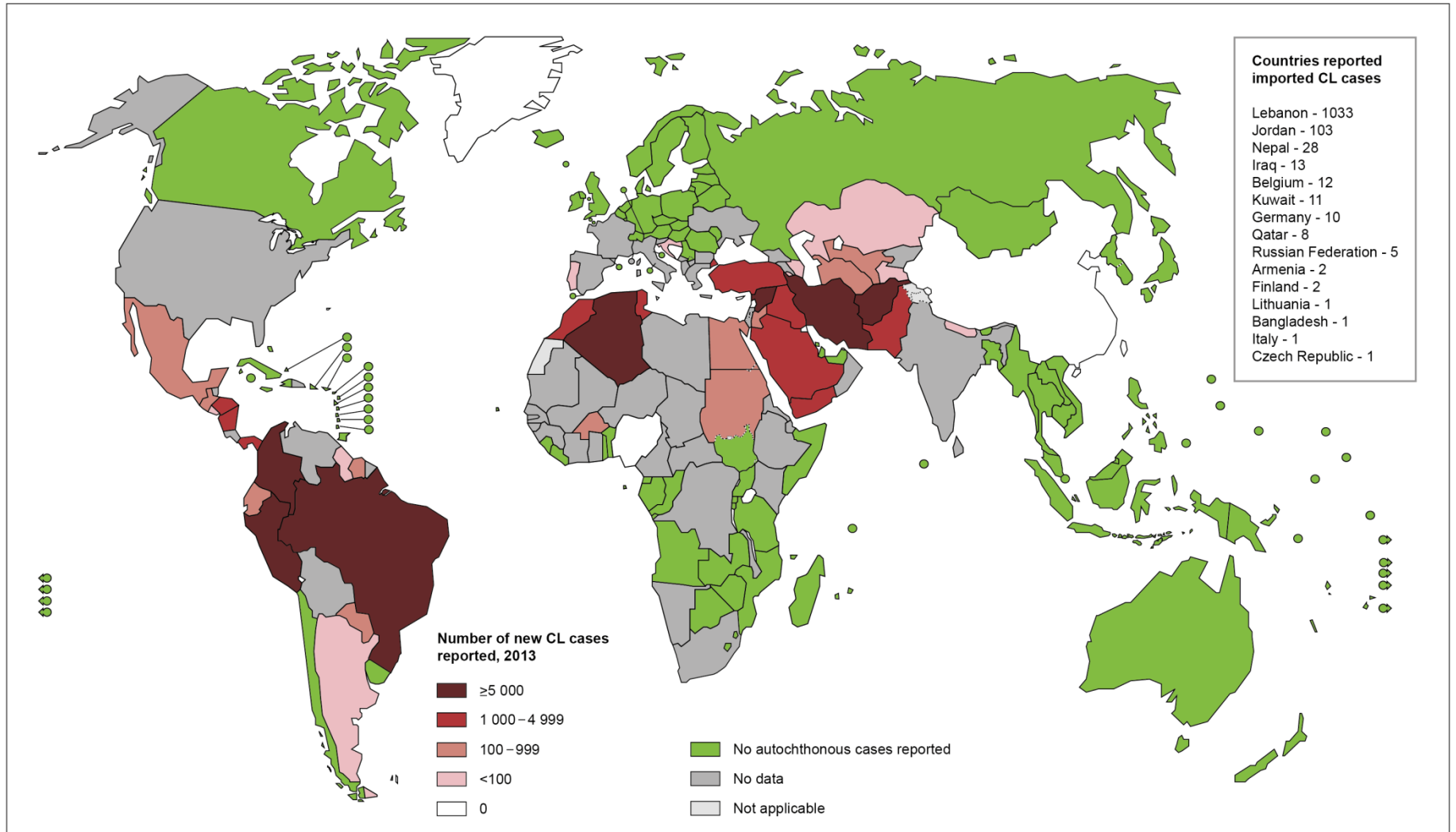
Cutânea localizada     *L. V. braziliensis*  
                                  *L. L. amazonensis*  
                                  *L. V. guyanensis*  
                                  *L. L. major*

Cutânea difusa            *L. L. amazonensis*

Mucosa/mucocutânea   *L. V. braziliensis*

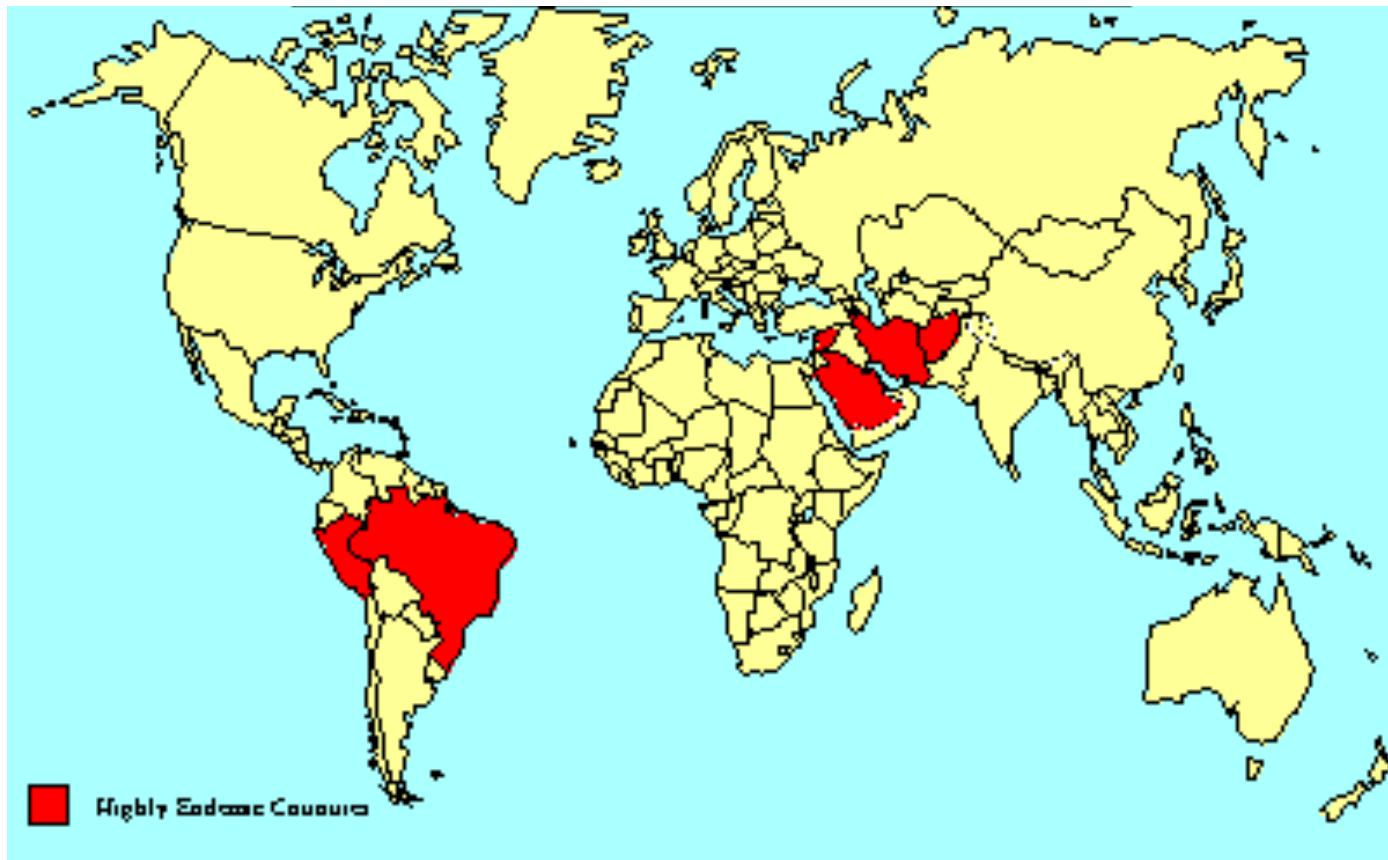
VISCERAL                    *L. L. chagasi, L. L. donovani*

# Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea (Tegumentar)



1,5 milhão de casos novos por ano

(2013)



90% cutâneas: Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita, Síria

90% mucosas: Bolívia, Brasil, Peru

1300-2500 soldados americanos com LC após Afeganistão e Iraque

# Leishmaniose Tegumentar no Brasil: 72.800-119.600 casos/ano

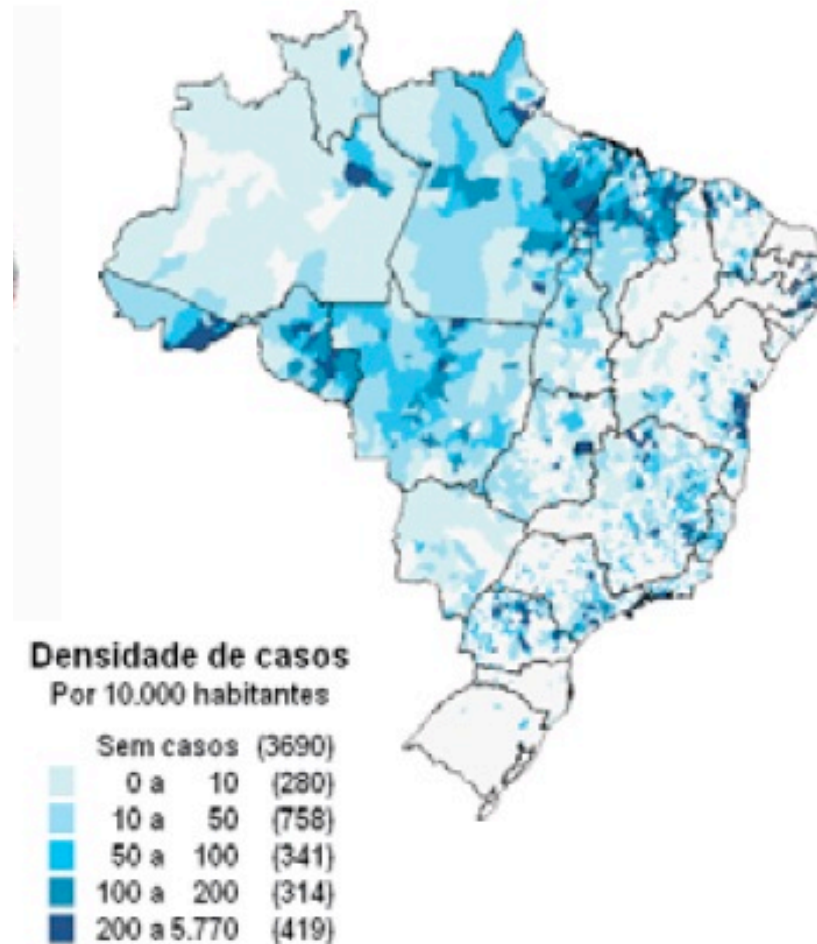
**Table 7.** Reported and estimated incidence of cutaneous leishmaniasis in the American region.

	Reported CL cases/year	Years of report	Estimated annual CL incidence	
Argentina	261	2004–2008	730	to 1200 <sup>1</sup>
Belize		no data		
Bolivia	2647	2004–2008	7400	to 12,200 <sup>1</sup>
Brazil	<u>26,008</u>	2003–2007	<u>72,800</u>	to <u>119,600</u> <sup>1</sup>
Colombia	17,420	2005–2009	48,800	to 80,100 <sup>1</sup>
Costa Rica	1249	2002–2006	3500	to 5700 <sup>1</sup>
Dominican Republic		no data	0	to 0
Ecuador	1724	2004–2008	4800	to 7900 <sup>1</sup>
El Salvador		no data	0	to 0
French Guyana	233	2004–2008	650	to 1100 <sup>1</sup>
Guatemala	684	2004–2008	1900	to 3100 <sup>1</sup>
Guyana	16	2006–2008	50	to 70 <sup>1</sup>
Honduras	1159	2006–2008	3200	to 5300 <sup>1</sup>
Mexico	811	2004–2008	2300	to 3700 <sup>1</sup>
Nicaragua	3222	2003–2007	9000	to 14,800 <sup>1</sup>
Panama	2188	2005–2009	6100	to 10,100 <sup>1</sup>
Paraguay	431	2004–2008	1200	to 2000 <sup>1</sup>
Peru	6405	2004–2008	17,900	to 29,500 <sup>1</sup>
Suriname	3	2005–2007	8	to 14 <sup>1</sup>
Venezuela	2480	2004–2008	6900	to 11,400 <sup>1</sup>
REGION	66,941		187,200	307,800

<sup>1</sup>Underreporting considered mild (2.8–4.6-fold) based on data from Argentina [29].



# Leishmaniose Tegumentar no Brasil



Sinan/ SVS-MS  
2004

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

Tegumentar = cutânea, cutânea difusa e mucosa

# Principais agentes da LT no Brasil:

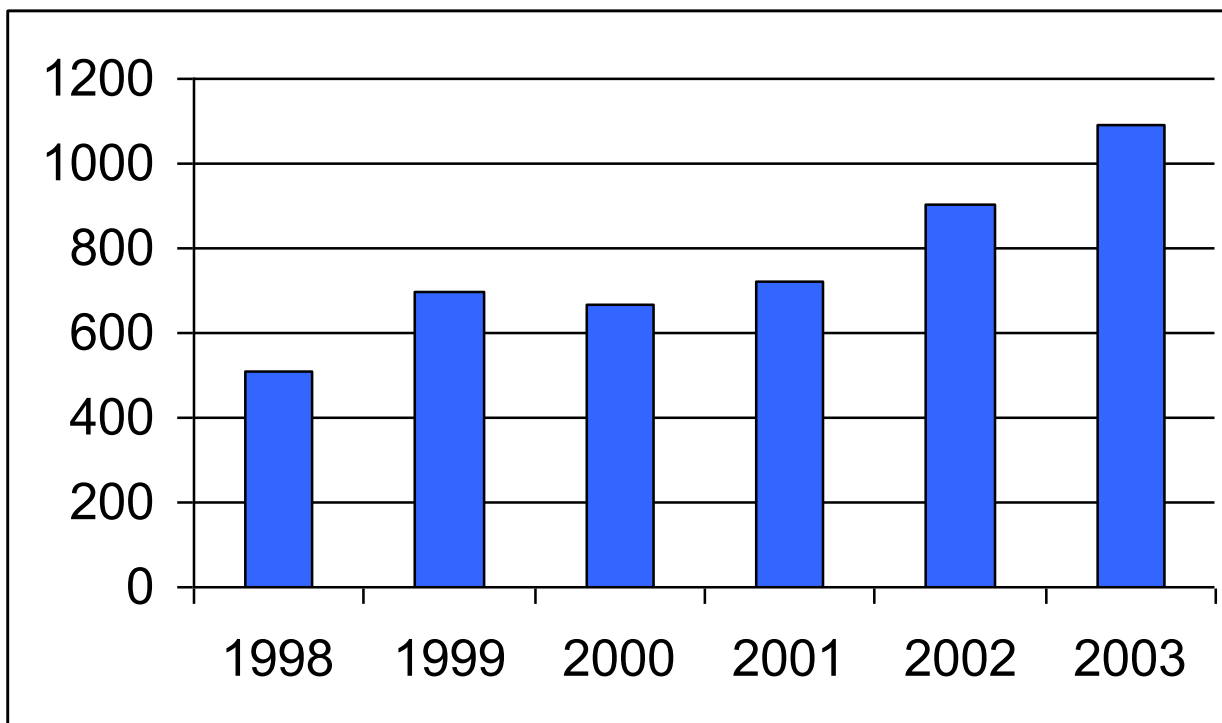
*Leishmania (V.) braziliensis*, *L.(L.) amazonensis*



Fonte: SVS/MS

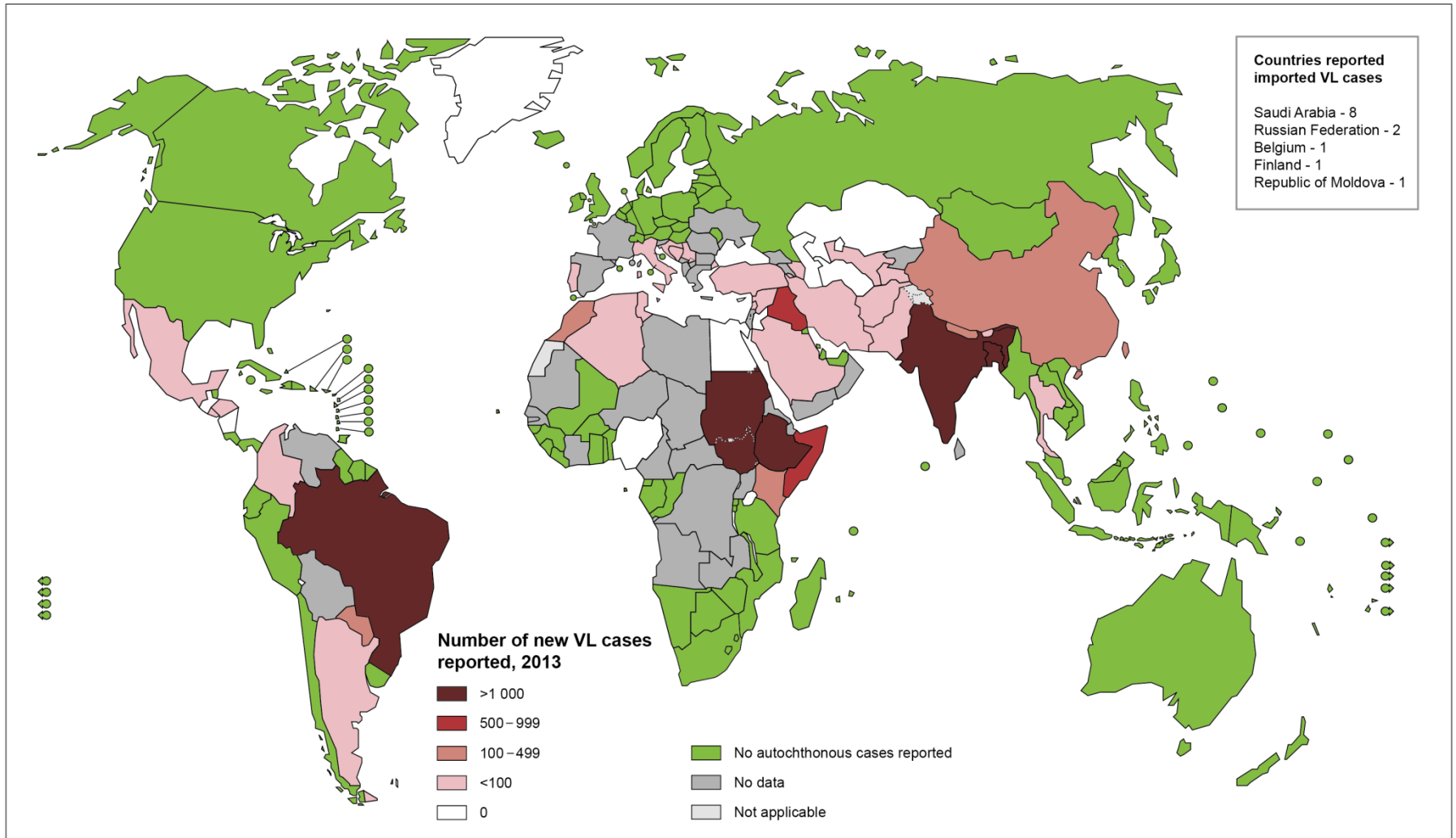
2005

# Leishmaniose cutânea - Estado de SP



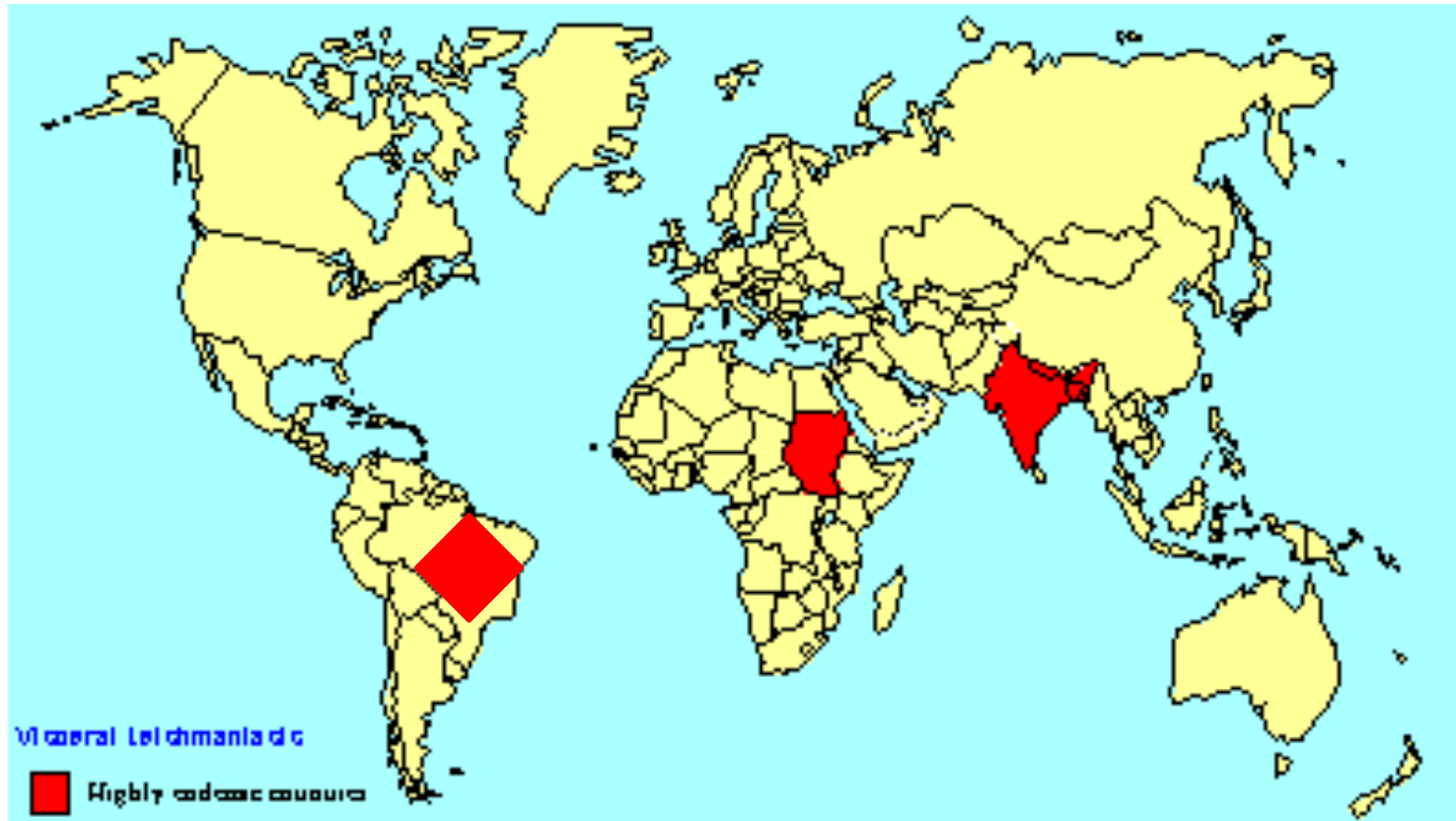
SUCEM

# Distribuição Geográfica da Leishmaniose Visceral



500.000 casos novos por ano

2013



90% viscerais: Bangladesh, Brasil, Índia, Nepal, Sudão

Índia: 50% dos casos do mundo; Bihar (rural): 90% dos casos indianos

# Leishmaniose Visceral no Brasil: 4200 e 6300 casos/ano

**Table 1.** Reported and estimated incidence of visceral leishmaniasis in the American region.

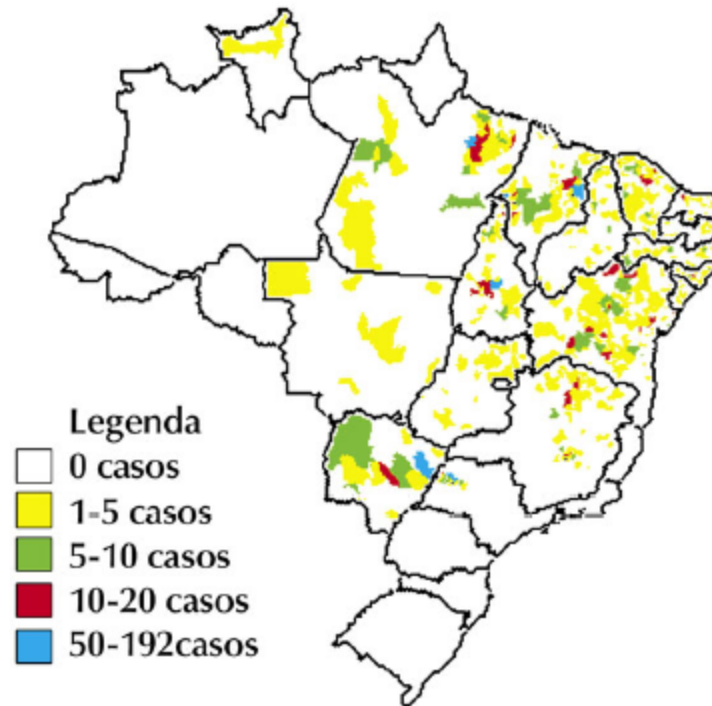
	Reported VL cases/year	Years of report	Estimated annual VL incidence
Argentina	8	2004–2008	20 to 30 <sup>1</sup>
Bolivia	0	2008	
Brazil	<u>3481</u>	2003–2007	<u>4200</u> to <u>6300</u> <sup>2</sup>
Colombia	60	2004–2008	70 to 110 <sup>2</sup>
El Salvador		no data	
Guatemala	15	2004–2008	20 to 30 <sup>2</sup>
Honduras	6	2004–2008	7 to 10 <sup>2</sup>
Mexico	7	2004–2008	8 to 12 <sup>2</sup>
Nicaragua	3	2003–2007	3 to 5 <sup>2</sup>
Paraguay	48	2004–2008	100 to 200 <sup>1</sup>
Venezuela	40	2004–2008	50 to 70 <sup>2</sup>
Region	3668		4500 to 6800

<sup>1</sup>Underreporting considered moderate (2–4-fold) based on recent introduction of VL into the country.

<sup>2</sup>Underreporting considered mild (1.2–1.8-fold) based on data from Brazil [25].

# Leishmaniose Visceral no Brasil

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% dos casos na década 90 para 77% em 2000

Urbanização da LV (surtos RJ, BH, Araçatuba, Natal, São Luís, Santarém, etc..)

Fonte: Manual de Vigilância e Controle da LV, Min Saúde

# Uma doença anunciada

Infecção letal causada por parasita de uma só célula, a leishmaniose visceral avança sobre as cidades brasileiras

Revista FAPESP, set 2008

Mais agressiva: matava 3/100, agora 7/100

Atingiu cidades- 80% dos brasileiros vivem em cidades; 30% das matas foram consumidas

Avanço em direção a SP: Gasoduto Brasil-Bolivia, migrações (30km/ano)

1º caso em 1999 em Araçatuba  
Em 9 anos 1258 casos (112 mortes)



# DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS HUMANOS DE LV POR MUNICÍPIO DO ESTADO DE SÃO PAULO – 1999 A 2006

1999

Municípios da DIR VI



Fonte: Div. de Zoonoses

2000

Municípios da DIR VI



Fonte: Div. de Zoonoses

2001

Municípios da DIR VI



Fonte: Div. de Zoonoses

2002

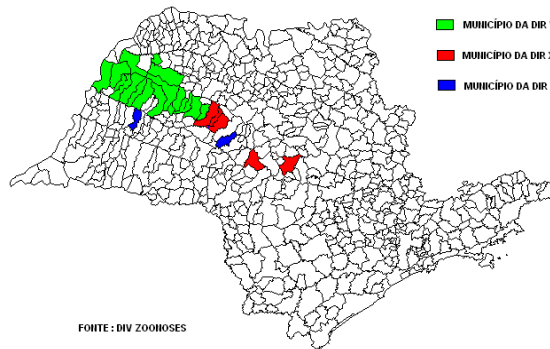
Municípios da DIR VI  
Municípios da DIR X



Fonte: Div. de Zoonoses

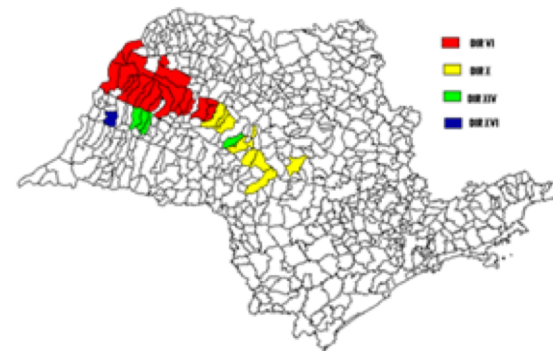
2004

MUNICÍPIO DA DIR VI - ARAÇÁ  
MUNICÍPIO DA DIR X - BAURÚ  
MUNICÍPIO DA DIR XIV - MARI



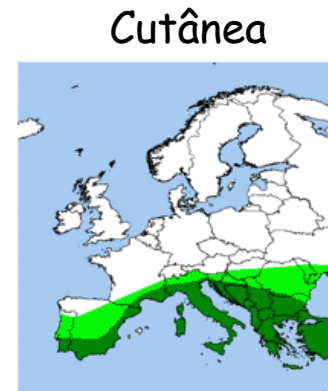
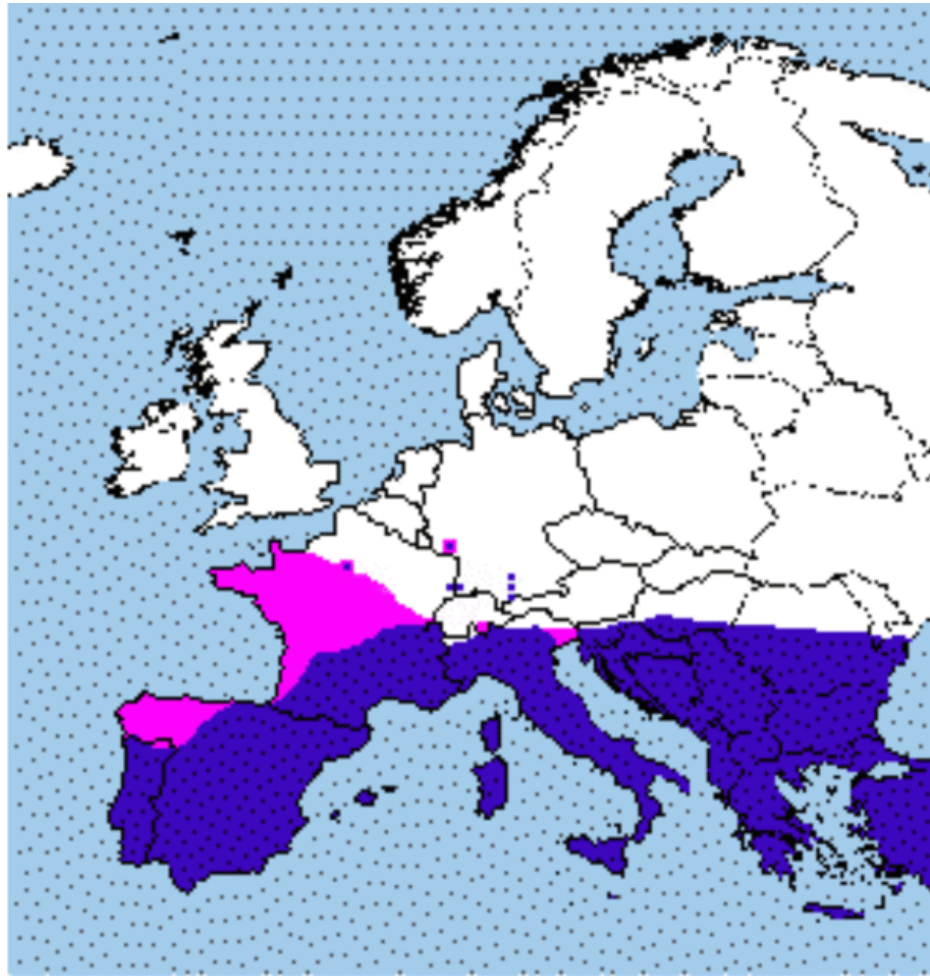
FORNTE : DIV ZOOIHOSES

2006



FORNTE: DIV. ZOOIHOSES / FZPC

# Leishmaniose Visceral na Europa



Blue = distribution of visceral leishmaniasis

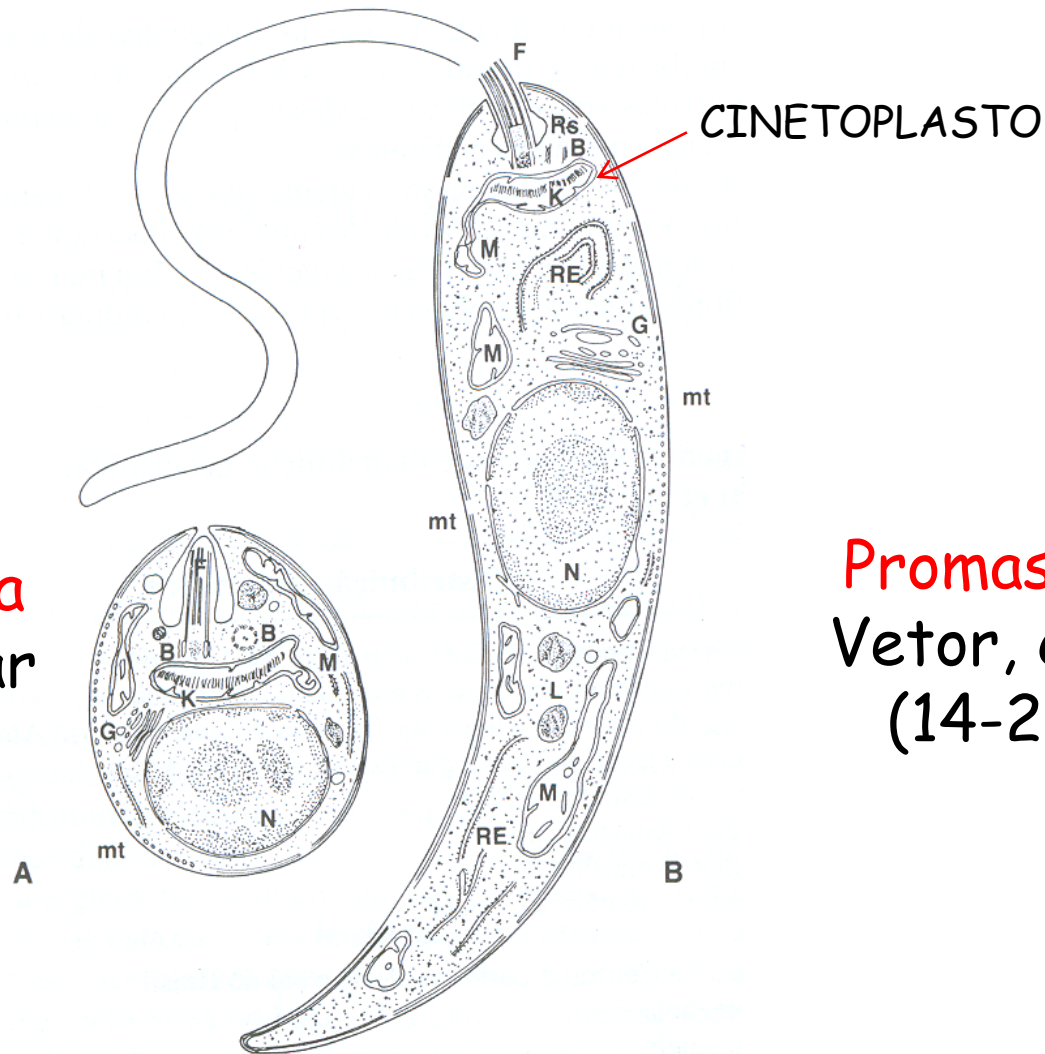
Red = distribution of the visceral leishmaniasis vector sandflies

Dark green = distribution of cutaneous leishmaniasis

Light green = distribution of cutaneous leishmaniasis vector sandflies

# FORMAS DO PARASITA

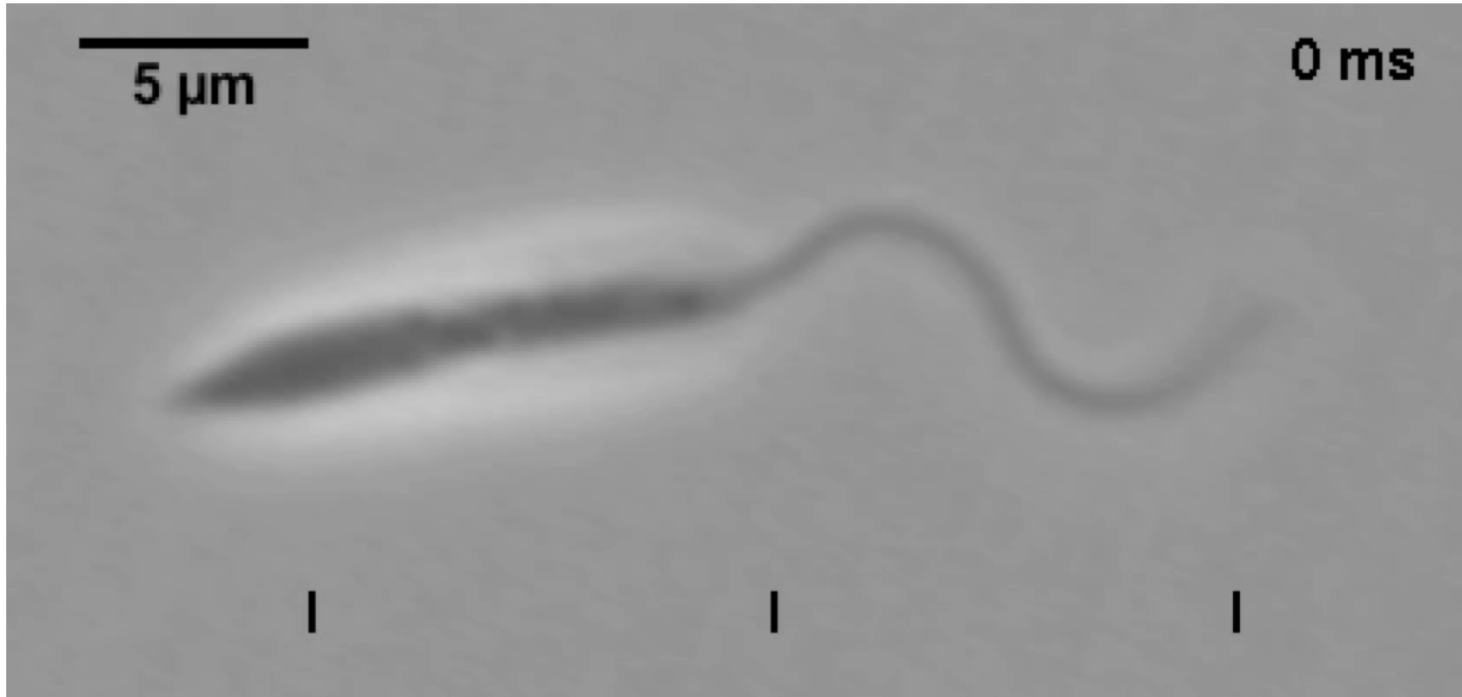
**Amastigota**  
Intracelular  
(2-6um)



**Promastigota**  
Vetor, cultura  
(14-20um)

Bactéria~0,5um, linfócito ~ 12um

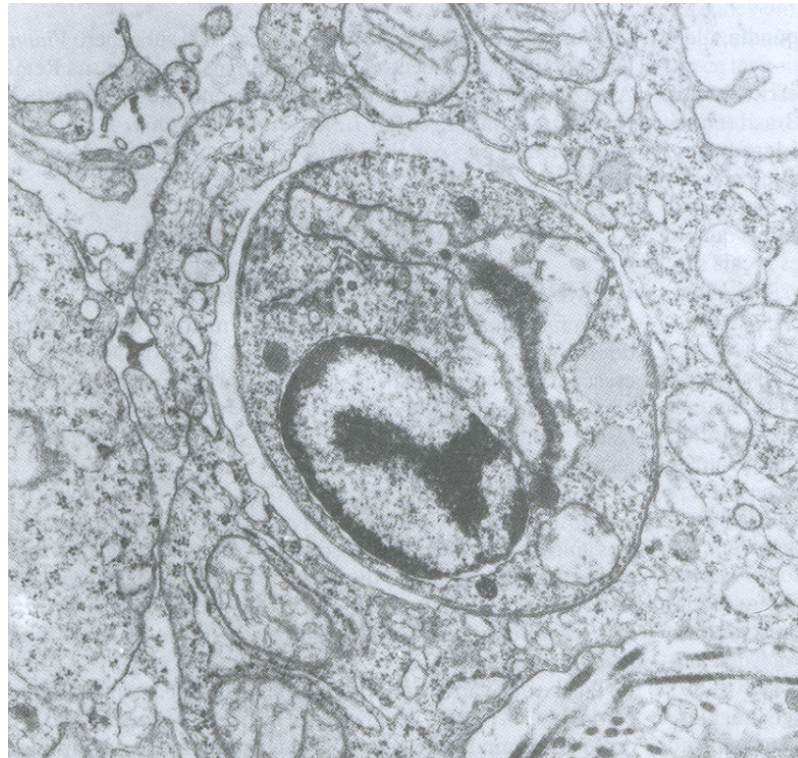
# Promastigota



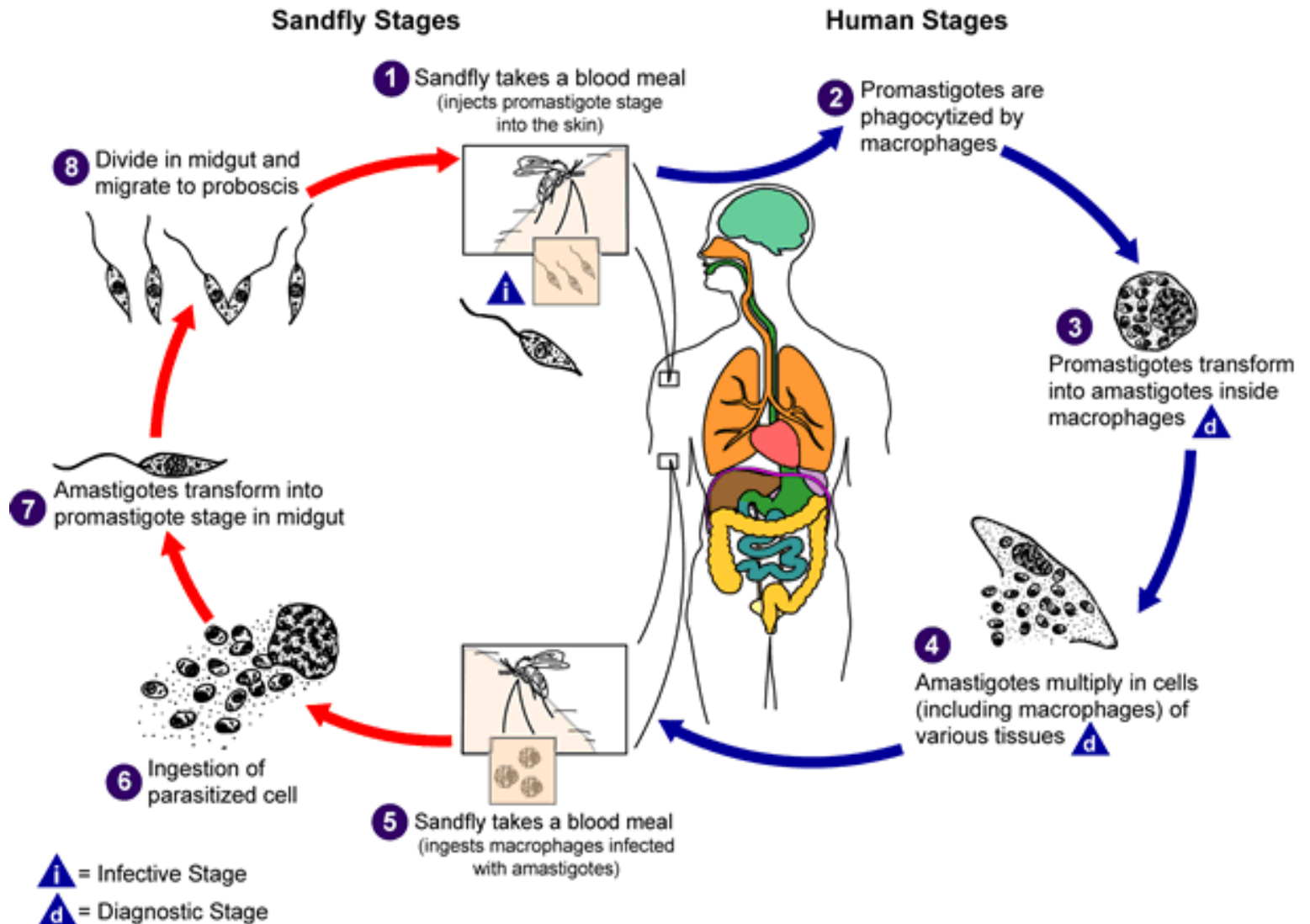
Reprodução por fissão binária no inseto vetor  
Forma invasiva: promastigota metacíclico

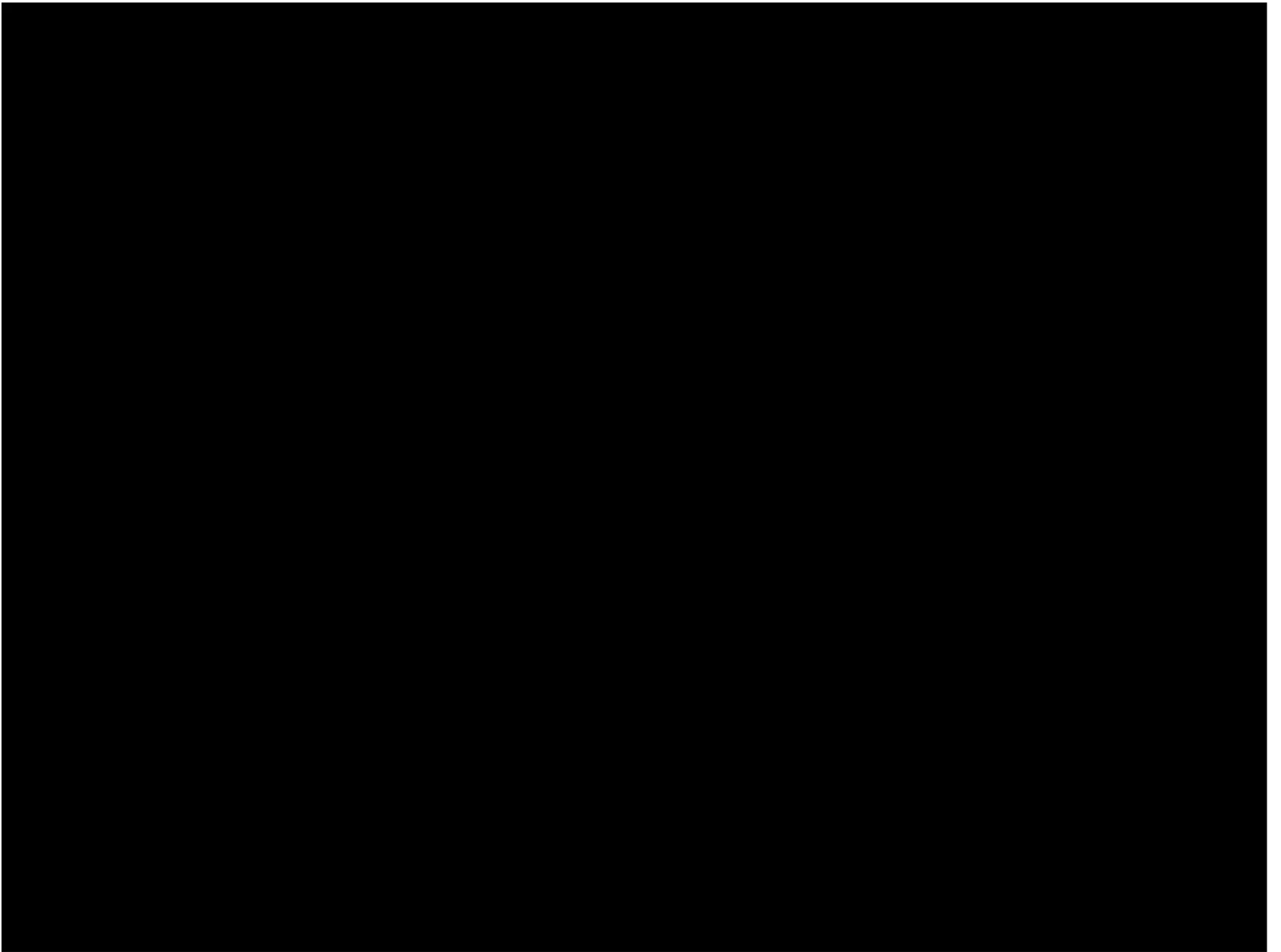
# Amastigota

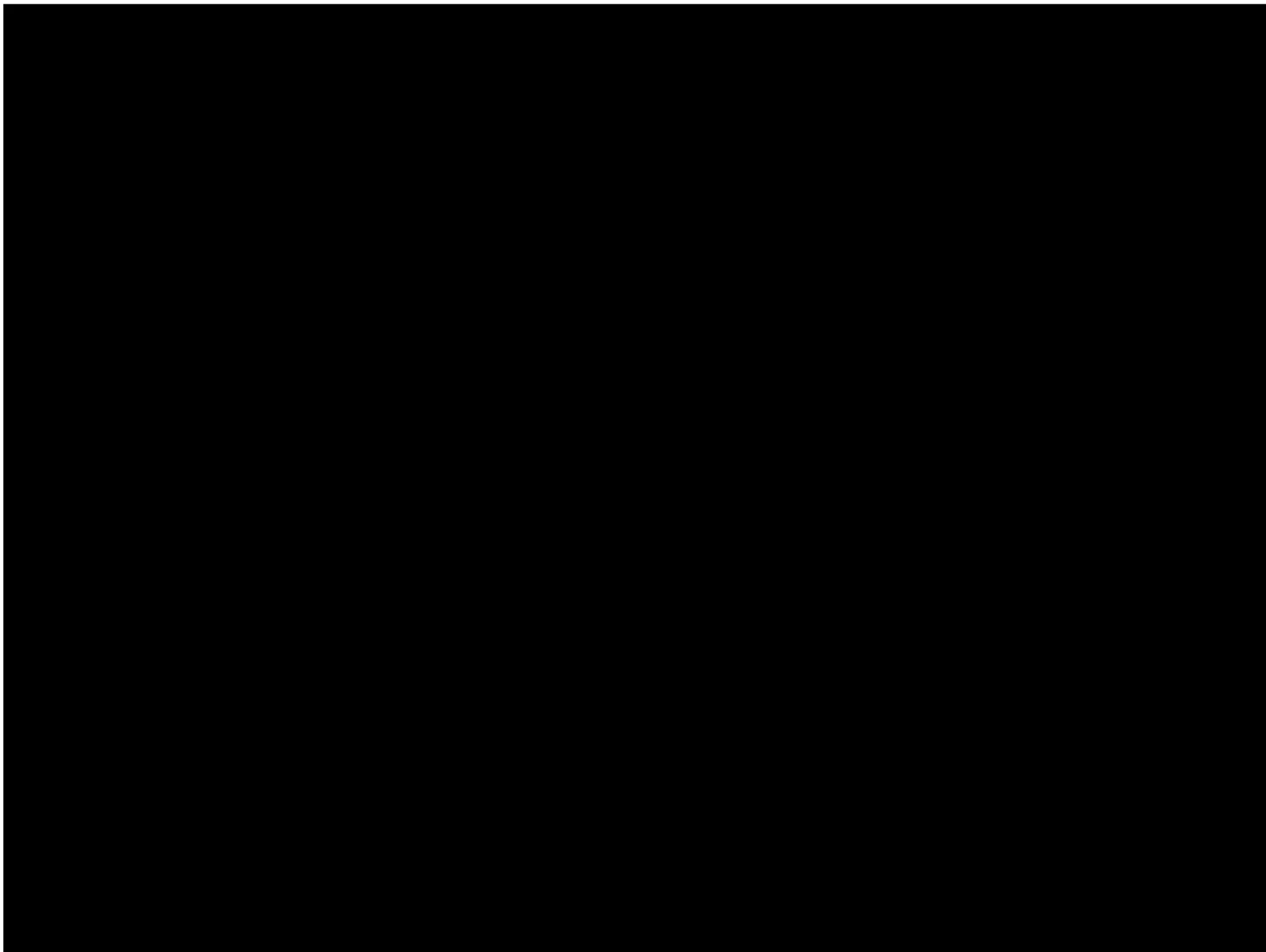
Fagocitado por células do sistema mononuclear fagocítico:  
**macrófagos**, neutrófilos, células dendríticas  
Reprodução por fissão binária



# CICLO









# VETORES

Flebotomíneos- Ordem Phlebotominae

5 gêneros e 700spp

30spp são vetores de leishmaniose



*Lutzomyia e Psychodopigus*  
nas Américas

*Phlebotomus* na África,  
Europa e Ásia

“**Mosquito (!)** palha”, birigui

# VETORES

2-3mm, corpo e asas peludas

Marrons "luminosos" (oleosidade)

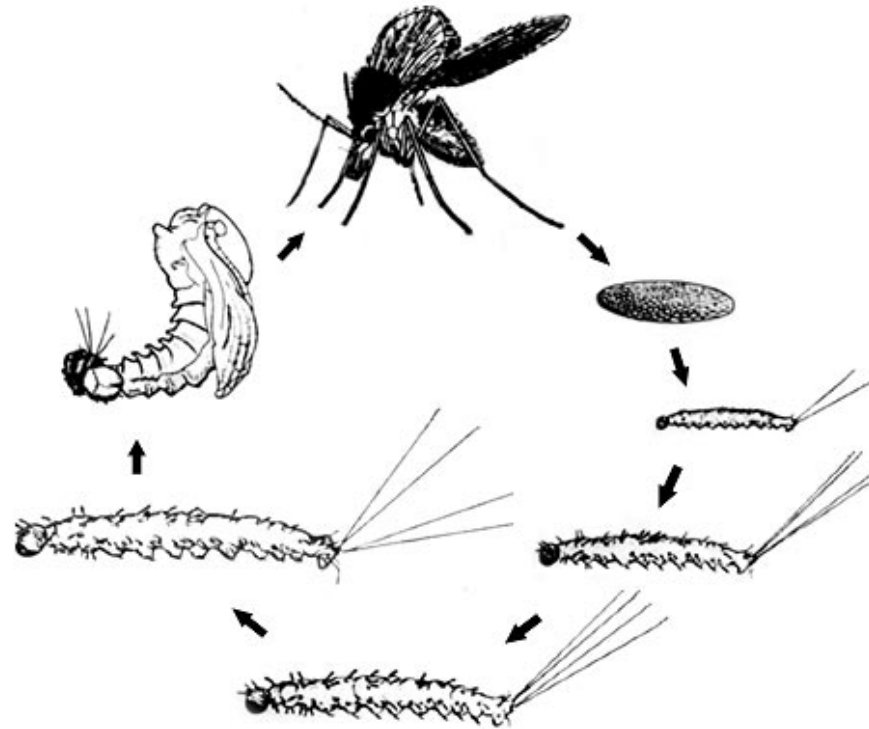
Asas em V

Regiões tropicais e temperadas (20 a 30°C)

A **fêmea** se alimenta de sangue ao entardecer/noite, vôo curto (até 100m), baixo e direto

Picada dolorida- "bebem" sangue da ferida

# VETORES



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

Larvas e pupas: habitat úmido, quente e com nutrientes

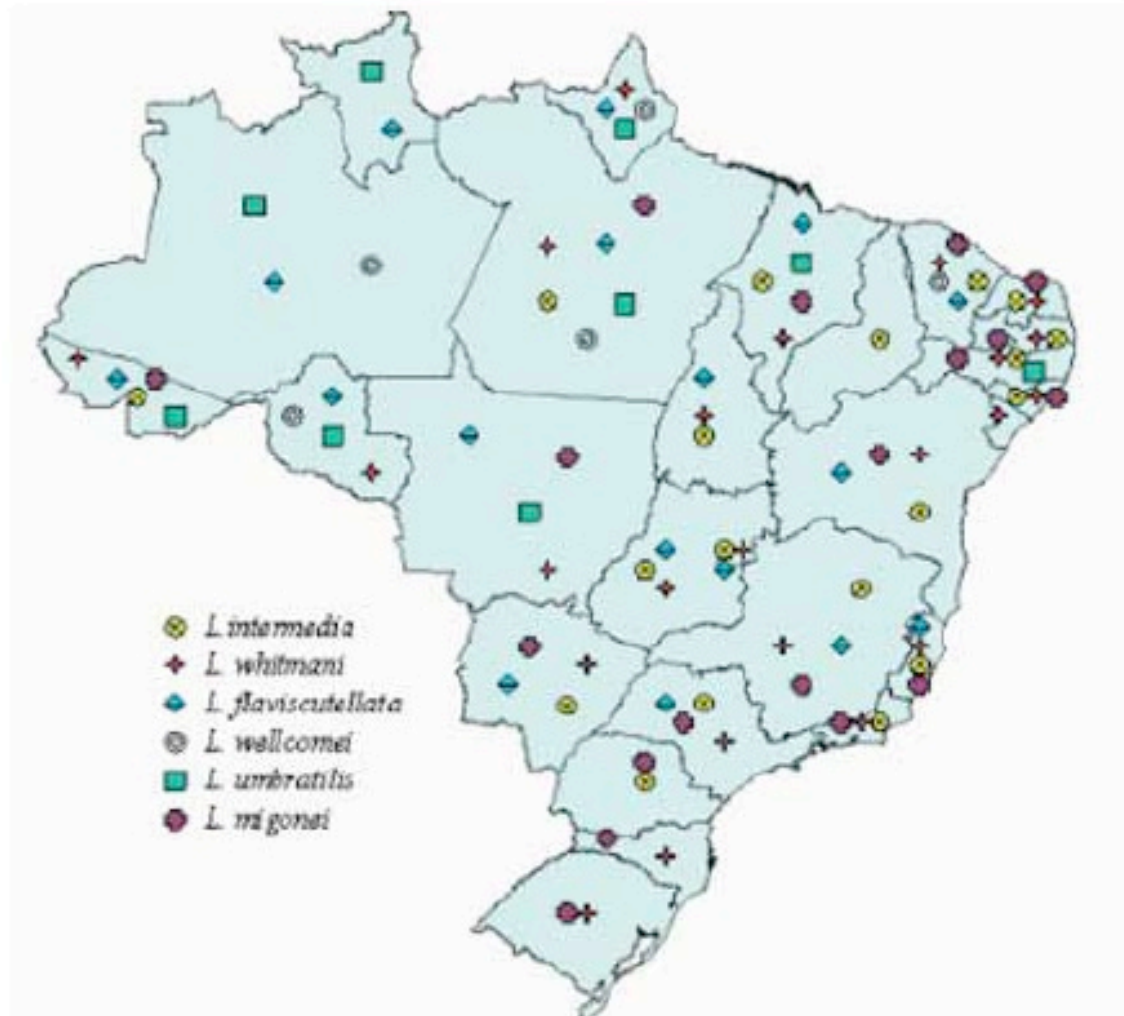
Difícil encontrar locais de desova, larvas e pupas: difícil controle!

# VETORES



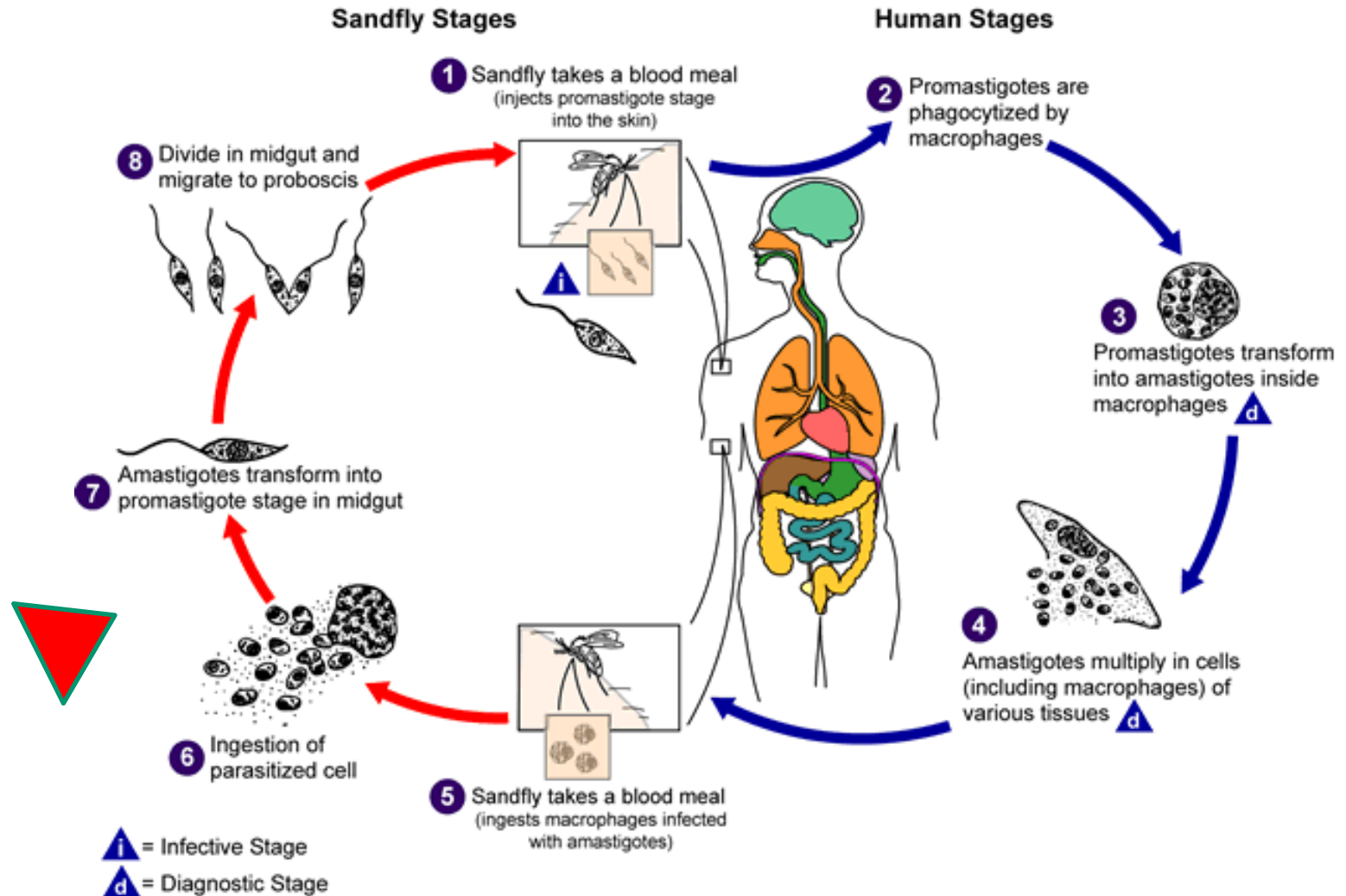
Habitat silvestre/peri-domiciar: lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres

# Vetores de leishmaniose tegumentar no BR



Leishmaniose visceral: *Lutzomyia longipalpis*

# CICLO



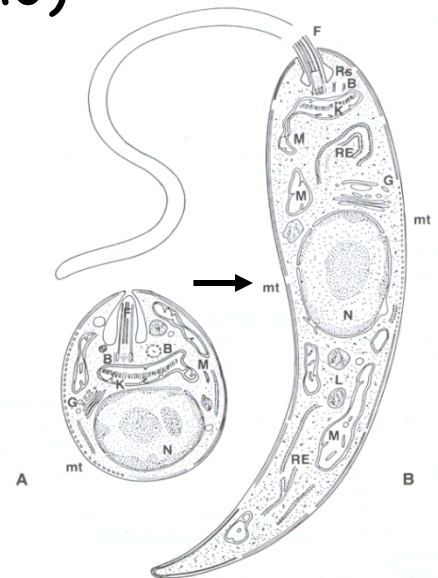
# TRANSFORMAÇÃO AMASTIGOTA-PROMASTIGOTA

Alterações do microambiente: do fagolisossomo (ácido e rico em nutrientes) ao intestino do inseto

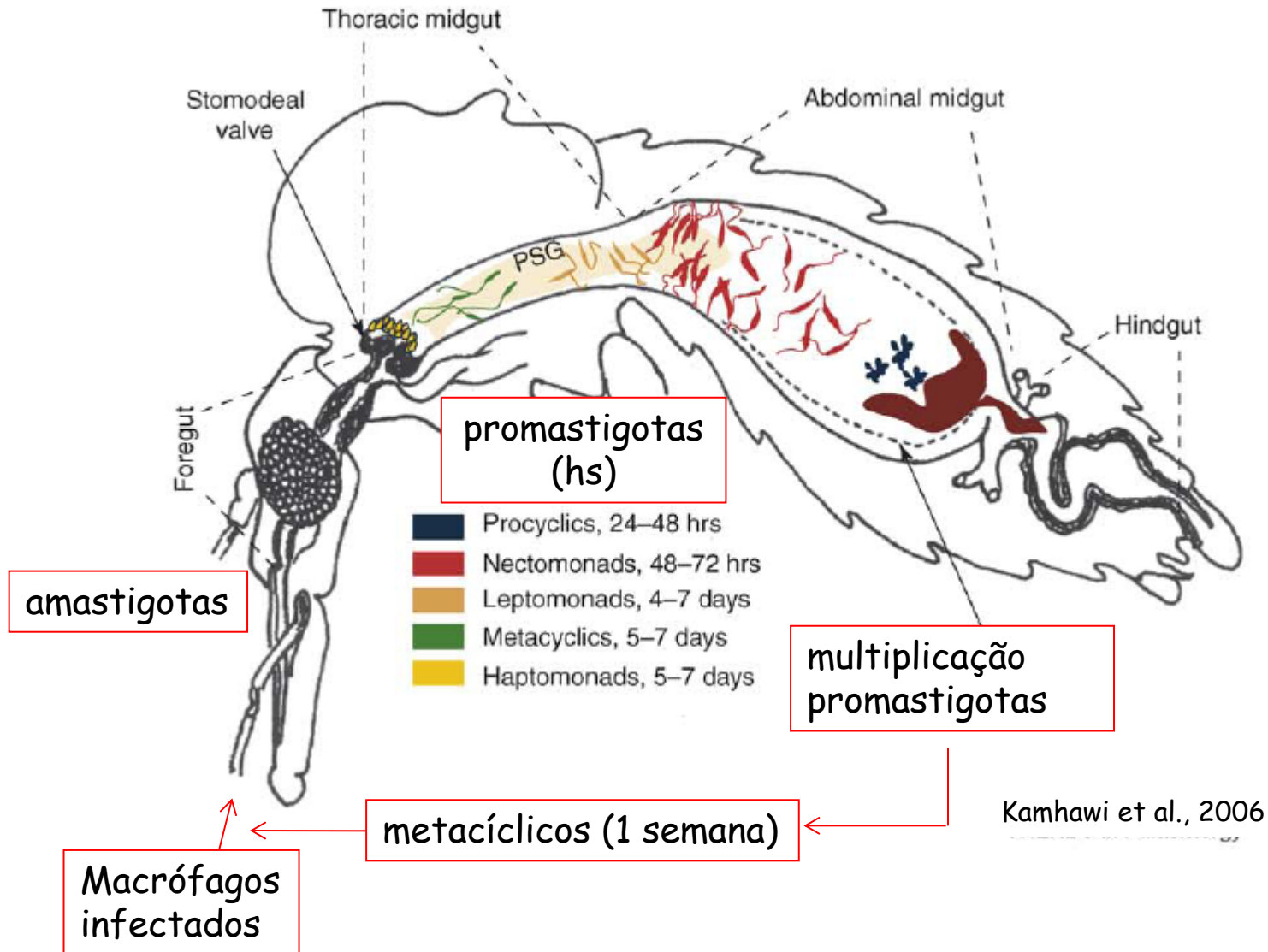
Cresce 5 vezes

Desenvolve um flagelo (1 a 2 vezes seu tamanho)

Passa a expressar LPG, aumenta gp63 (lipofosfoglicano, molécula majoritária)



# DESENVOLVIMENTO NO VETOR



Desenvolvimento no vetor: 10 dias (4 a 25)



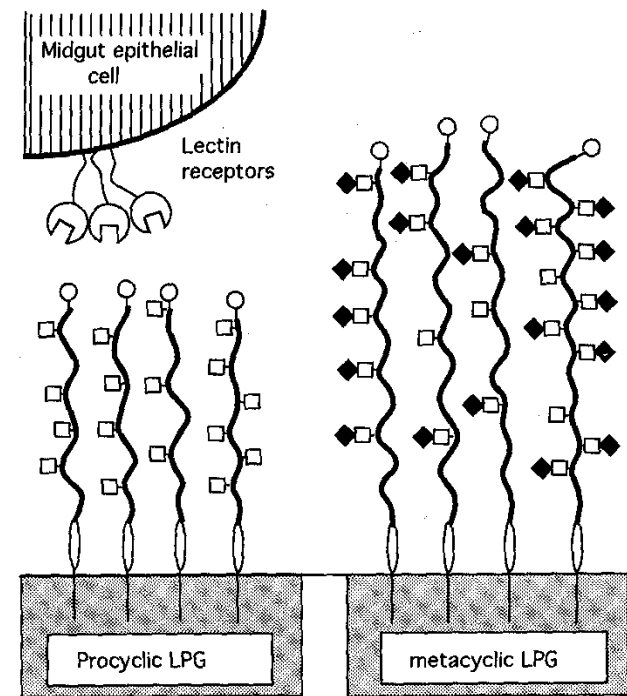
# SOBREVIVÊNCIA NO VETOR

Metaciclogênese: vários estágios

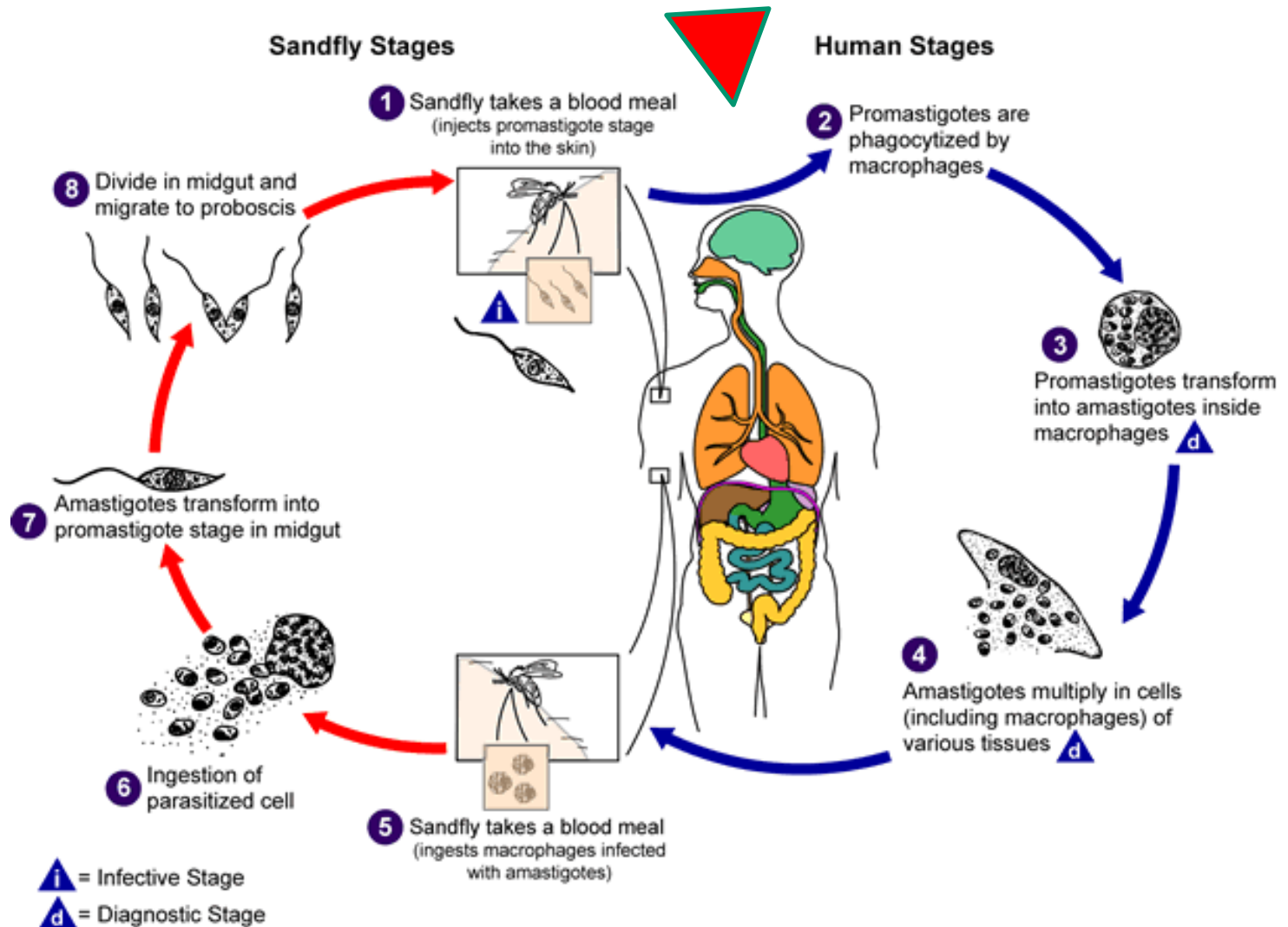
Parasita tem quitinase que rompe membrana peritrófica do intestino médio e permite fixação no intestino e posterior chegada à proboscide

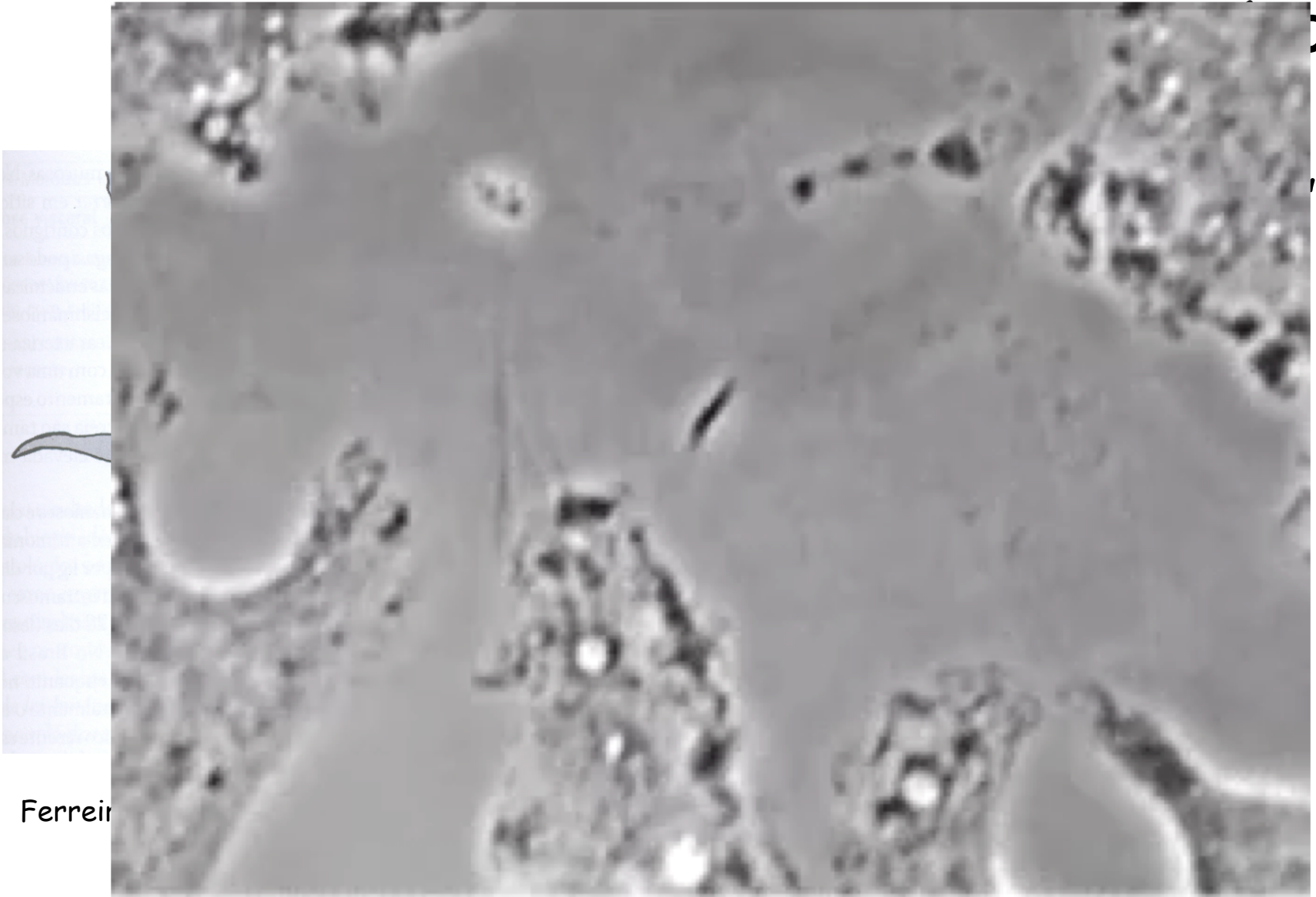
LPG de promastigotas:

- Adesão do parasita ao intestino
- Muda na metaciclogênese- perda adesão
- Diferenças entre espécies-competência vetorial (compatibilidade)



# CICLO





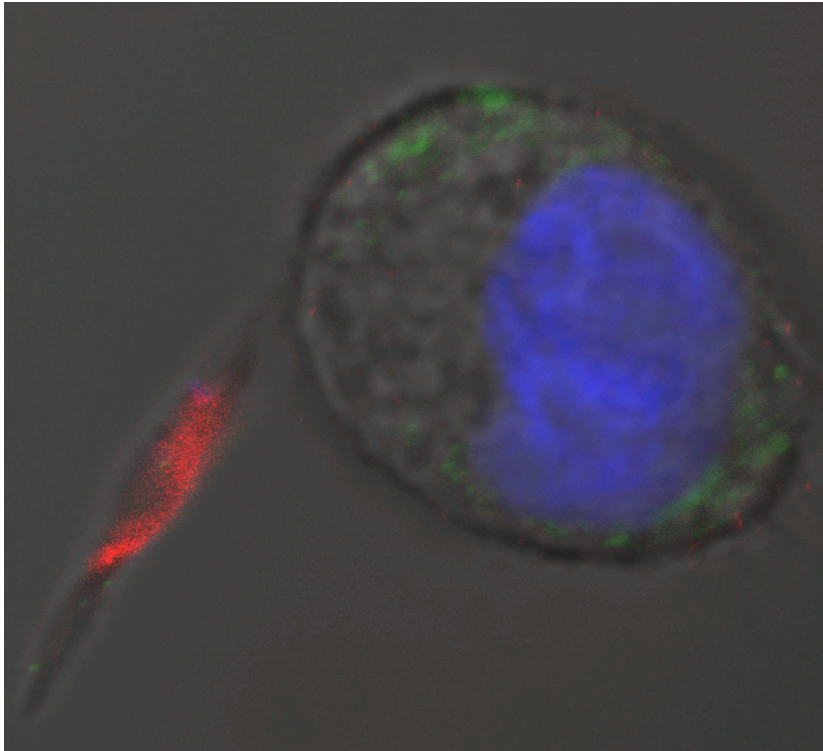
Ferrei

# SOBREVIVÊNCIA NO MACRÓFAGO

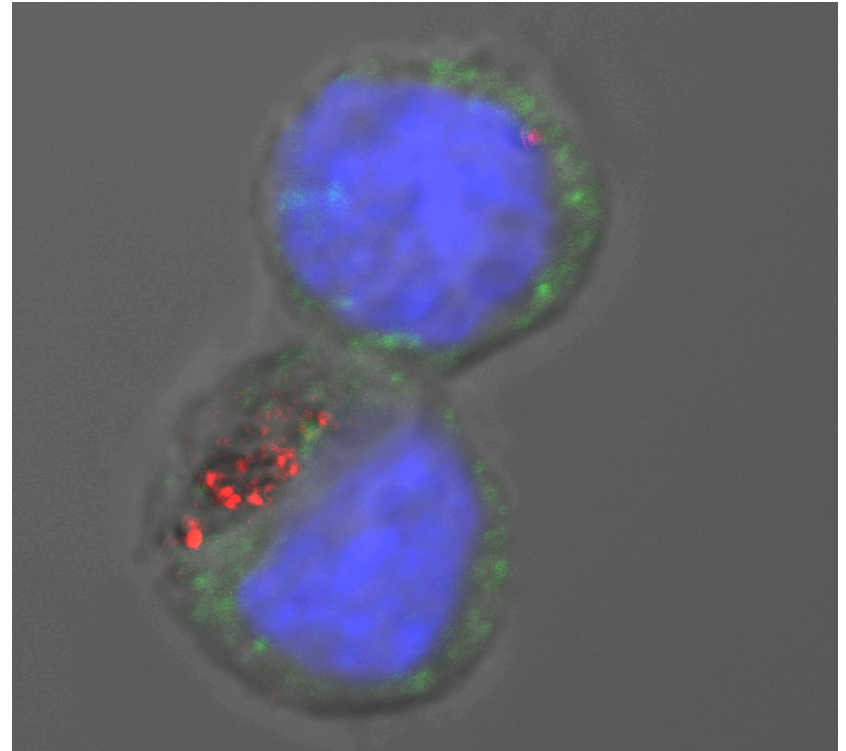
Após fagocitose (5 a 60min), promastigotas no vacúolo parasitóforo

Promastigotas → amastigotas

30min



4h



# Mecanismos de escape do Sistema Imune

Fagocitose silenciosa via receptor de complemento  
gp63 inativa complemento

Redução MHC II no macrófago

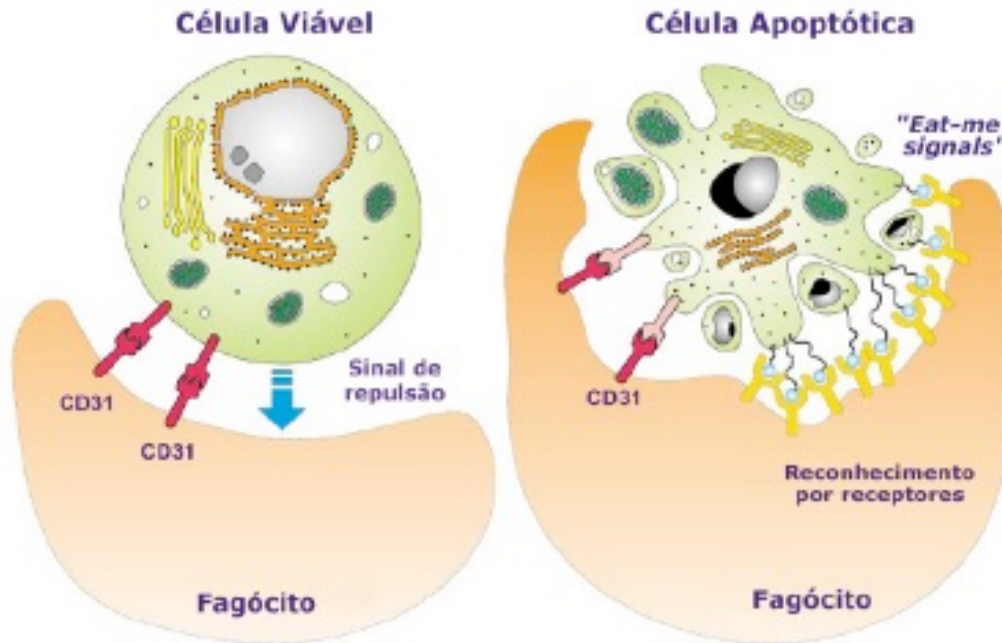
Uso de IL2, redução de IL1 e IFN $\gamma$

Leishmaniose **visceral**: imunossupressão- aumento IL10  
e TGF $\beta$ , redução IL12 e IFN $\gamma$

Apoptose e mimetismo apoptótico

Fagocitose por neutrófilos

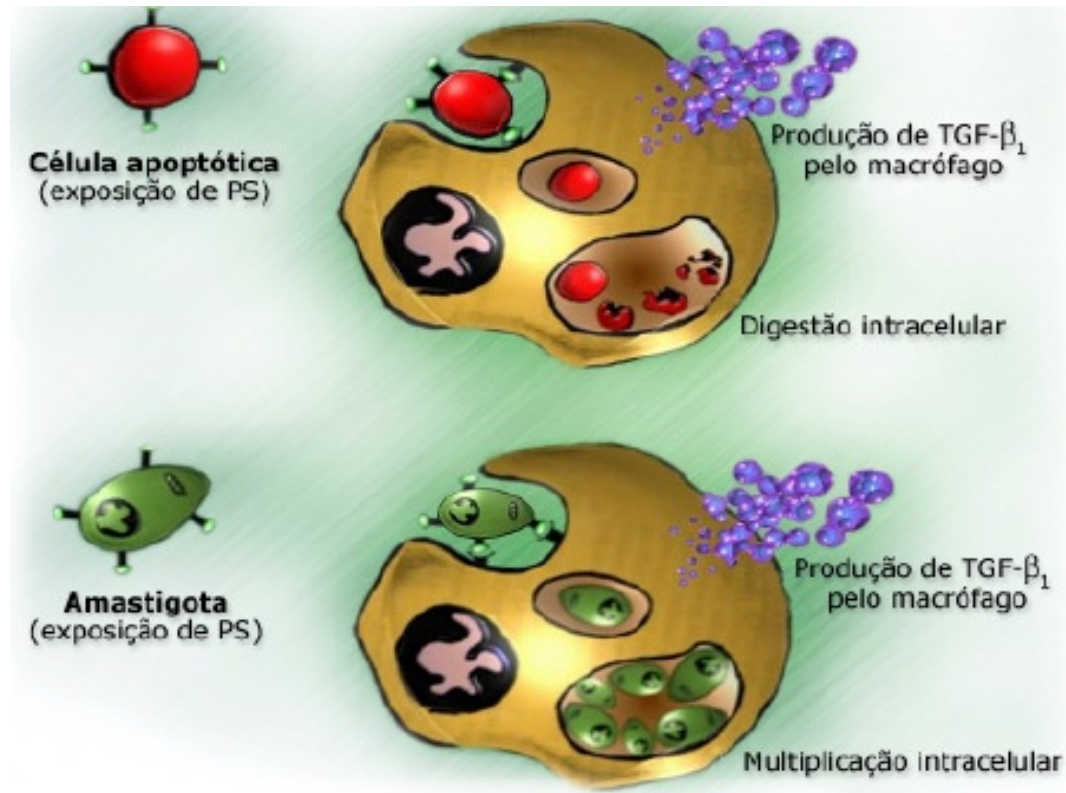
# "Apoptose" (promastigotas)



Modificado de Lauber *et al.*, 2004,  
Deolindo, 2008

Promastigotas apoptóticas "altruístas" induzem produção de  $TGF\beta$  e inativam macrófago

# “Mimetismo Apoptótico” (amastigotas)



Deolindo, 2008

Amastigotas expõem "PS" mas não morrem

# Neutrófilos e *Leishmania*: Cavalo de Tróia?

Cavalo= presente de Odisseu para selar a paz



Troia, 1200-1300 a.C. (10 anos)

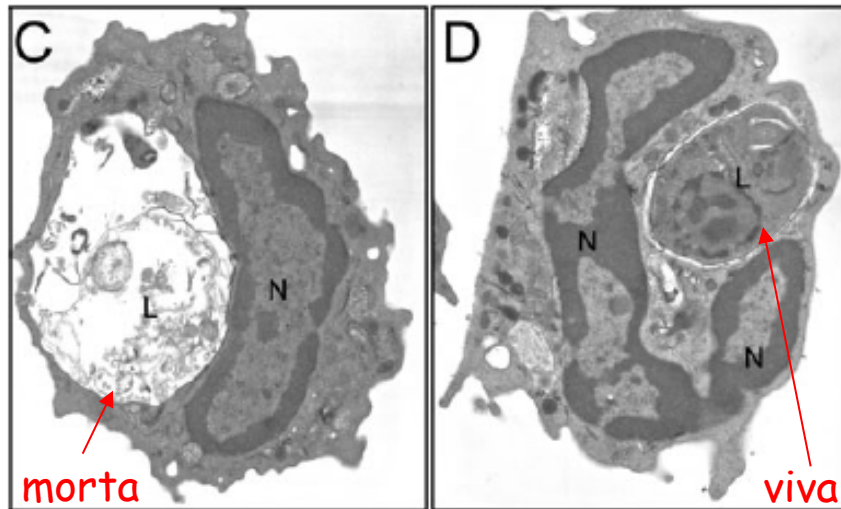


# Neutrófilos e *Leishmania*: Cavalo de Tróia?

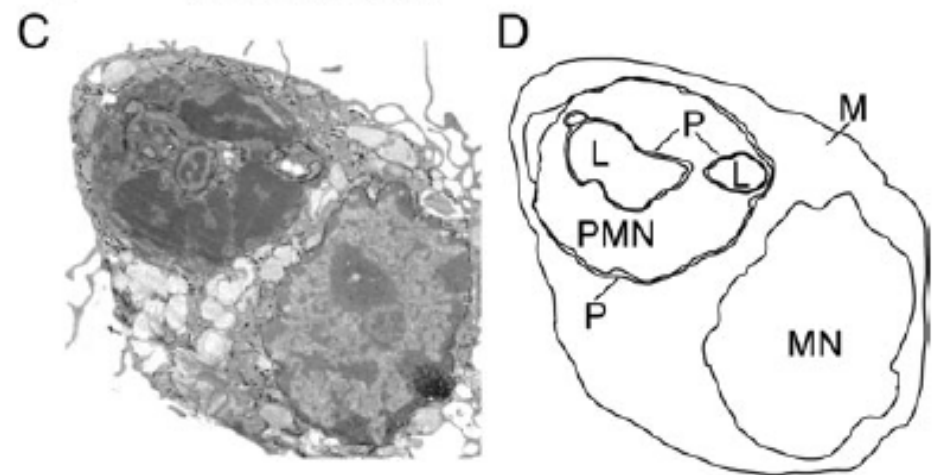
Rápido recrutamento de neutrófilos após inoculação (30min)

LPG inibe lise em alguns neutrófilos

Neutrófilos em apoptose (horas) são fagocitados por macrófagos



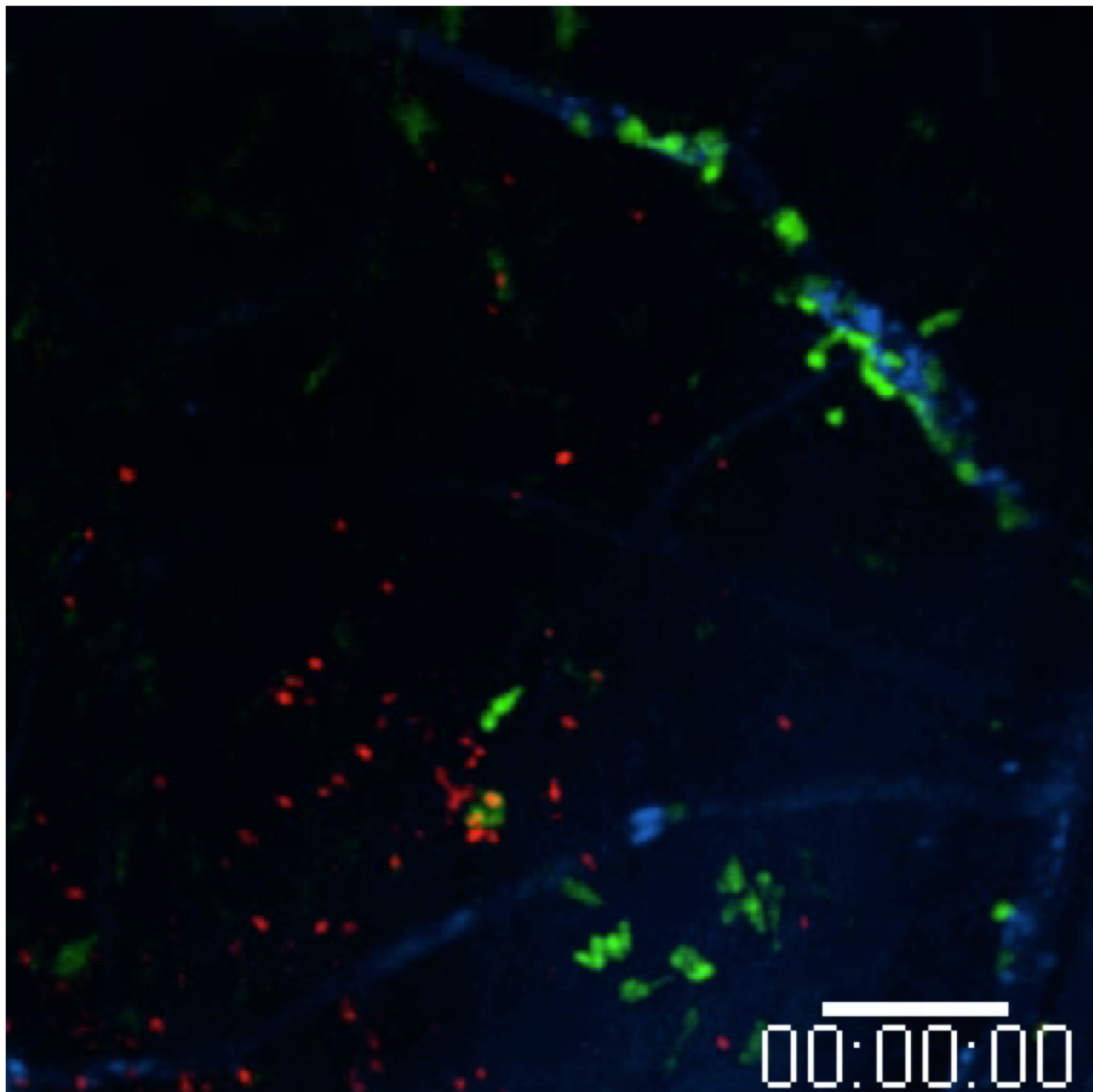
*Leishmania donovani* em neutrófilos



Macrófago fagocita neutrófilos com *L. donovani*

Gueirard *et al.*, 2008

Importância na infecção? Em quais spp?



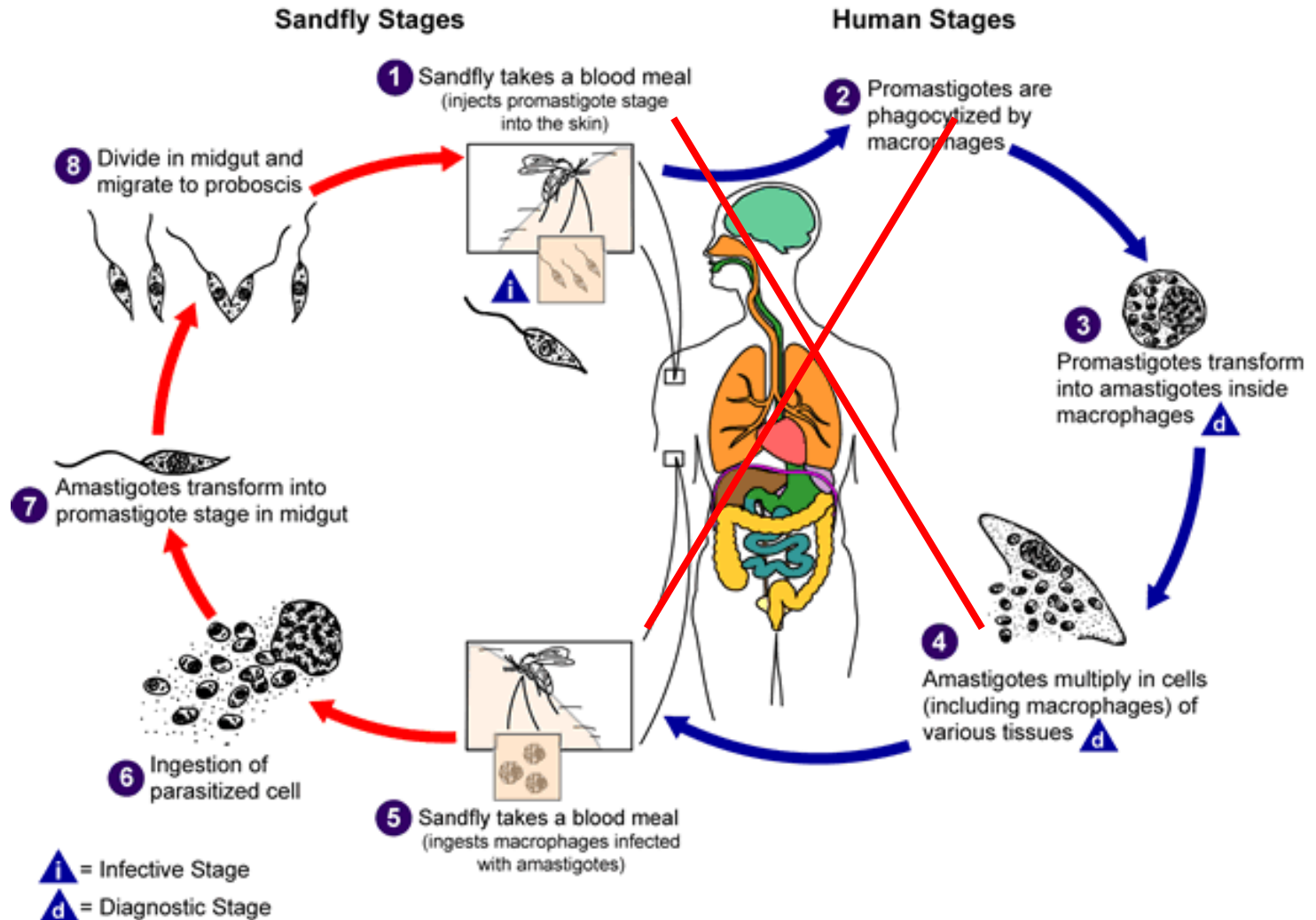
# TRANSMISSÃO DO PARASITA NA LEISHMANIOSE VISCERAL

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

Resistência a temperatura de 37°C- visceralização?

Homem: amastigotas em macrófagos de gânglios linfáticos, baço, fígado, medula óssea, raramente da pele (exceção: Índia, Sudão)

# CICLO



# RESERVATÓRIOS NA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR

Dependem do microambiente do vetor e da espécie de *Leishmania*

**Tegumentares** (cutâneas e mucocutâneas): roedores silvestres, cães, equinos



No Brasil:

*L.braziliensis*: cotias, pacas, roedores silvestres, ratos, cães e cavalos

*L.amazonensis*: marsupiais, pequenos roedores

# RESERVATÓRIOS NA LEISHMANIOSE VISCERAL

**Visceral:** canídeos (doença variável, 50% assintomáticos)  
Amastigotas em macrófagos da pele: importante para transmissão!

No Brasil:

*L. chagasi*: cães, raposas e provavelmente marsupiais



# PATOGENIA- Formas clínicas

## TEGUMENTAR

Cutânea localizada *L. V. braziliensis,*  
*L. L. amazonensis,*  
*L. V. guyanensis*  
*L. L. major*

Cutânea difusa *L. L. amazonensis*

Mucosa/mucocutânea *L. V. braziliensis*

VISCERAL *L. L. chagasi, L. L. donovani*

## Quadro clínico- forma cutânea localizada

- L. (V.) braziliensis*
- L. (L.) amazonensis*
- L. (V.) guyanensis*



2-8 sem após infecção

Lesões únicas ou limitadas, úlceras com bordas elevadas



## Quadro clínico- forma cutânea difusa

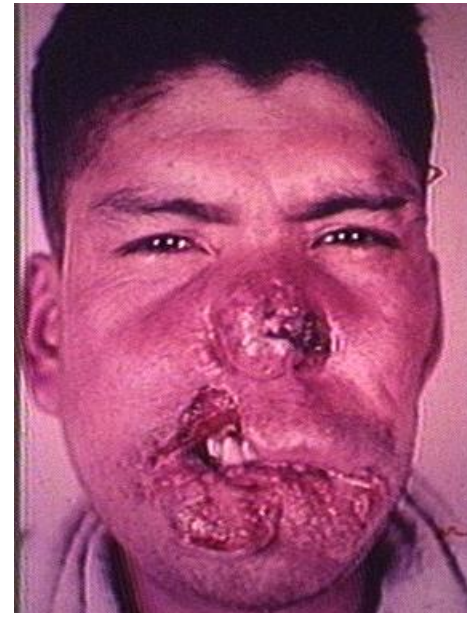
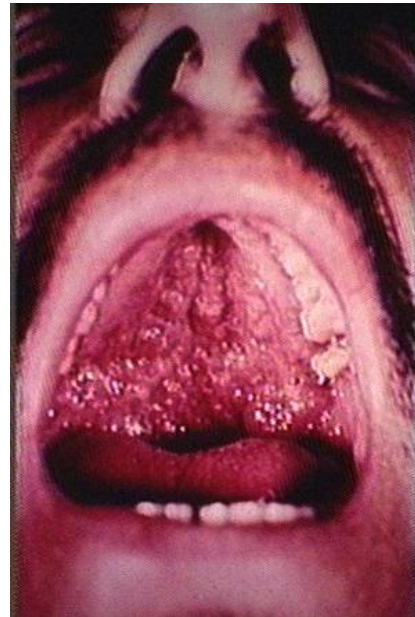
*L. (L.) amazonensis*



- Anergia da resposta imune-paciente não responde à *Leishmania* (RID -)
- Múltiplas lesões nodulares disseminadas (lepra branca)
- Difícil tratamento
- Rara (5% dos pacientes com *L. amazonensis*)

# Quadro clínico- forma mucosa

*L. (V.) braziliensis*



- Doença crônica
- Morbidade e estigma social
- Tratamento prolongado e tóxico.



Figura pré-colombiana (séc I AC)  
mostrando os efeitos do "huaco"



# Quadro clínico-forma visceral (calazar)

## *L. (L.) chagasi*

No Brasil crianças são grupo de risco

Infecção sistema FM baço, fígado, tecidos linfóides e medula óssea

Febre irregular, perda de peso, aumento de baço e fígado e anemia. Pele cinza (Índia)= calazar (febre negra)

- Período de incubação: 2 a 6 meses
- Assintomáticos em proporções variáveis



# DIAGNÓSTICO

## Parasitológico

Histopatologia ou citologia:  
escarificação/aspirados/biópsias de lesão ou  
medula óssea/linfonodos

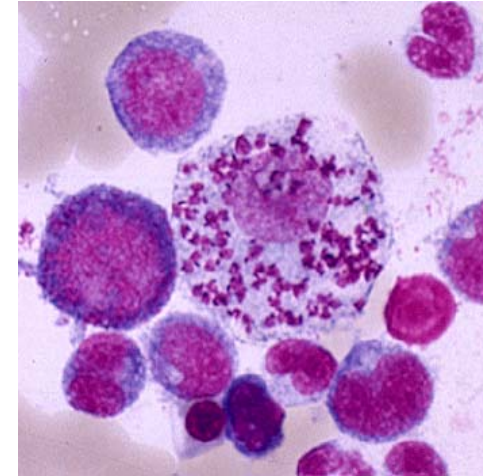
Altamente específico e baixo custo, mas  
baixa sensibilidade

## Imunológico

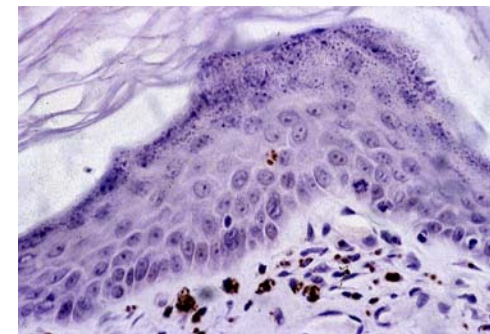
**ELISA**- muito sensível, pouco específico

**DAT** (=aglutinação direta)

**Reação intradérmica**= Resposta celular  
(hipersensibilidade tardia)



Medula óssea de cão (Wright-Leishman stain)



Pele de cão (imunohistoquímica)

# DIAGNÓSTICO



## Tegumentar:

Parasita na lesão (escarificação, aspiração, biópsia)

Baixa sensibilidade, cultivo ou inoculação em animal

Reação intradérmica = Teste de Montenegro (1926)-48h

## Visceral:

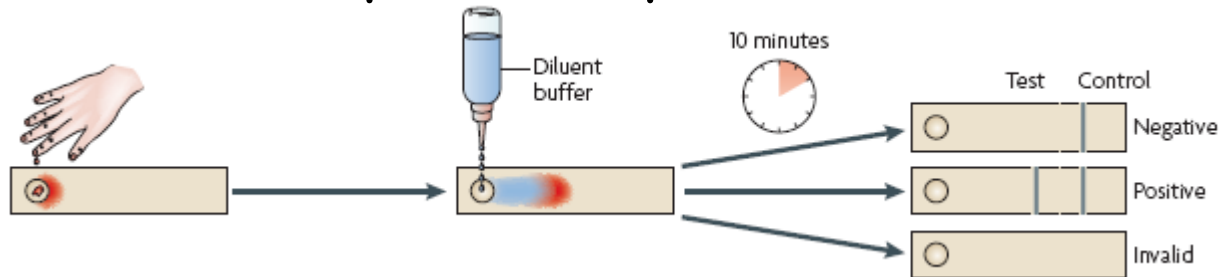
Punção de baço, fígado, medula óssea (cultivo)- risco

Sorologia imprecisa: boa sensibilidade, má especificidade (reação cruzada) e positividade após cura

Teste Montenegro negativo (positivo após cura)

# DIAGNÓSTICO leishmaniose visceral

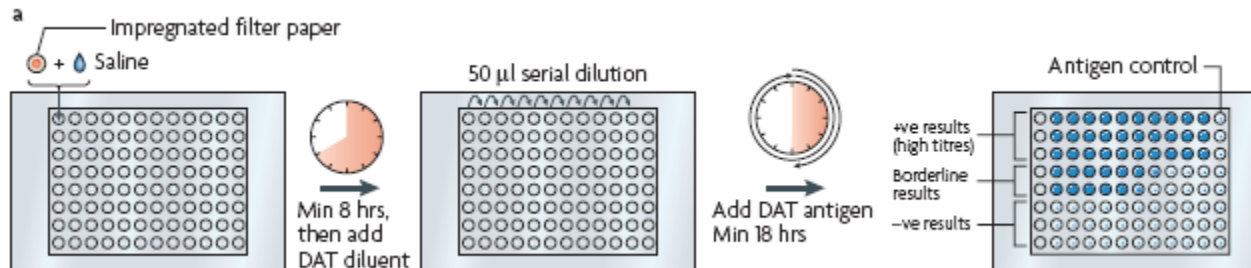
## rK39 strip test- dipstick (ELISA)



K39=kinesin-related protein

## DAT: aglutinação direta

Incubação de diluições do soro do paciente com antígeno parasitas ligados a hemácias: aglutinação visível



# TRATAMENTO

## 1. Antimoniais pentavalentes (Gaspar Vianna, 1913)

-Intravenosos ou intramusculares, tóxicos, hospitalização

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

Bloqueiam quinases da glicólise + outros mecanismos

Frequente resistência na Índia, alguma em outros países

## 2. Anfotericina B: intravenosa, tóxica, hospitalização

• Liposomal (AmBisome®): melhor mas caro (US\$ 2800/tto)

-Interage com ergosterol da membrana do parasita,

tornando-a permeável a íons e pequenas moléculas.

Pouca/nenhuma resistência



### 3. Pentamidina:

-Intravenosa, tóxica

-Altera a estrutura do cinetoplasto e síntese de DNA, RNA, fosfolípidios e proteínas

Resistência na Índia

**Miltefosina:** primeira droga oral, cara (US\$200) e teratogênica (proibida para gestantes). Desde 2002 Bom na Índia, pior nas Américas. Resistência

Tratamento local com drogas ou aquecimento para espécies mais "brandas" (velho mundo)

#### **Tratamentos disponíveis:**

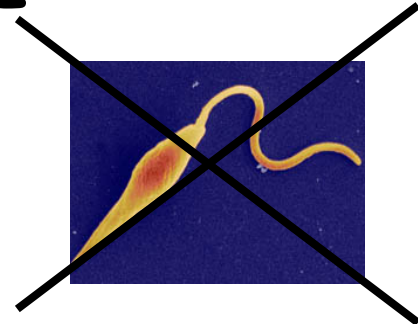
Difícil administração, longo, tóxico, caro, resistência

≠

#### **Tratamento ideal:**

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

# PERSPECTIVAS DE CONTROLE



1-Vetor? Doméstico x Silvestre

Índia: hábitos domésticos (DDT eficaz 1950)

2-Reservatório? Doméstico x Silvestre

Tratamento de cães - Problemas: diagnóstico, reinfecção e sacrifício

Animais silvestres???

3- Tratamento interfere no controle para LT mas não necessariamente para LV:

Reservatório → Vetor → Homem (exceção: Índia e Sudão)

4-Mudança de hábitos/habitações, reduzir desmatamento

# VACINAS EM CÃES



Particular:

Leish-Tec® = Vacina Recombinante contra Leishmaniose Visceral Canina

Animais soronegativos, preventiva

No mercado desde 2007, única disponível no momento, eficácia controversa (96% ?)

Associar com controle por uso de coleiras impregnadas com deltametrina a 4% e hábitos preventivos

# NEGLIGENCIADOS!



Kabul- rejeição