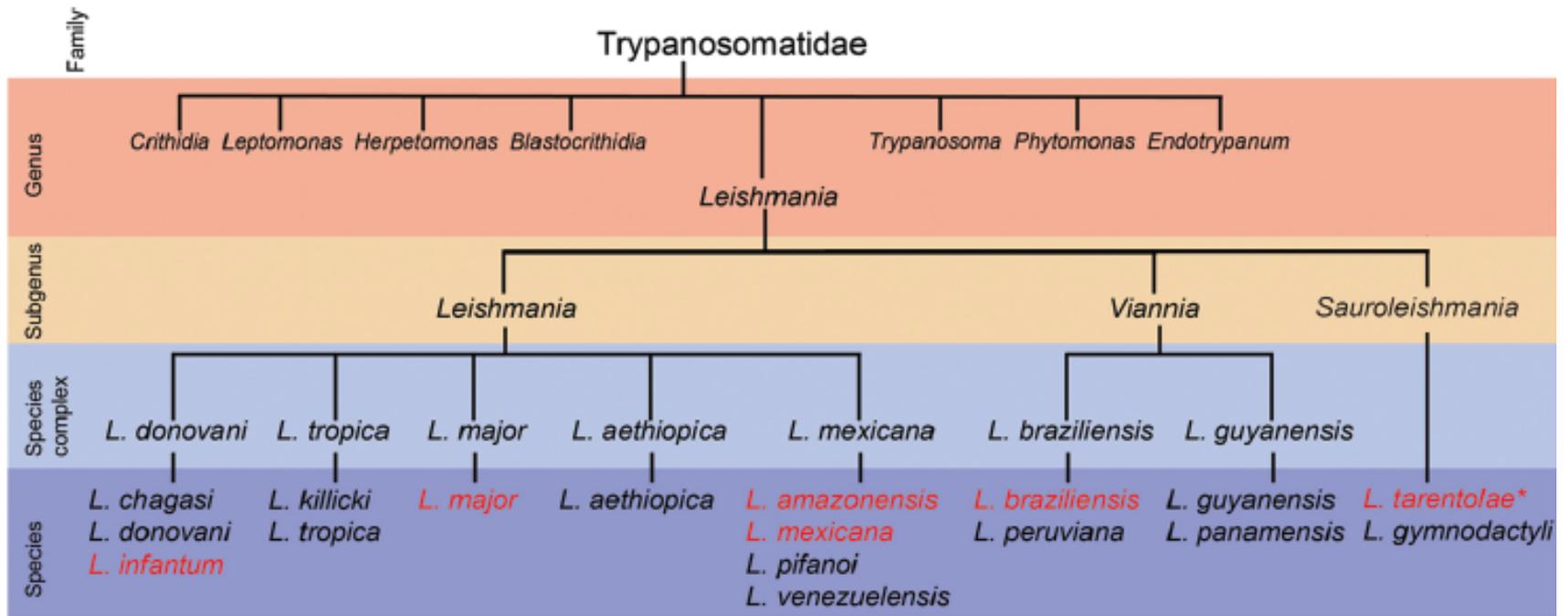


LEISHMANIOSES



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

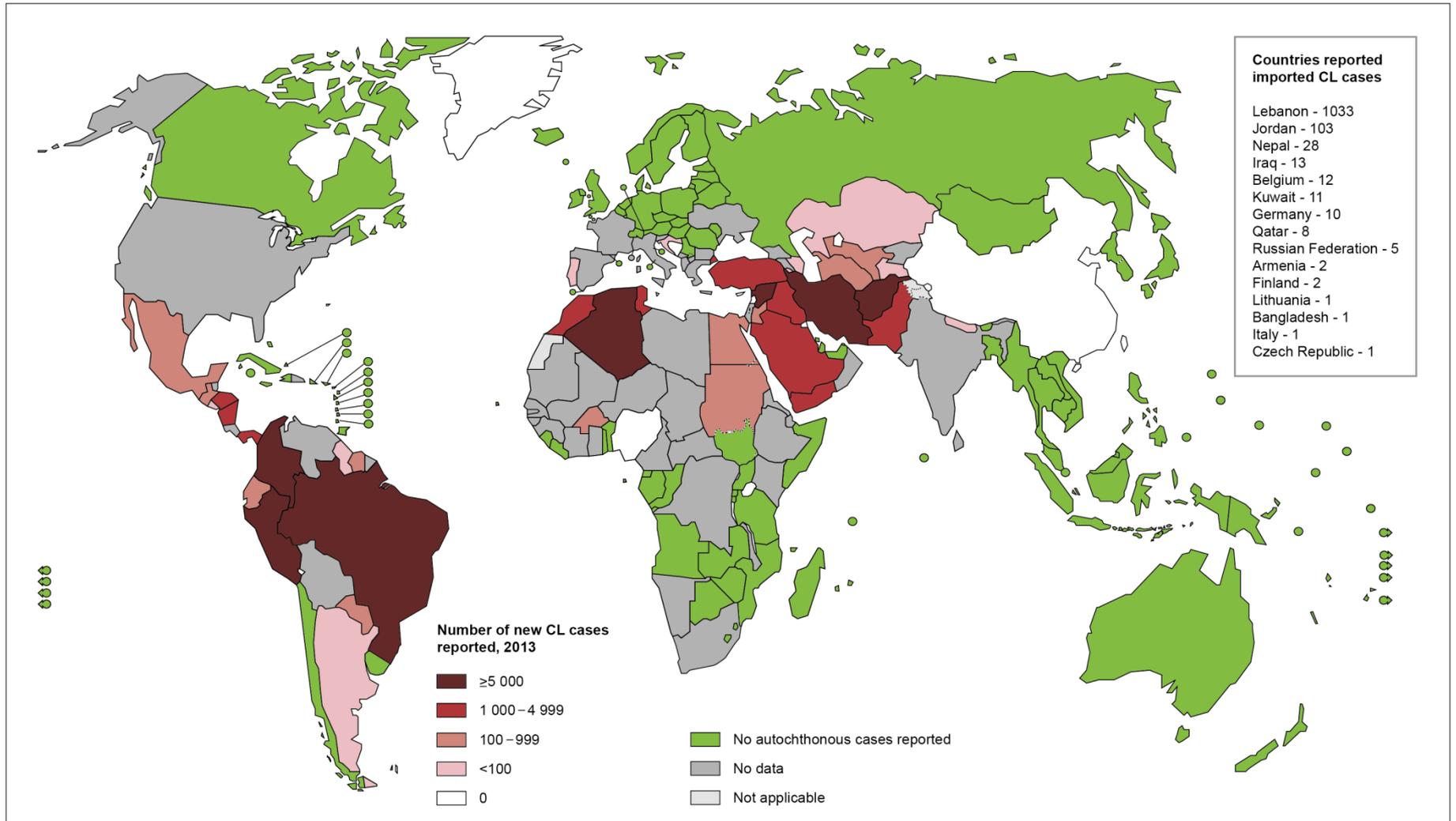
Cutânea localizada *L. V. braziliensis*
 L. L. amazonensis
 L. V. guyanensis
 L. L. major

Cutânea difusa *L. L. amazonensis*

Mucosa/mucocutânea *L. V. braziliensis*

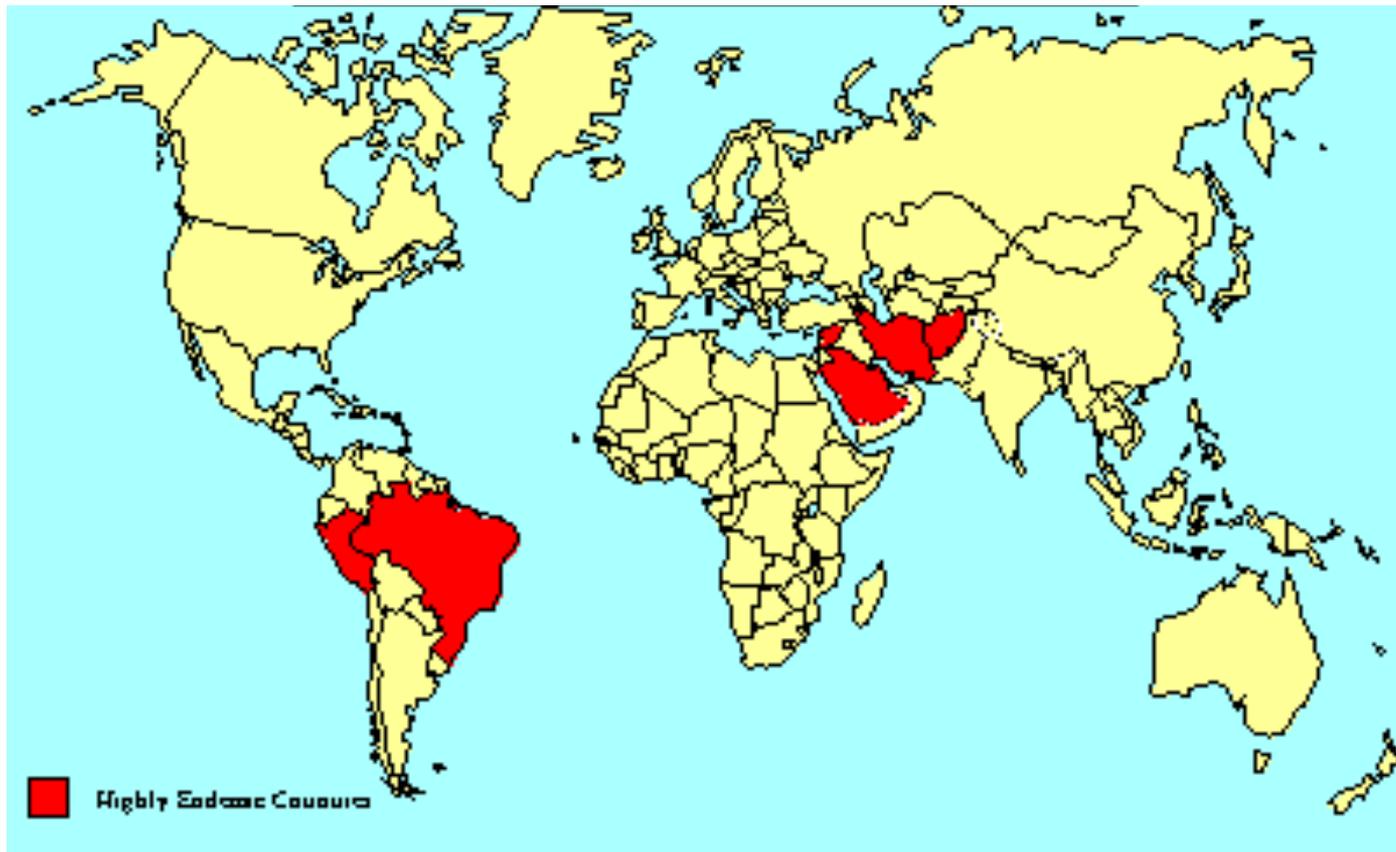
VISCERAL *L. L. chagasi, L. L. donovani*

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

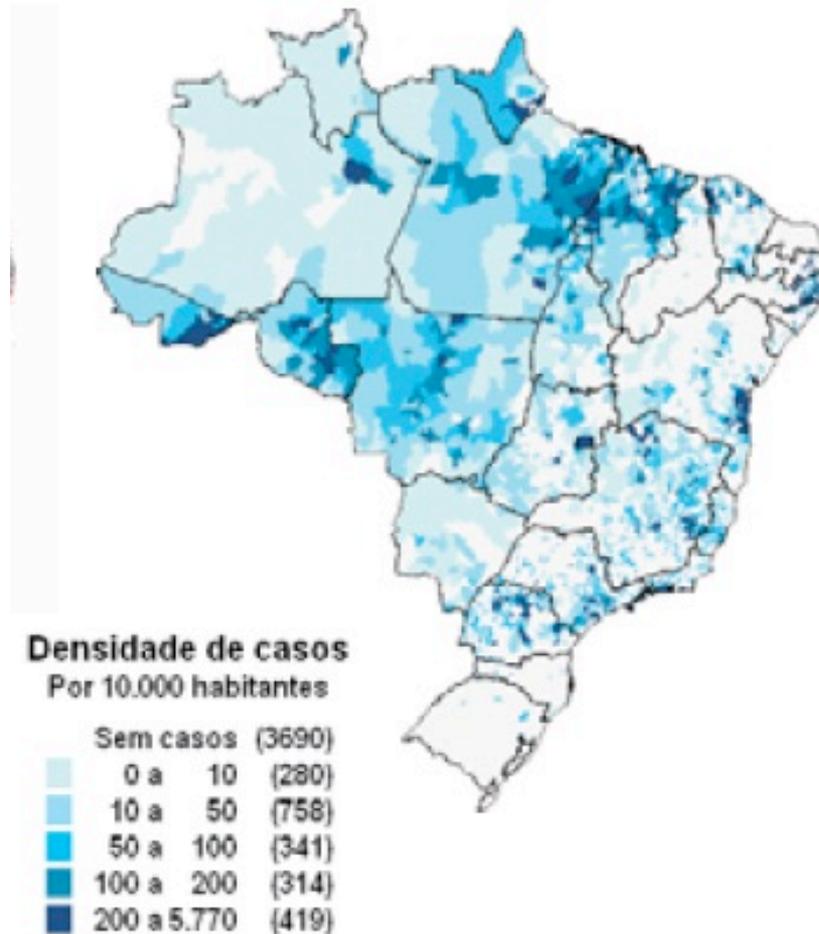
Leishmaniose Tegumentar no Brasil: 72.800-119.600 casos/ano

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

¹Underreporting 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:

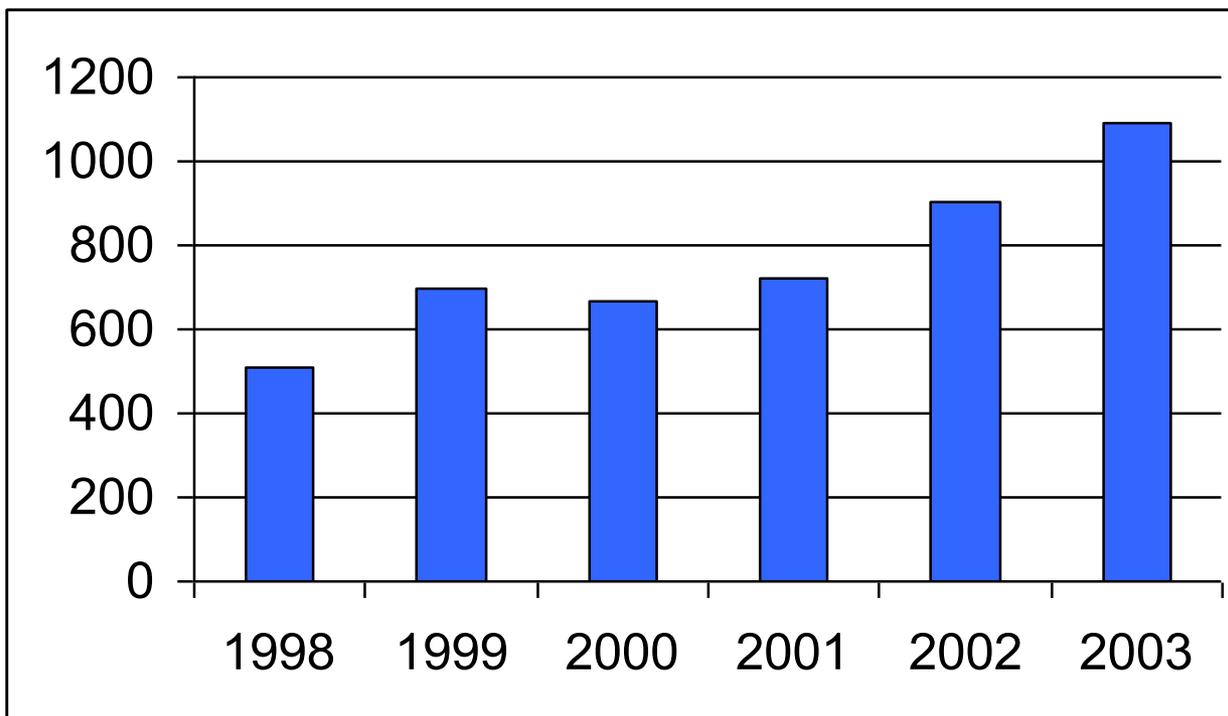
Leishmania (V.) braziliensis, *L.(L.) amazonensis*



Fonte: SVS/MS

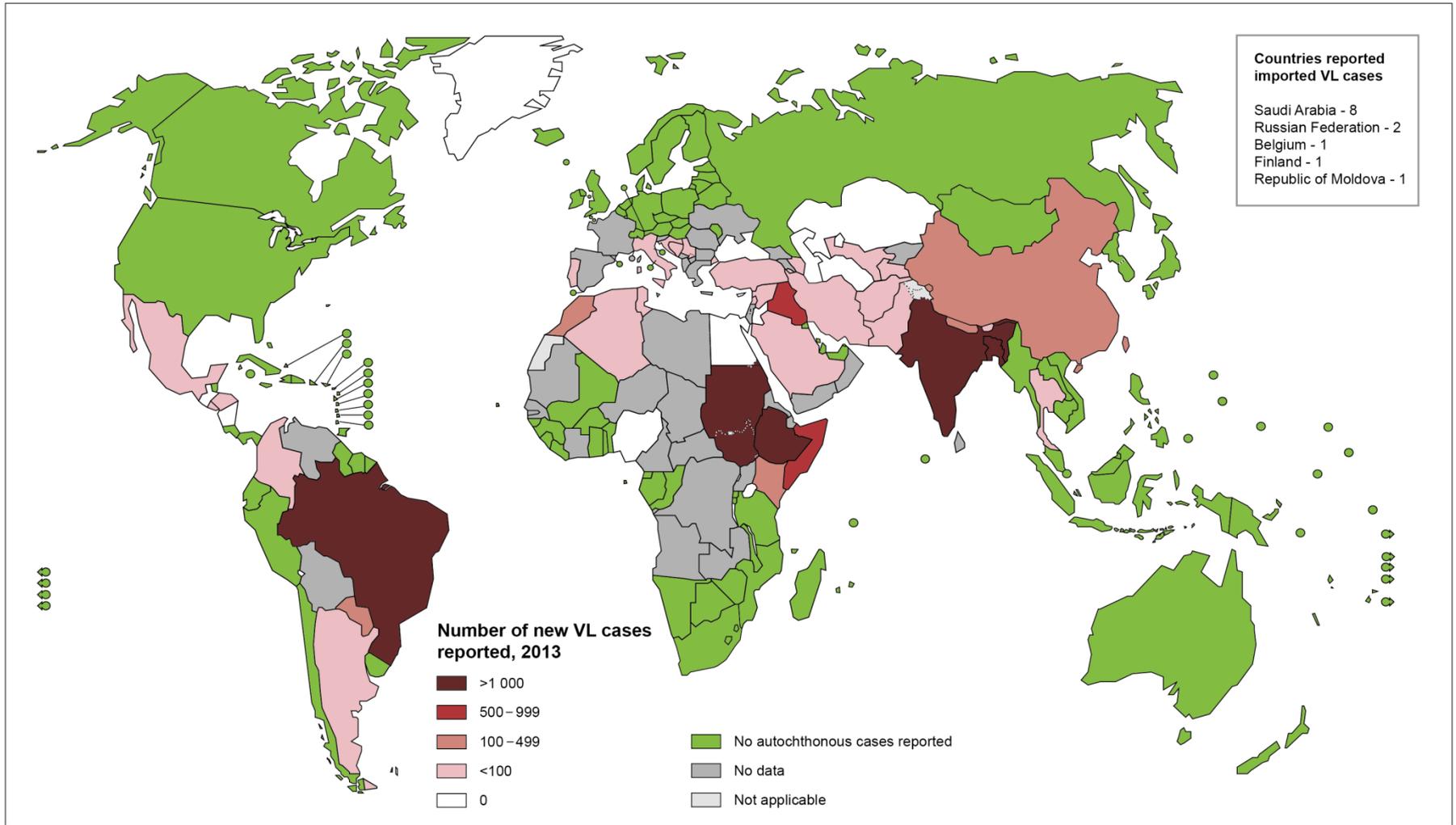
2005

Leishmaniose cutânea - Estado de SP



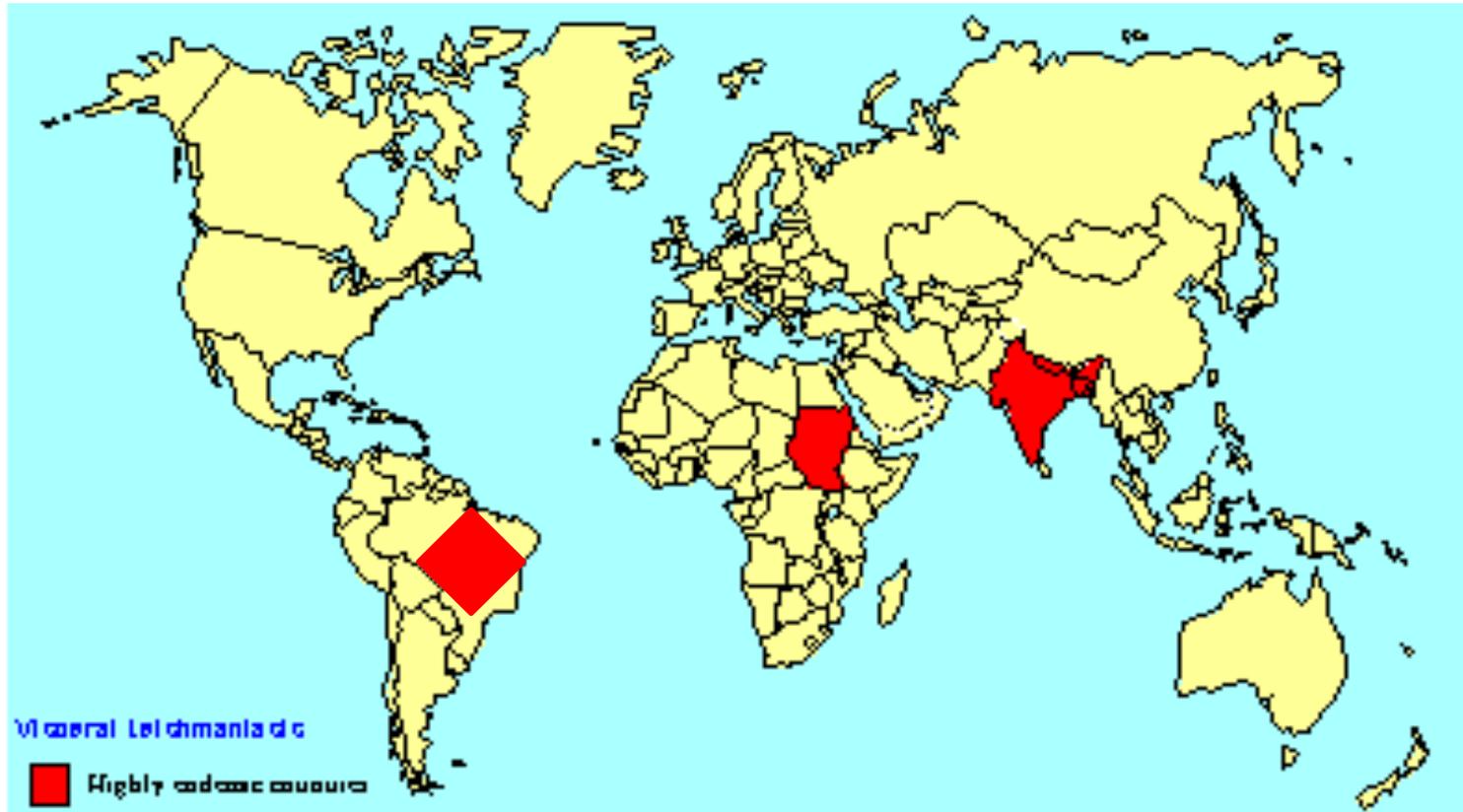
SUCEM

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.

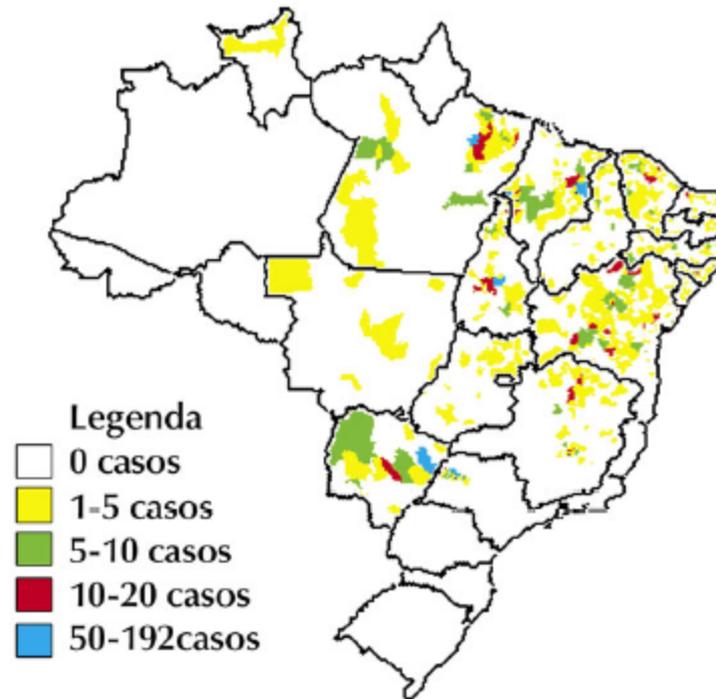
	Reported VL cases/year	Years of report	Estimated annual VL incidence		
Argentina	8	2004–2008	20	to	30 ¹
Bolivia	0	2008			
Brazil	<u>3481</u>	2003–2007	<u>4200</u>	to	<u>6300</u> ²
Colombia	60	2004–2008	70	to	110 ²
El Salvador		no data			
Guatemala	15	2004–2008	20	to	30 ²
Honduras	6	2004–2008	7	to	10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

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

²Underreporting 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

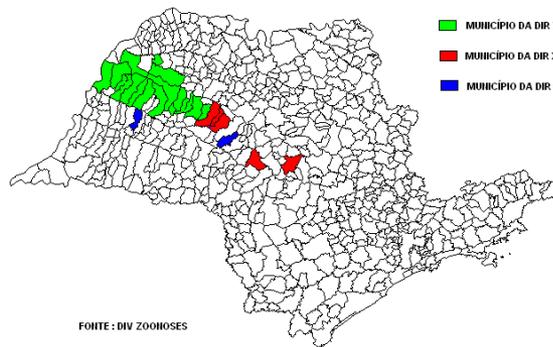
Municípios da DIR VI
Municípios da DIR X



Fonte: Div. de Zoonoses

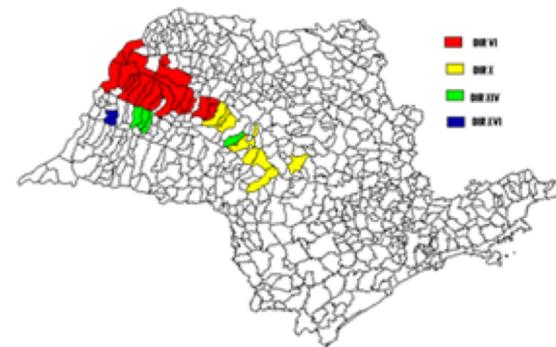
2004

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



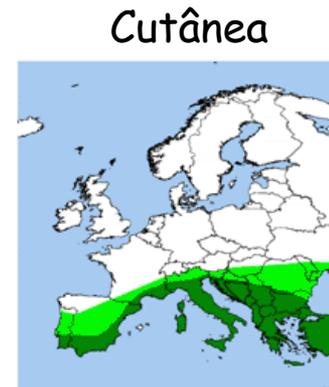
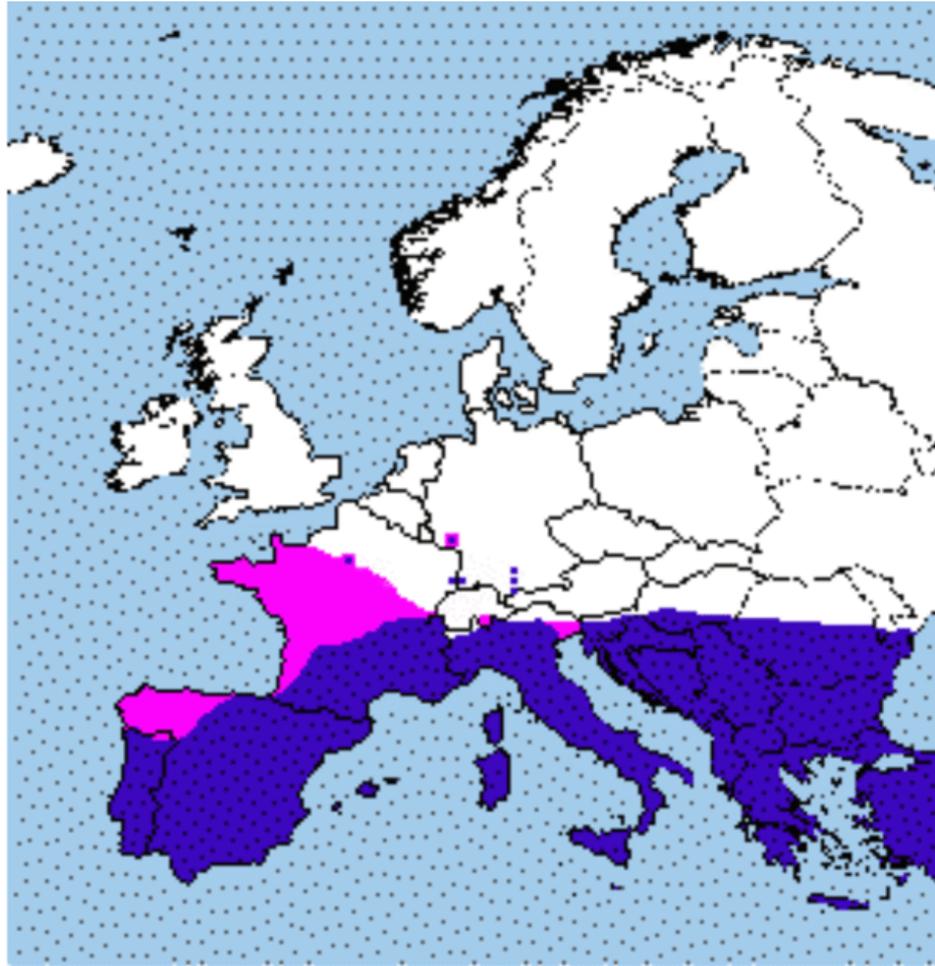
FORNTE : DIV ZOOIHOSES

2006



FORNTE: DIV. ZOOIHOSES / JEMC

Leishmaniose Visceral na Europa



Blue = distribution of visceral leishmaniasis

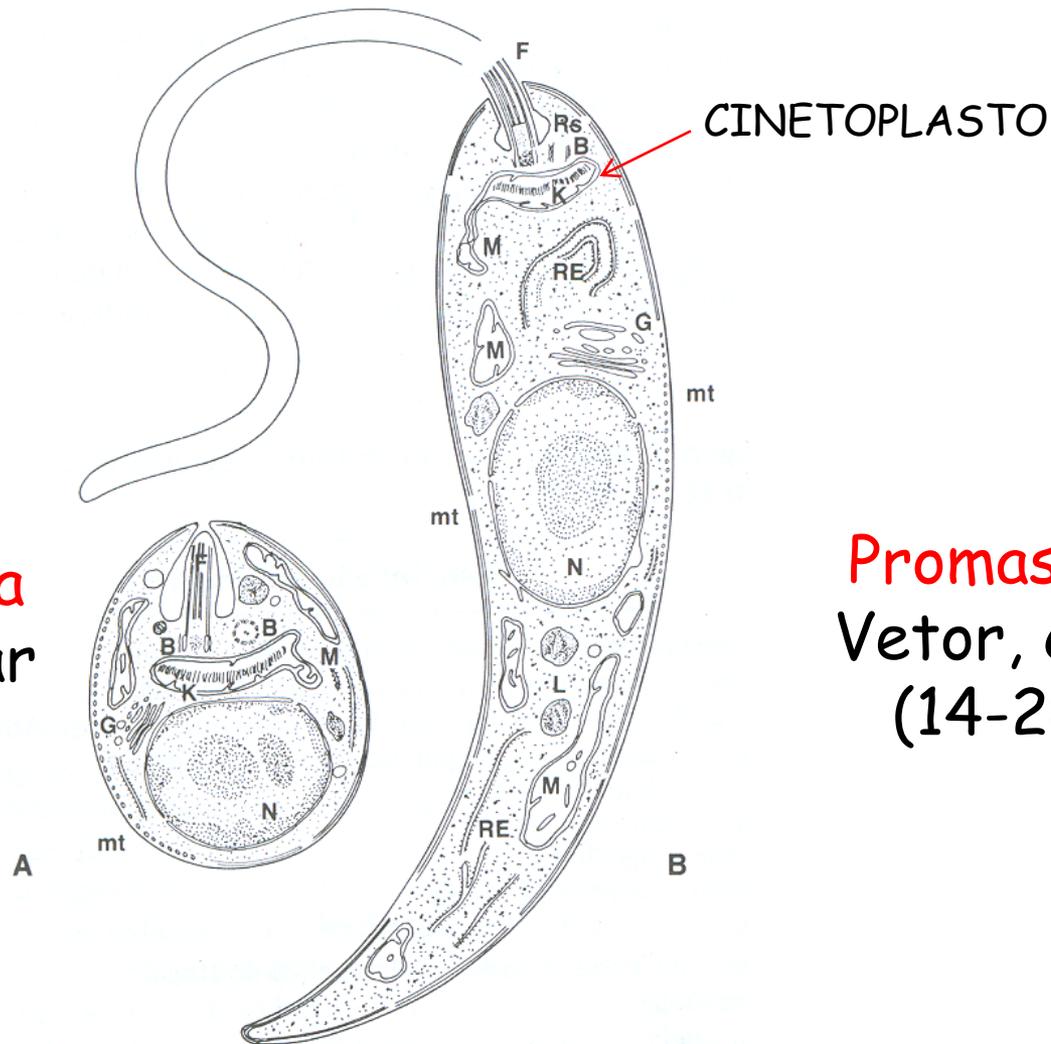
Red = distribution of the visceral leishmaniasis vector sandflies

Dark green = distribution of cutaneous leishmaniasis

Light green = distribution of cutaneous leishmaniasis vector sandflies

FORMAS DO PARASITA

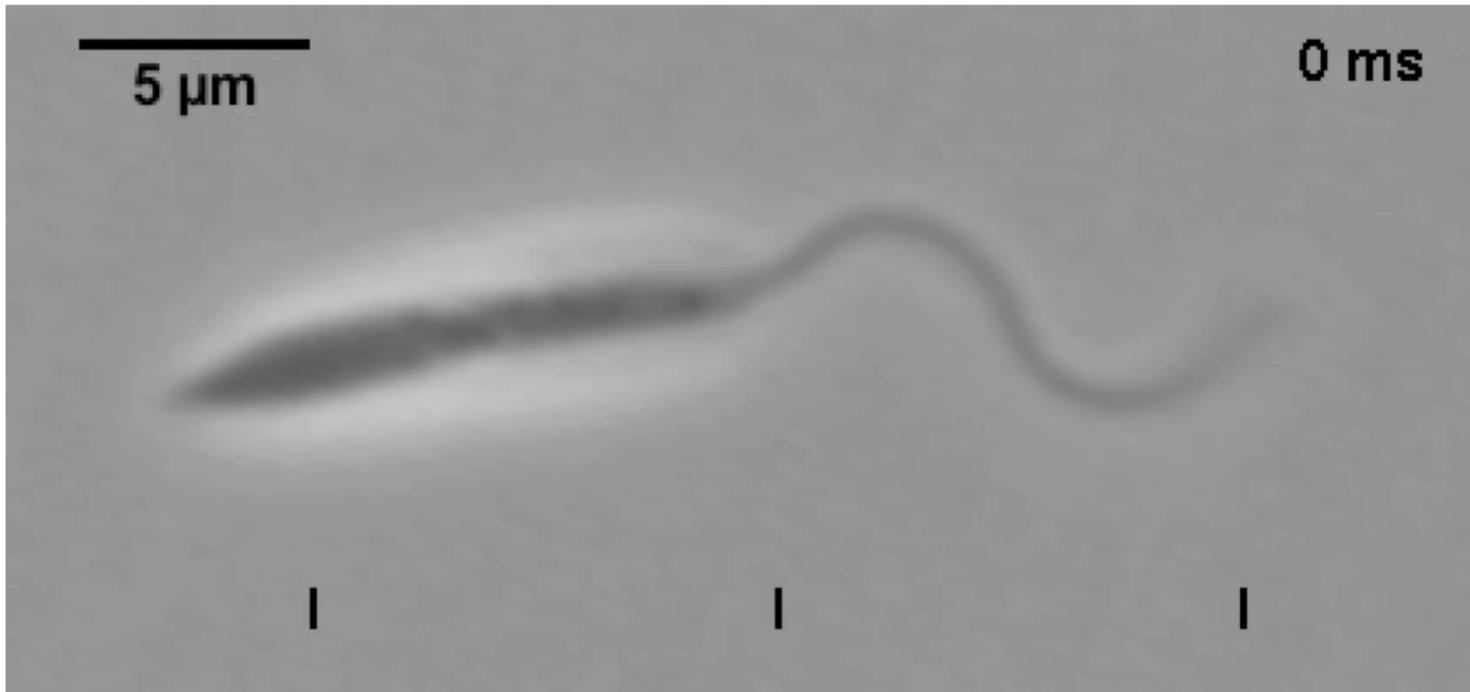
Amastigota
Intracelular
(2-6um)



Promastigota
Vetor, cultura
(14-20um)

Bactéria~0,5um, linfócito ~ 12um

Promastigota



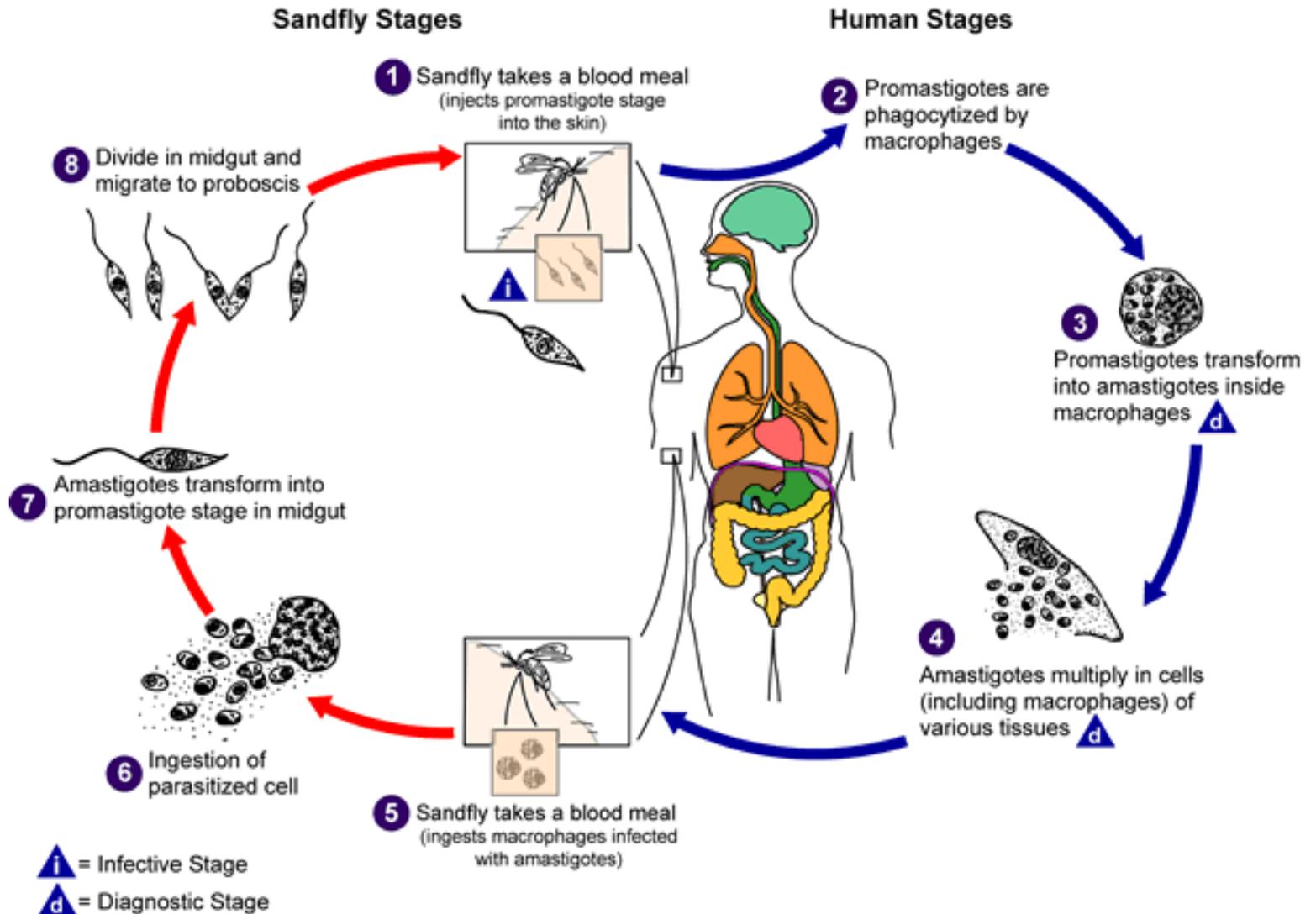
Reprodução por fissão binária no inseto vetor
Forma invasiva: promastigota metacíclico

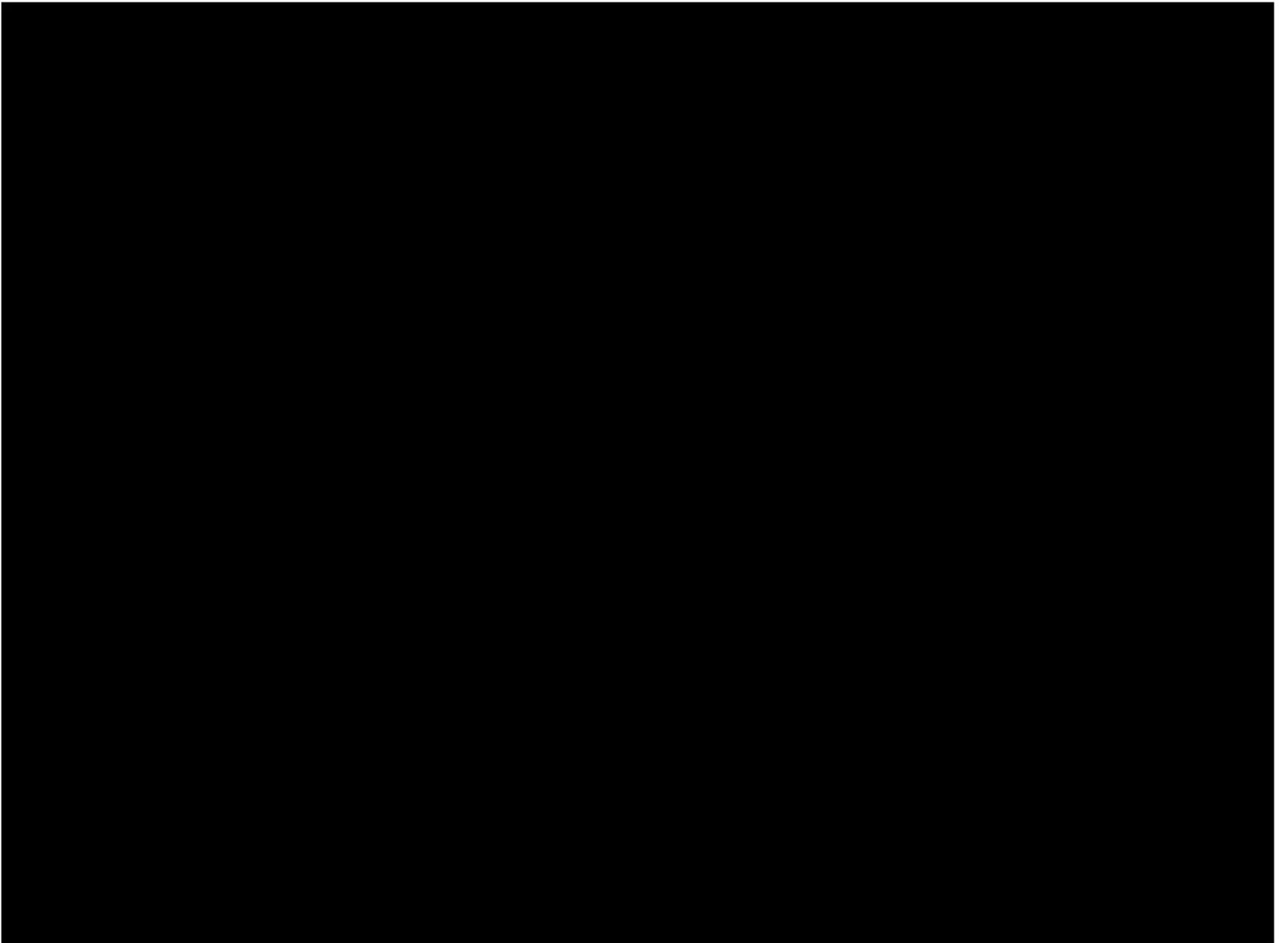
Amastigota

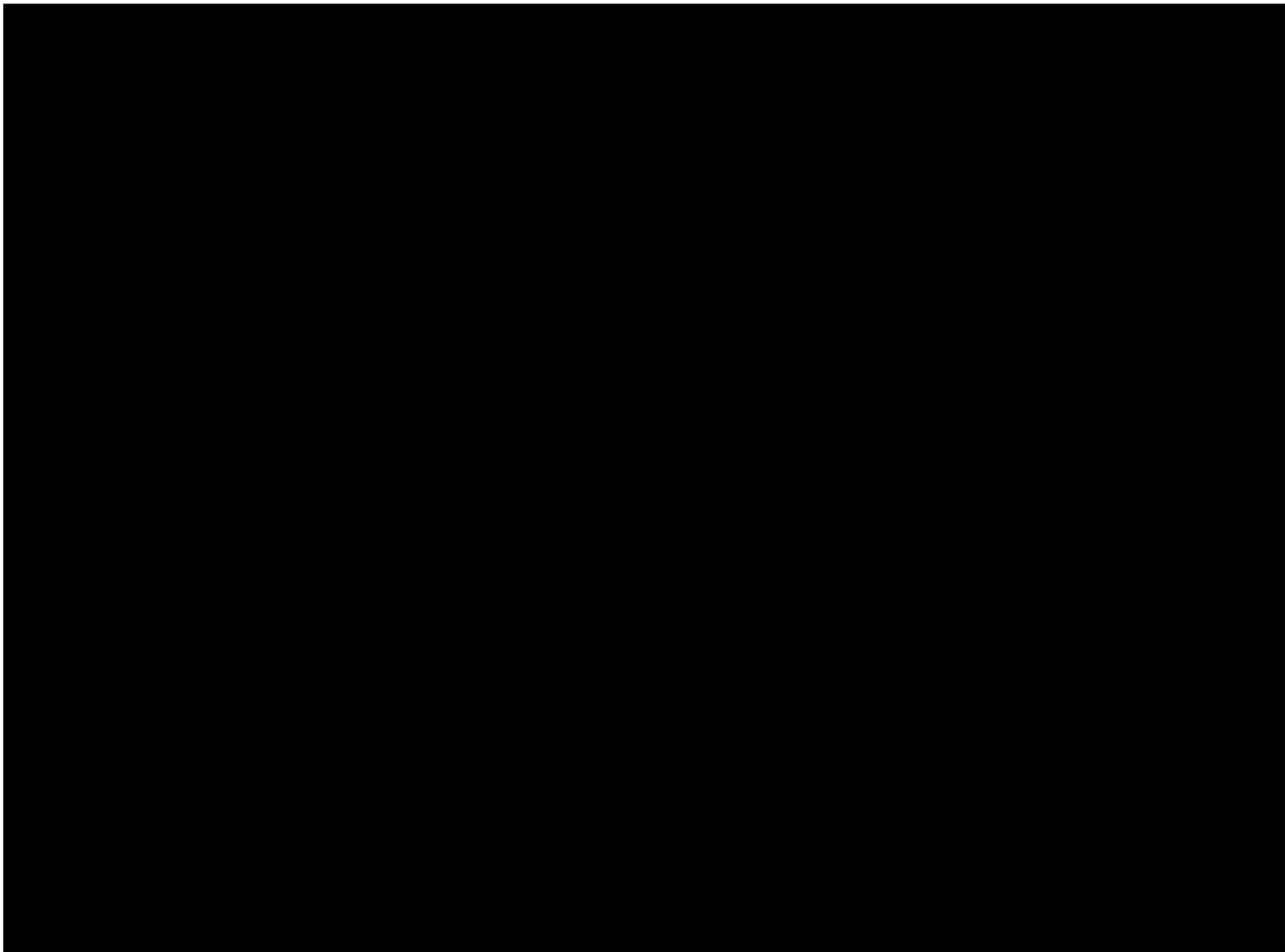
Fagocitado por células do sistema mononuclear fagocítico:
macrófagos, neutrófilos, células dendríticas
Reprodução por fissão binária



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)

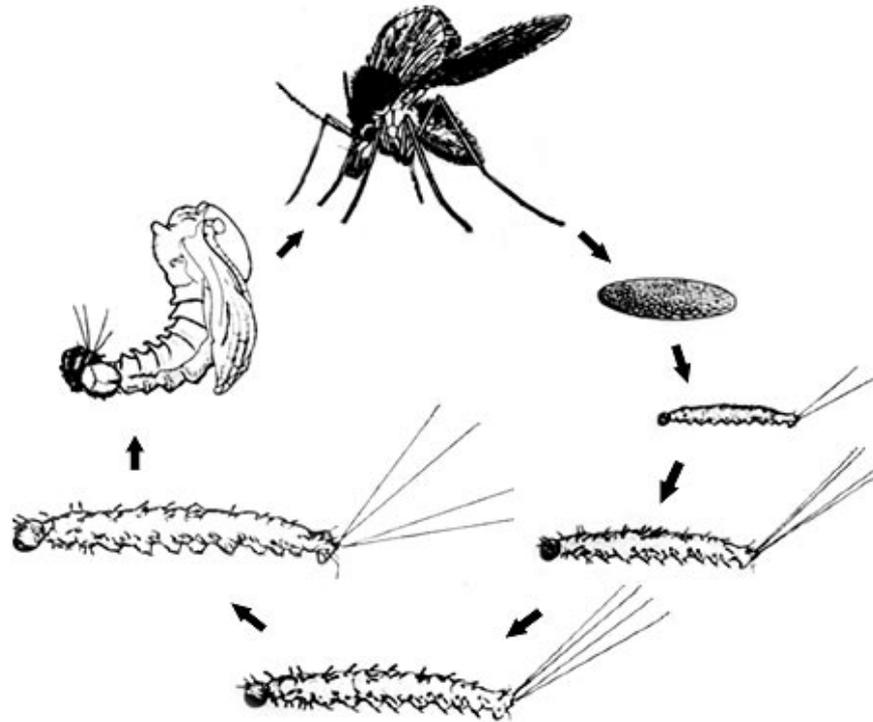
Asas em V

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

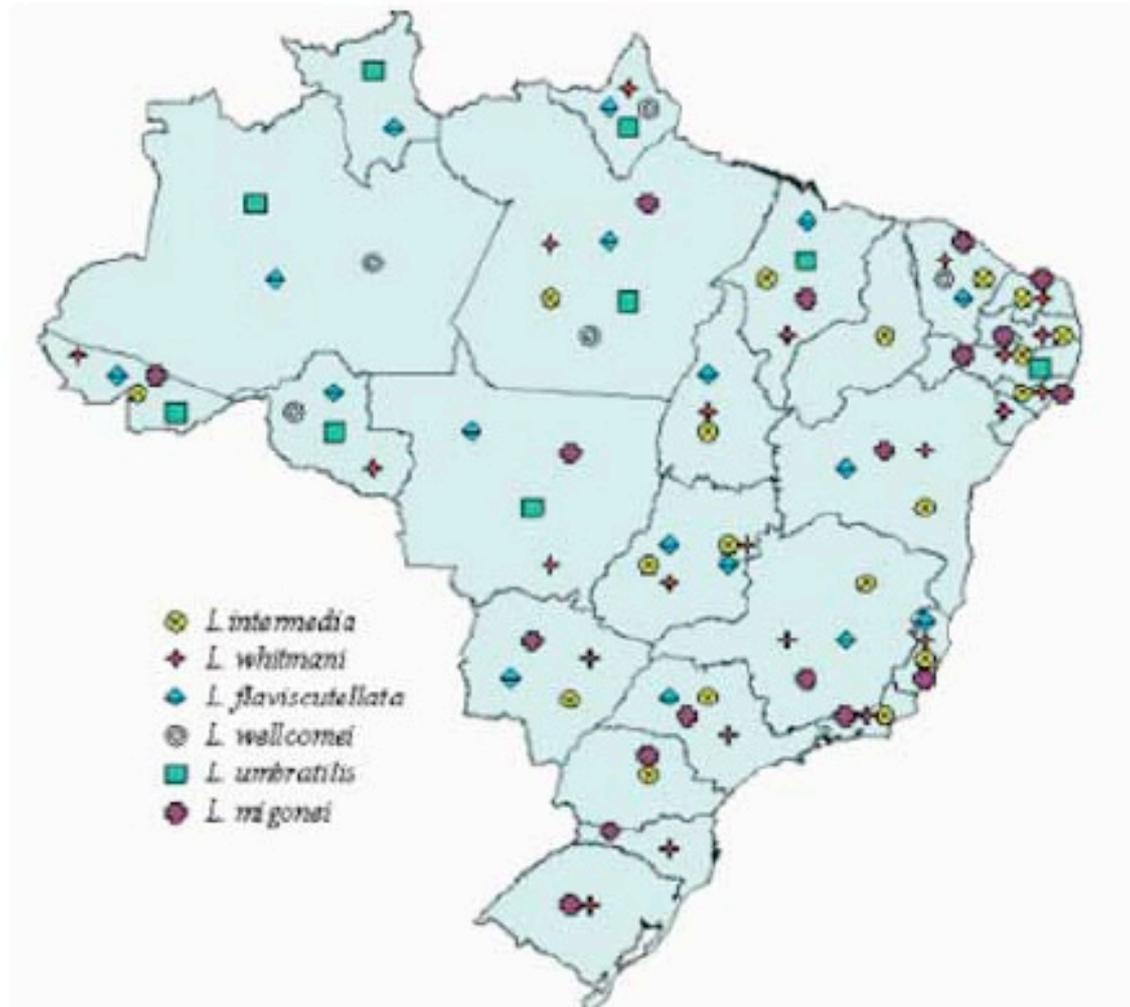
Difícil encontrar locais de desova, larvas e pupas: difícil controle!

VETORES



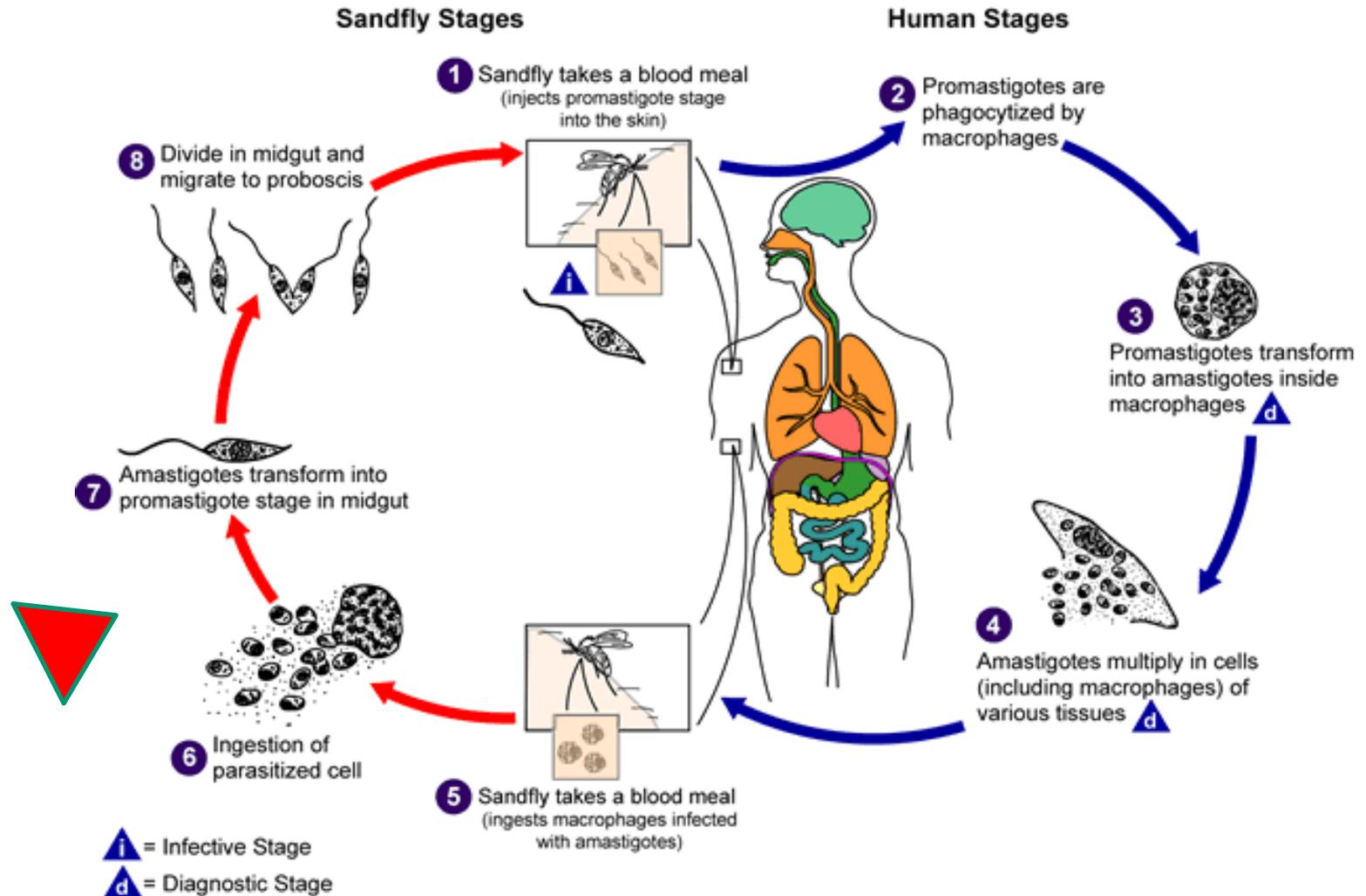
Habitat silvestre/peri-domiciar: lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres

Vetores de leishmaniose tegumentar no BR



Leishmaniose visceral: *Lutzomyia longipalpis*

CICLO



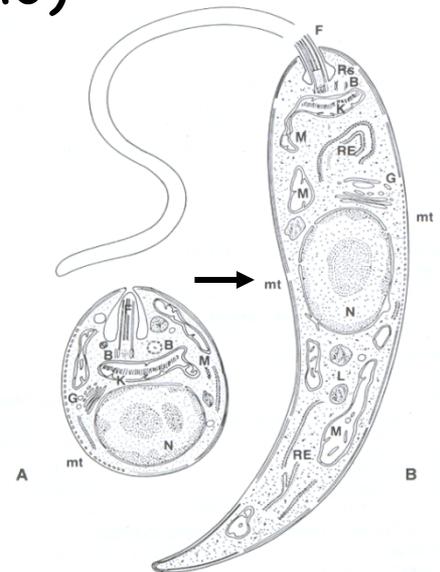
TRANSFORMAÇÃO AMASTIGOTA-PROMASTIGOTA

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

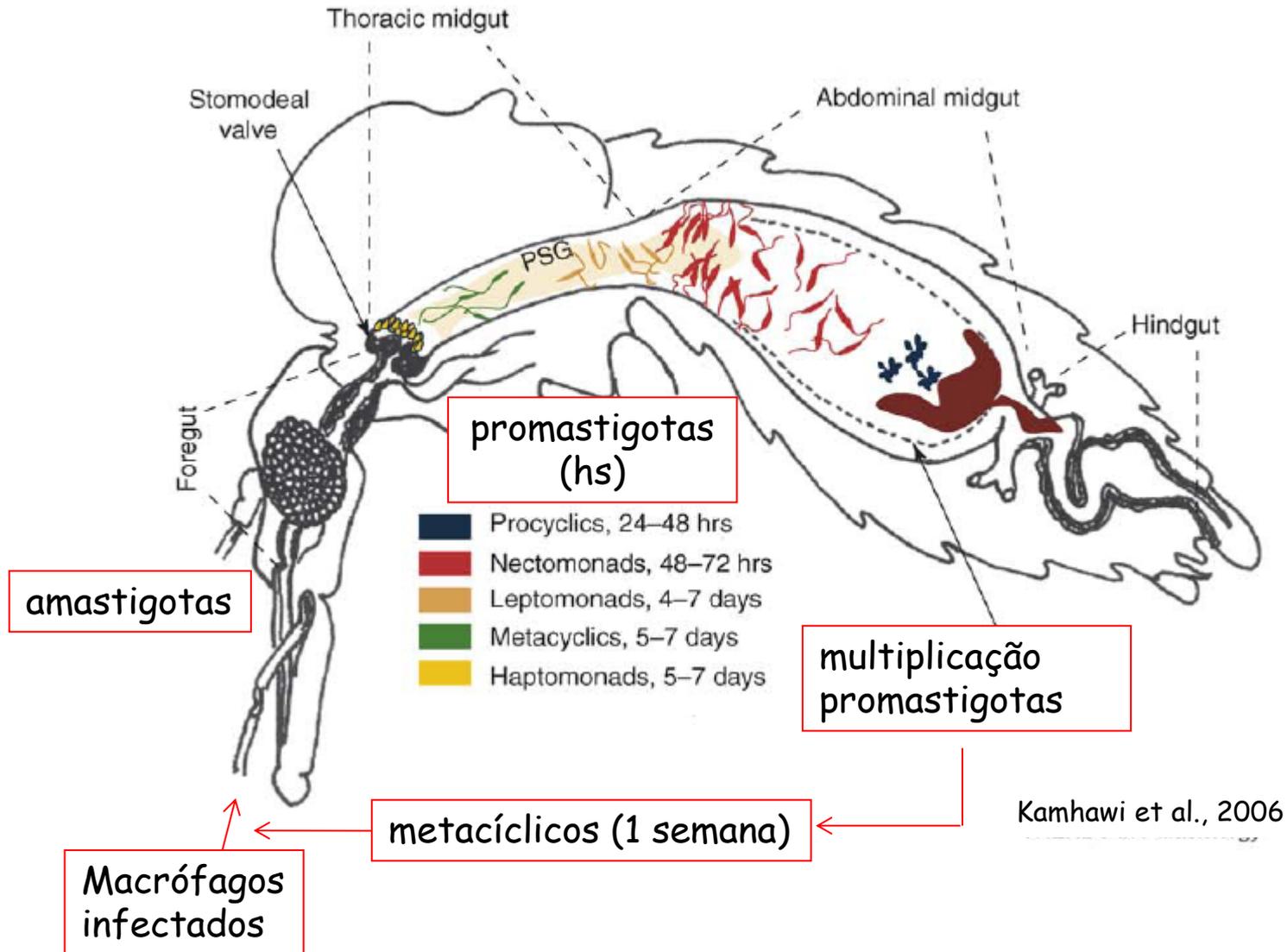
Cresce 5 vezes

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)

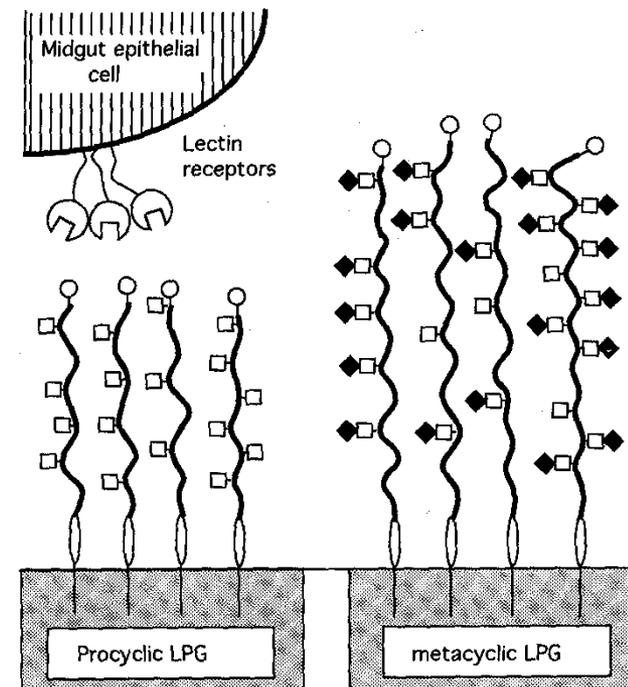
SOBREVIVÊNCIA NO VETOR

Metaciclogênese: vários estágios

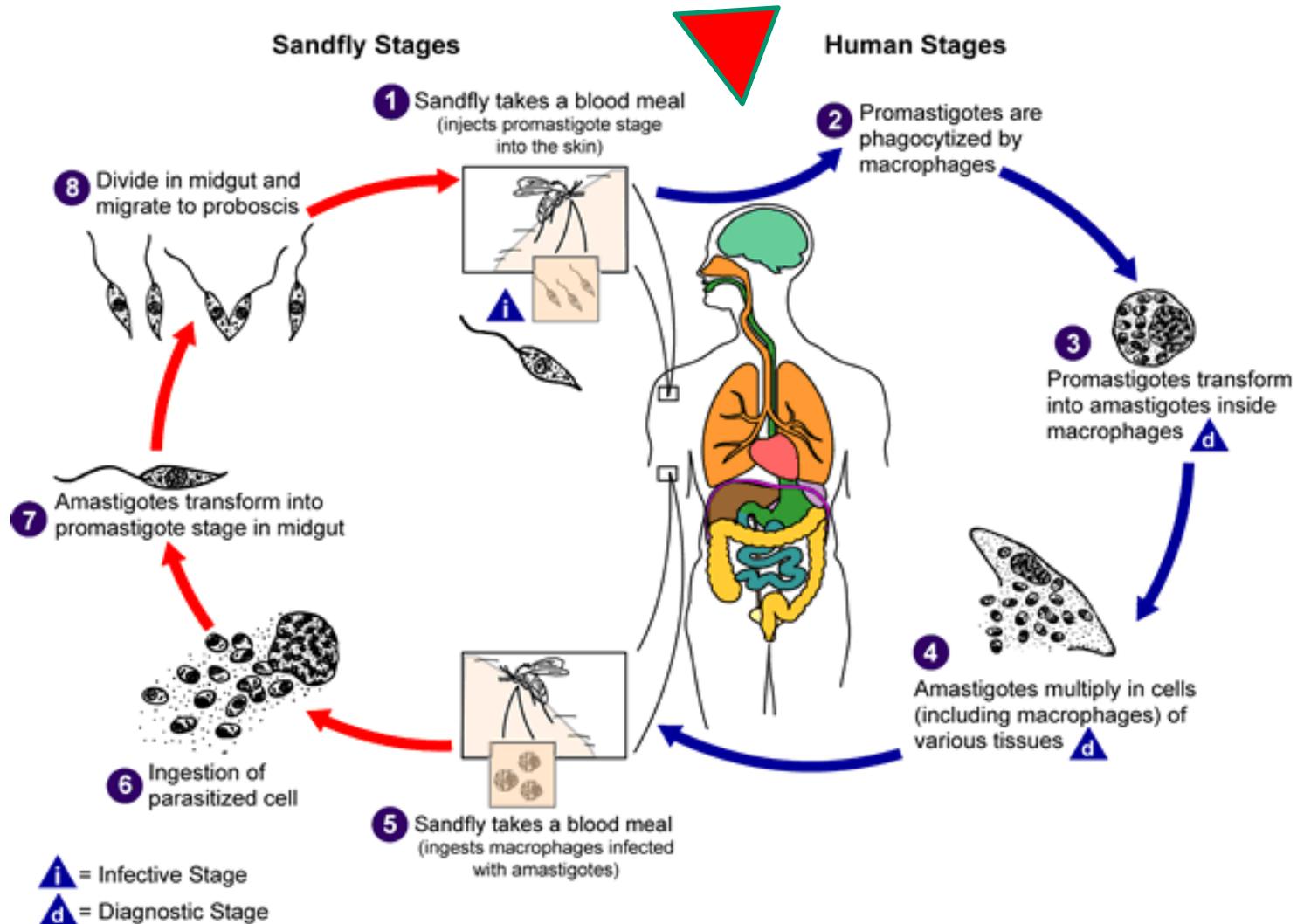
Parasita tem quitinase que rompe membrana peritrófica do intestino médio e permite fixação no intestino e posterior chegada à proboscide

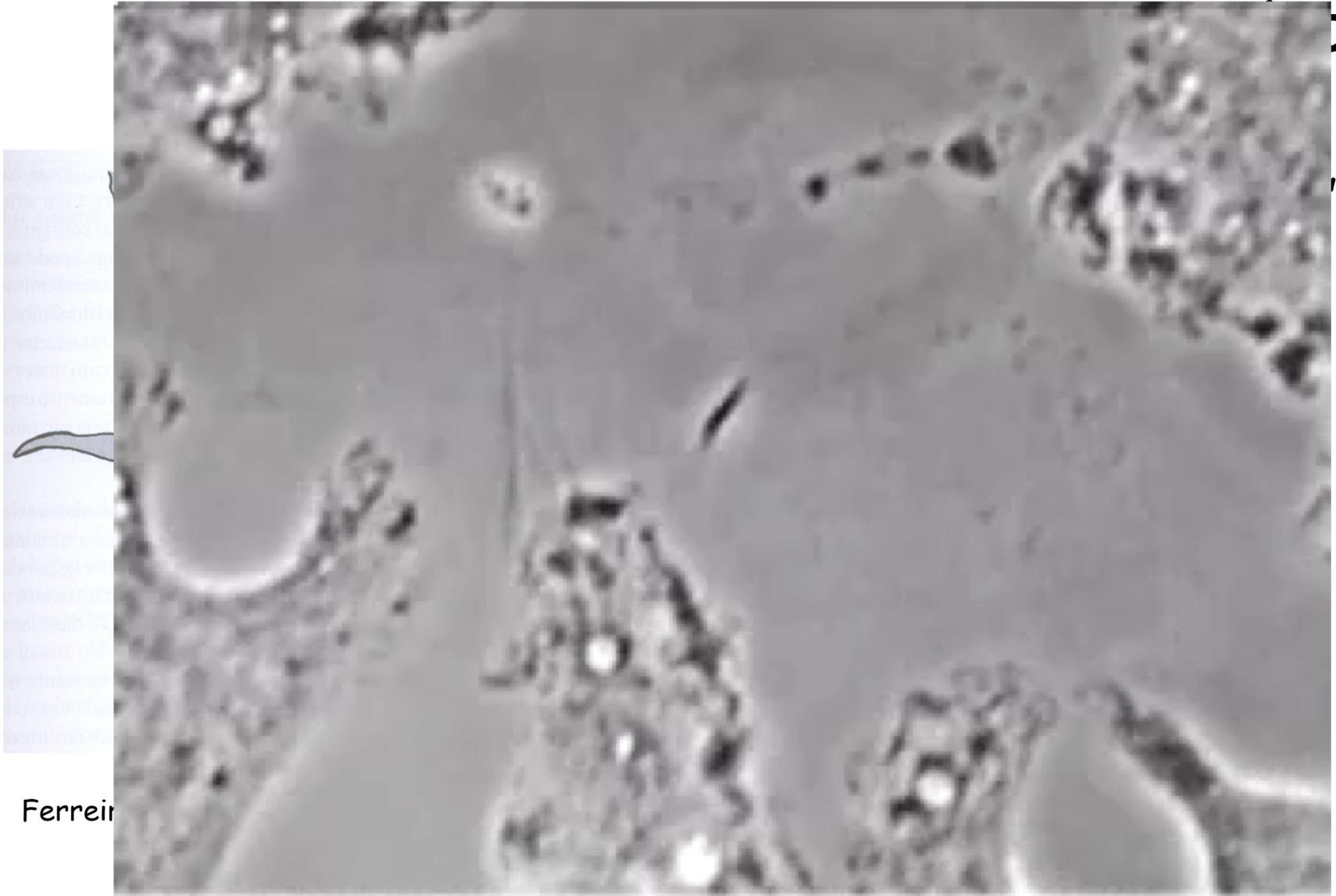
LPG de promastigotas:

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



CICLO





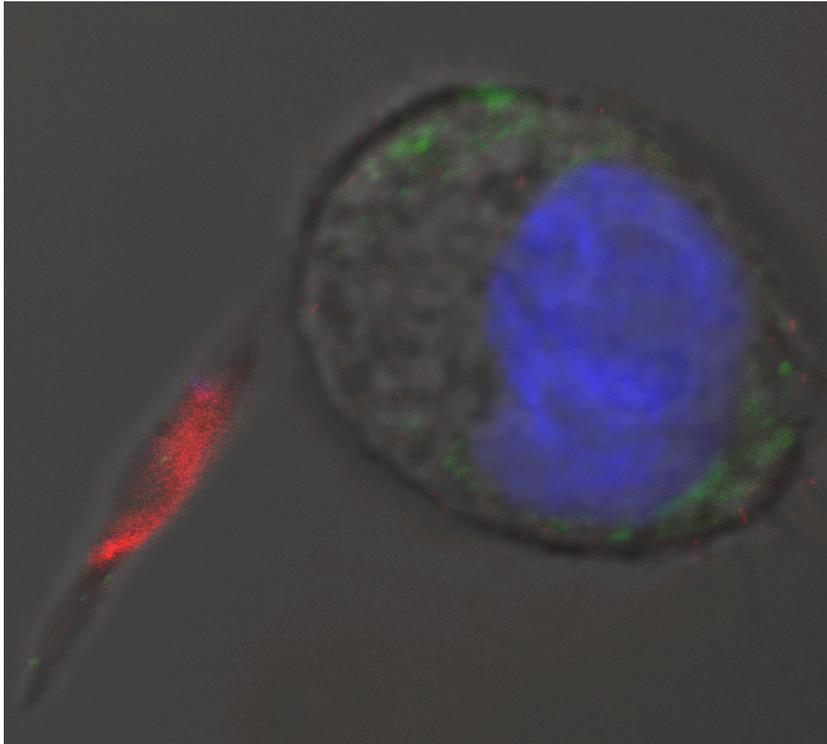
Ferreir

SOBREVIVÊNCIA NO MACRÓFAGO

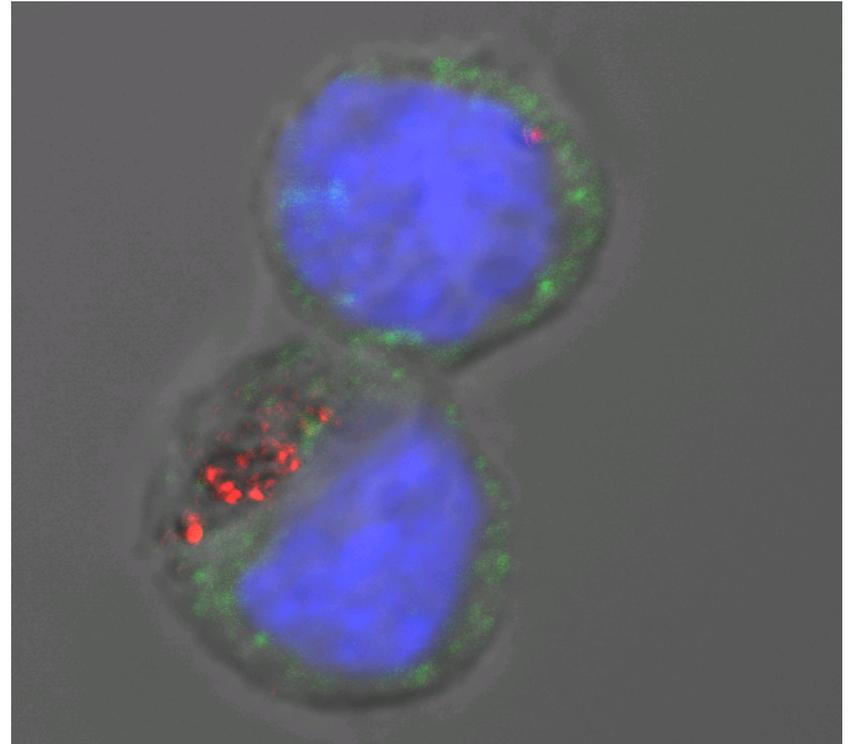
Após fagocitose (5 a 60min), promastigotas no vacúolo parasitóforo

Promastigotas → amastigotas

30min



4h



Mecanismos de escape do Sistema Imune

Fagocitose silenciosa via receptor de complemento
gp63 inativa complemento

Redução MHC II no macrófago

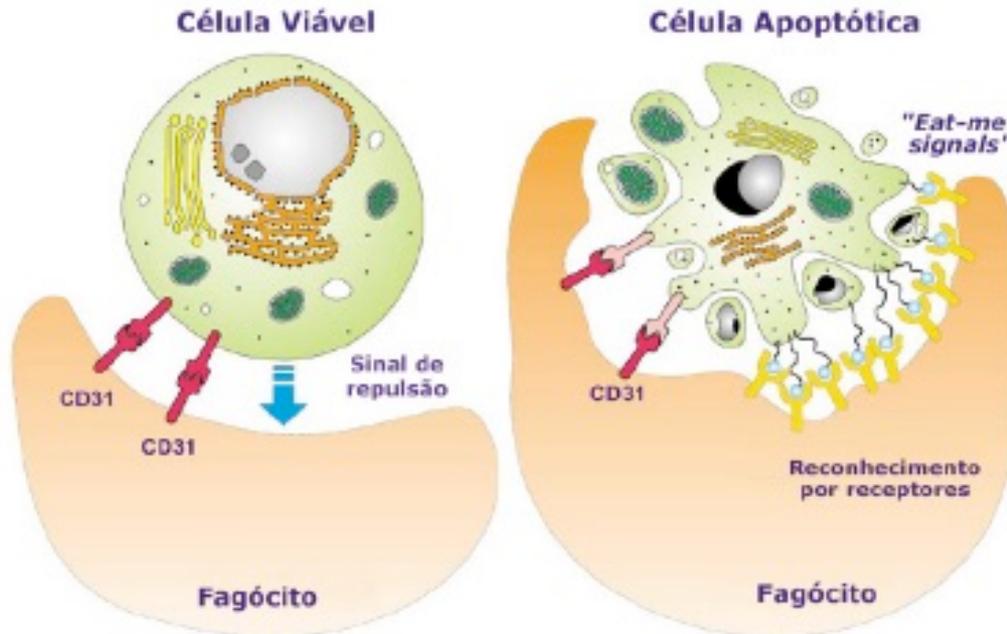
Uso de IL2, redução de IL1 e IFN γ

Leishmaniose **visceral**: imunossupressão- aumento IL10
e TGF β , redução IL12 e IFN γ

Apoptose e mimetismo apoptótico

Fagocitose por neutrófilos

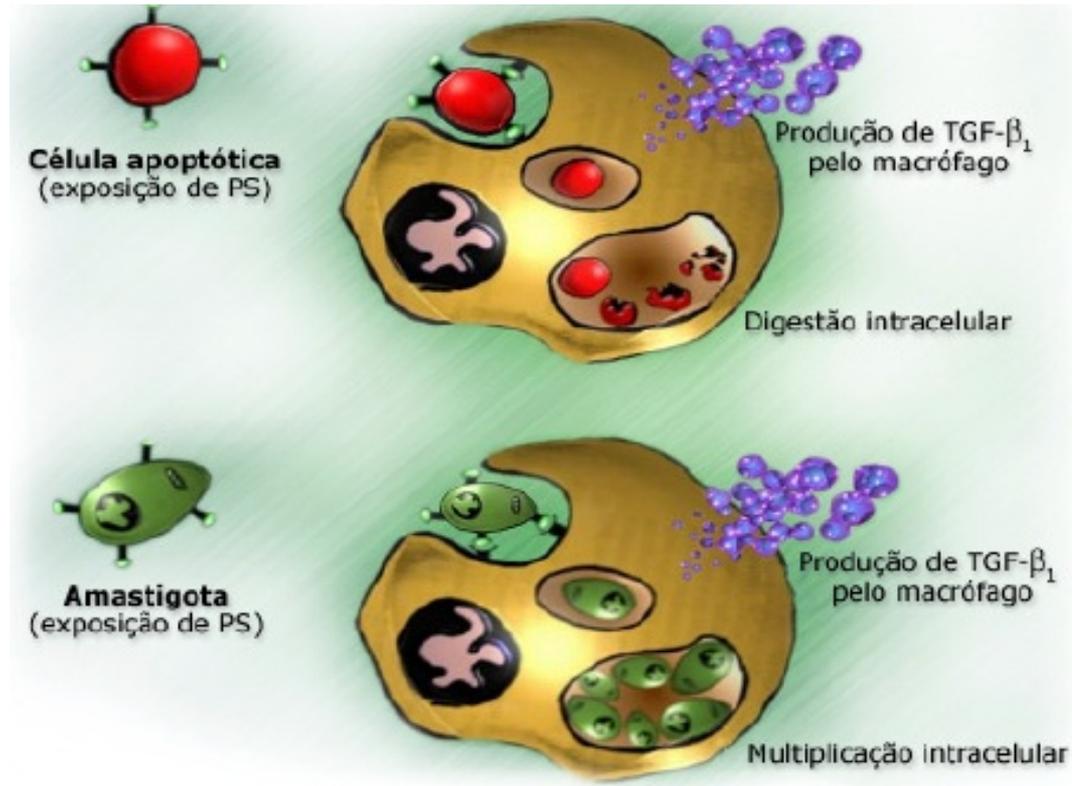
"Apoptose" (promastigotas)



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



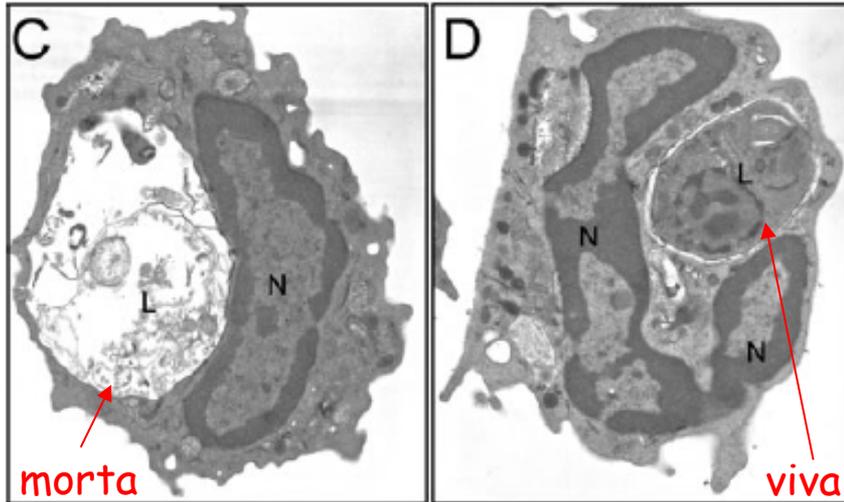
Troia, 1200-1300 a.C. (10 anos)

Neutrófilos e *Leishmania*: Cavalo de Tróia?

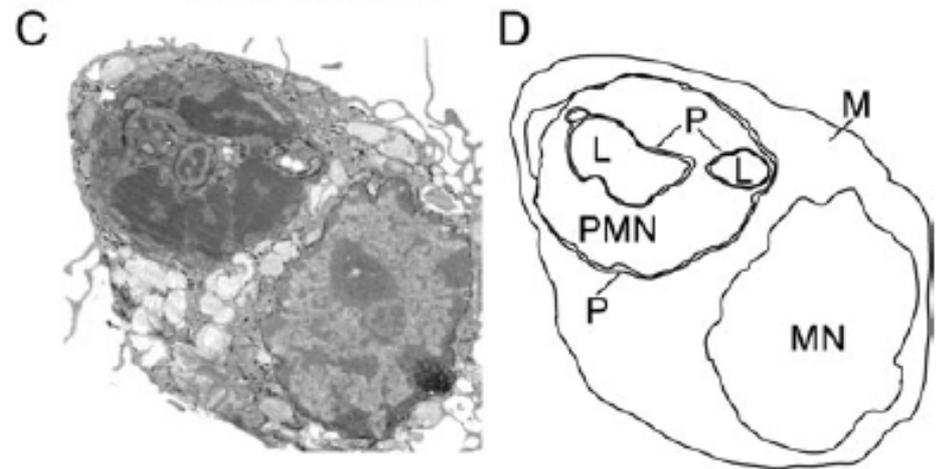
Rápido recrutamento de neutrófilos após inoculação (30min)

LPG inibe lise em alguns neutrófilos

Neutrófilos em apoptose (horas) são fagocitados por macrófagos



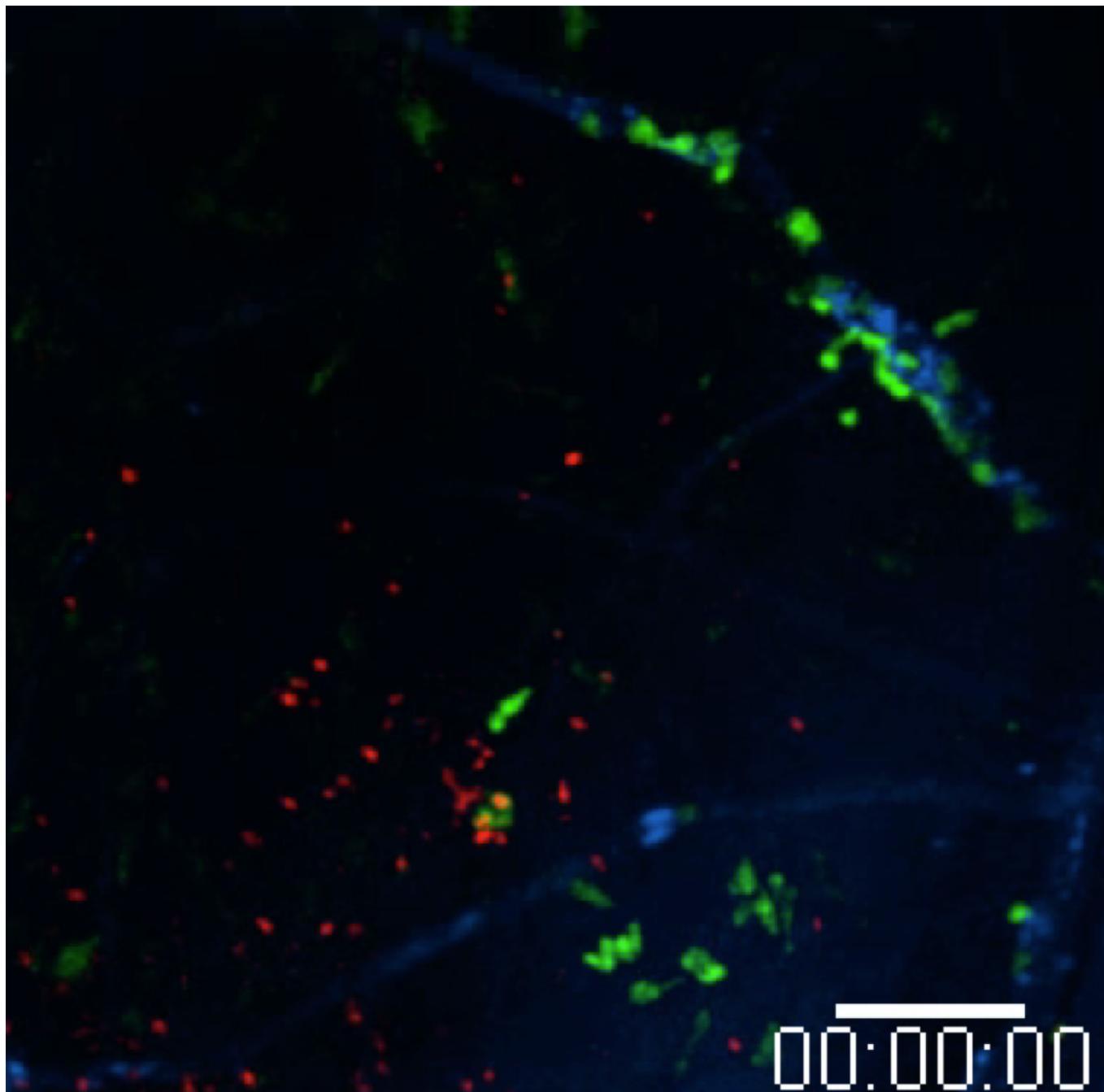
Leishmania donovani em neutrófilos



Macrófago fagocita neutrófilos com *L. donovani*

Gueirard *et al.*, 2008

Importância na infecção? Em quais spp?



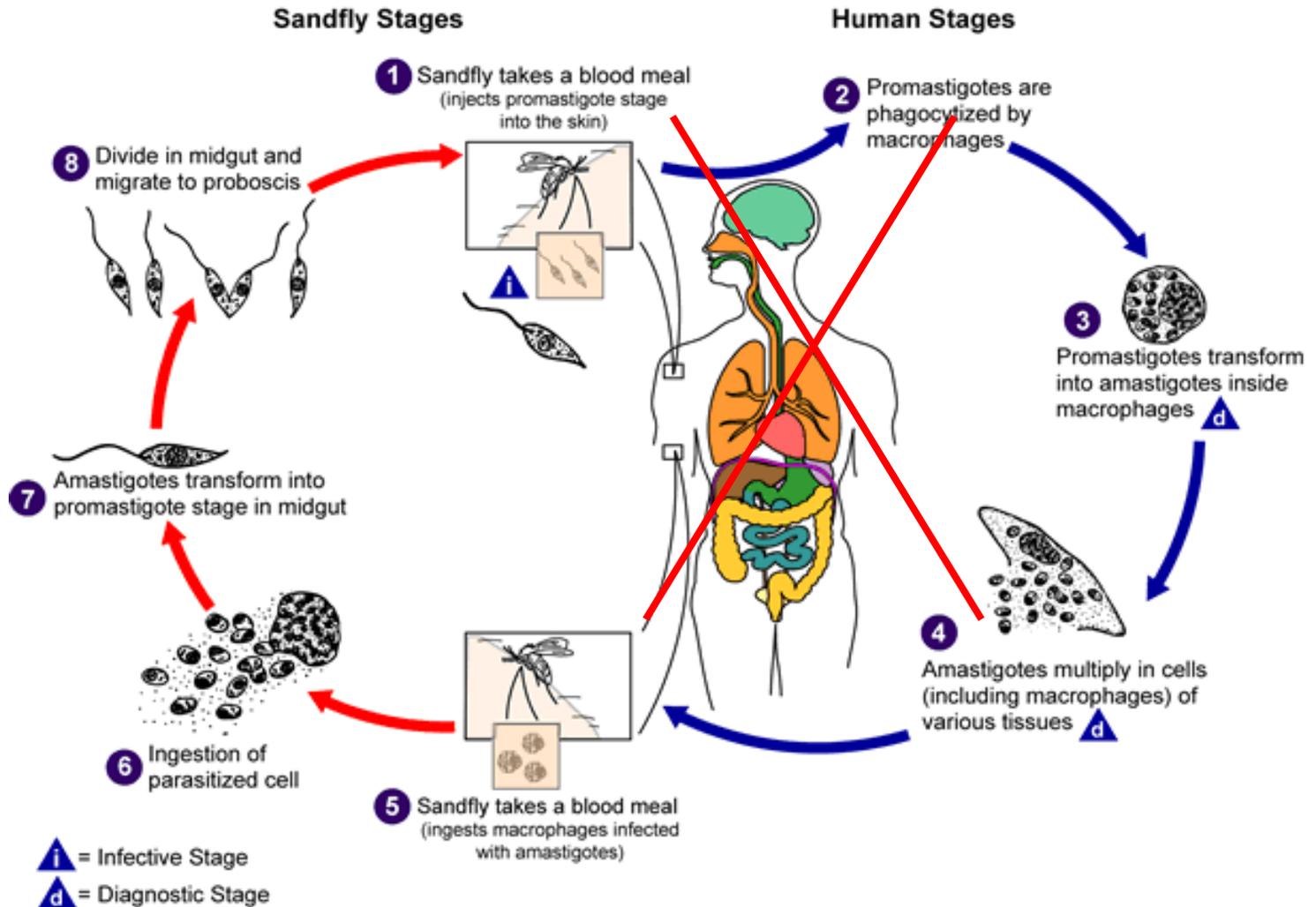
TRANSMISSÃO DO PARASITA NA LEISHMANIOSE VISCERAL

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

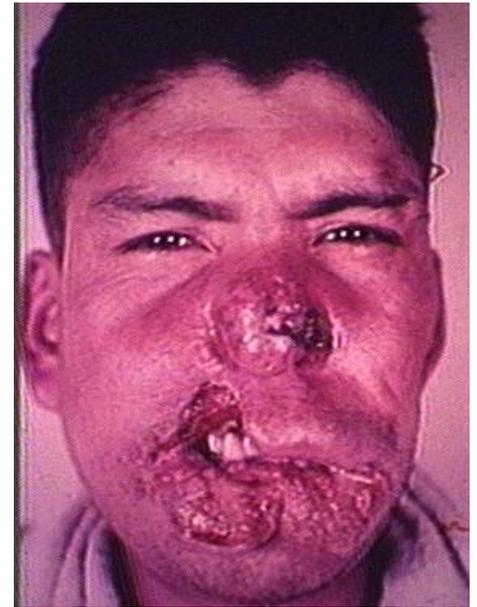
L. (L.) amazonensis



- 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

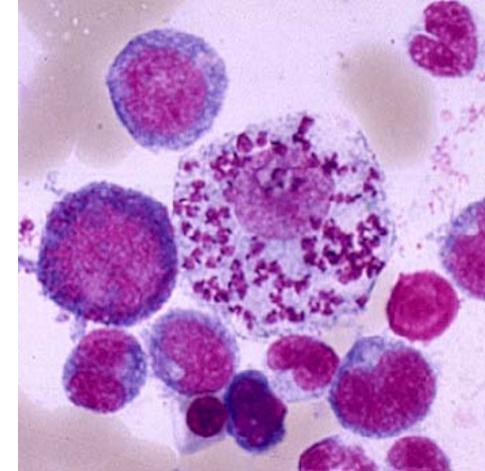
Altamente específico e baixo custo, mas
baixa sensibilidade

Imunológico

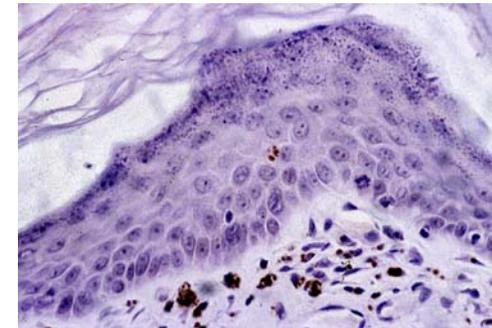
ELISA- muito sensível, pouco específico

DAT (=aglutinação direta)

Reação intradérmica= Resposta celular
(hipersensibilidade tardia)

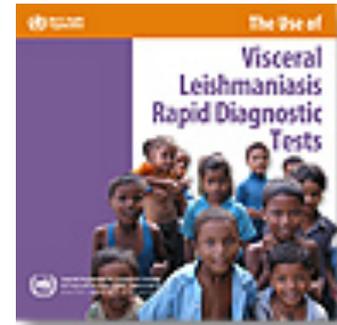


Medula óssea de cão (Wright-Leishman stain)



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:

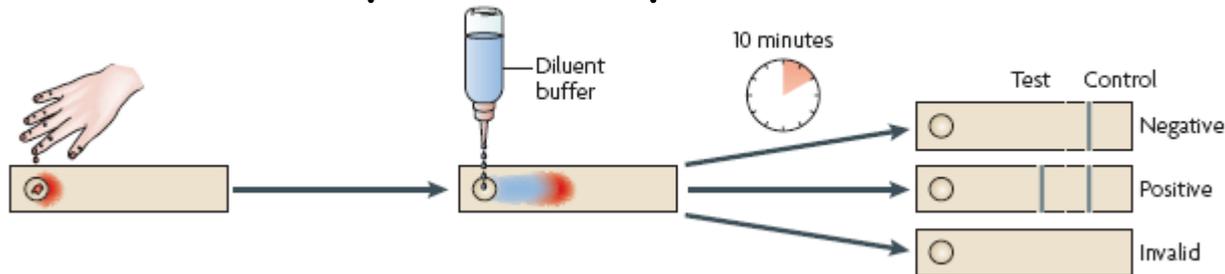
Punção de baço, fígado, medula óssea (cultivo)- risco

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

Teste Montenegro negativo (positivo após cura)

DIAGNÓSTICO leishmaniose visceral

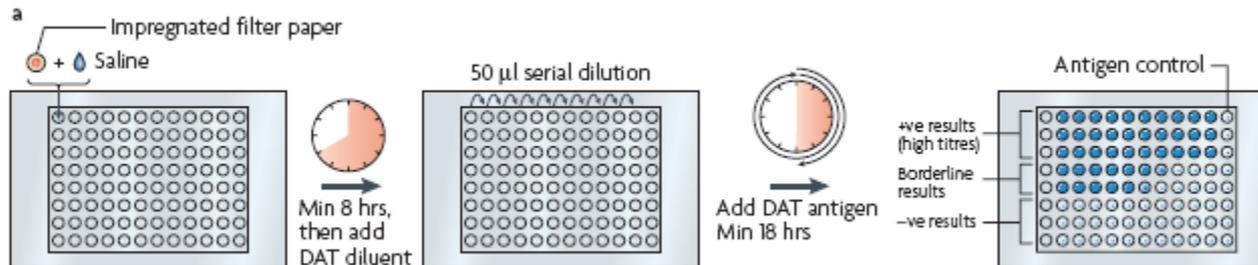
rK39 strip test- dipstick (ELISA)



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:

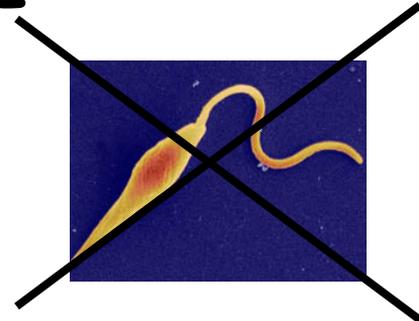
Difícil administração, longo, tóxico, caro, resistência

≠

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