

LEISHMANIOSE



Porque estudar leishmaniose?

~99 países endêmicos

~12 milhões pessoas infectadas (>1 milhão/ano)

350 milhões de pessoas ameaçadas de infecção

Alta incidência no Brasil

Leishmanioses

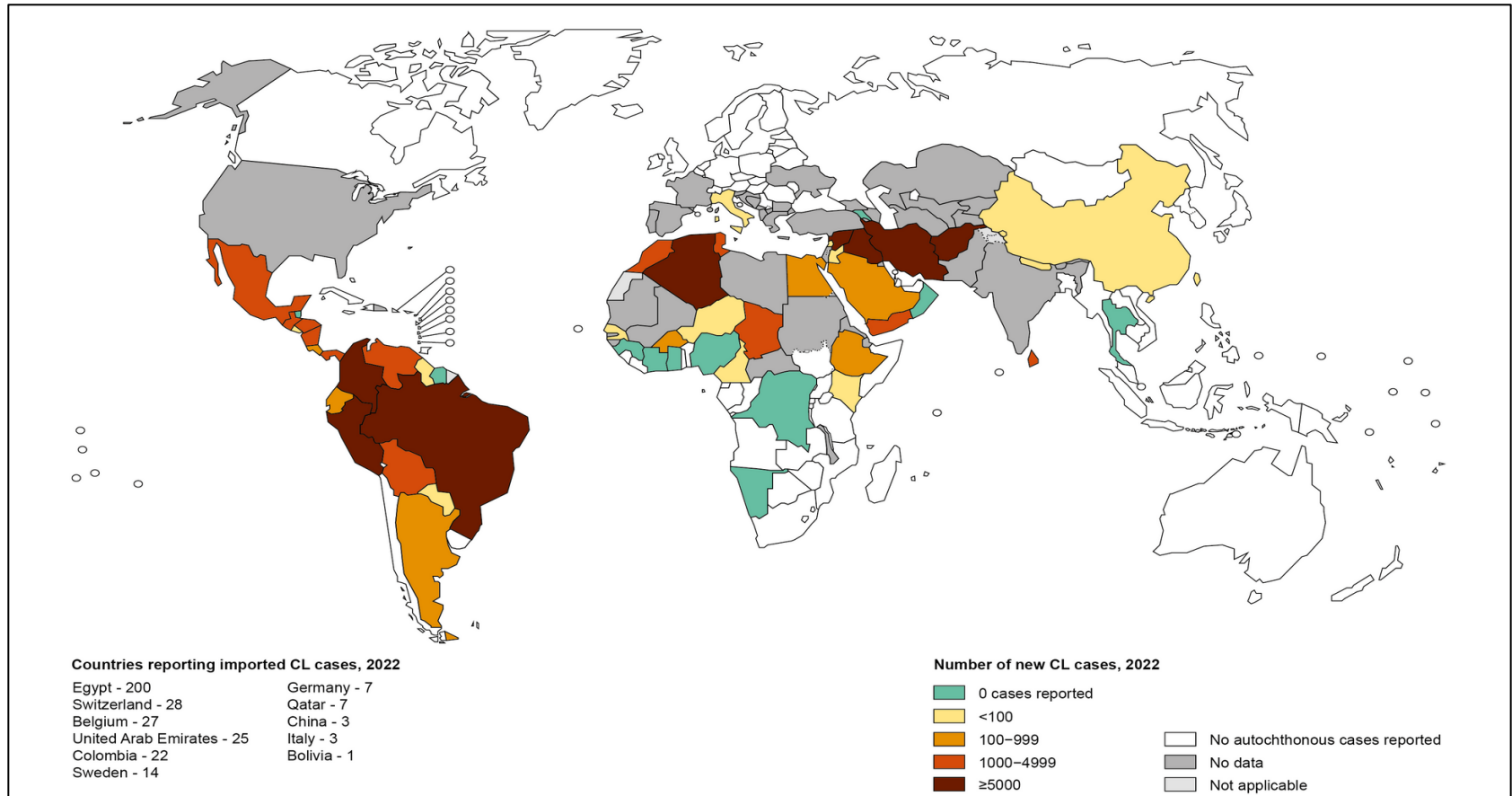
Duas formas principais:

Cutânea ou Tegumentar

Visceral



Distribuição Geográfica da Leishmaniose Cutânea / Tegumentar



~1 milhão de casos novos por ano

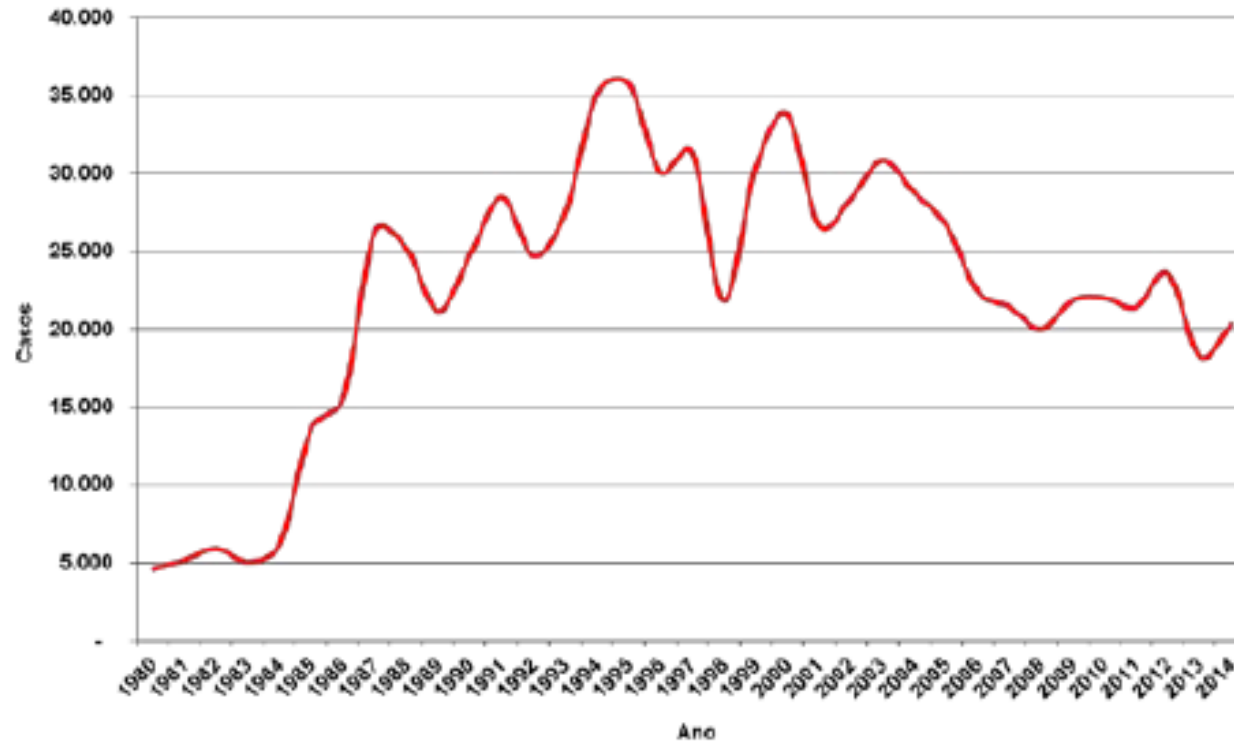
90% cutâneas: Afeganistão, Brasil, Irã, Peru, Arábia Saudita, Síria

90% mucosas: Bolívia, Brasil, Peru

1300-2500 soldados americanos com LC após Afeganistão e Iraque

Leishmaniose Tegumentar no Brasil

Figura 1 – Casos confirmados de leishmaniose tegumentar, Brasil – 1980 a 2014



Fonte: SVS/MS.

25.000-30.000 casos por ano

Leishmaniose Tegumentar no Brasil

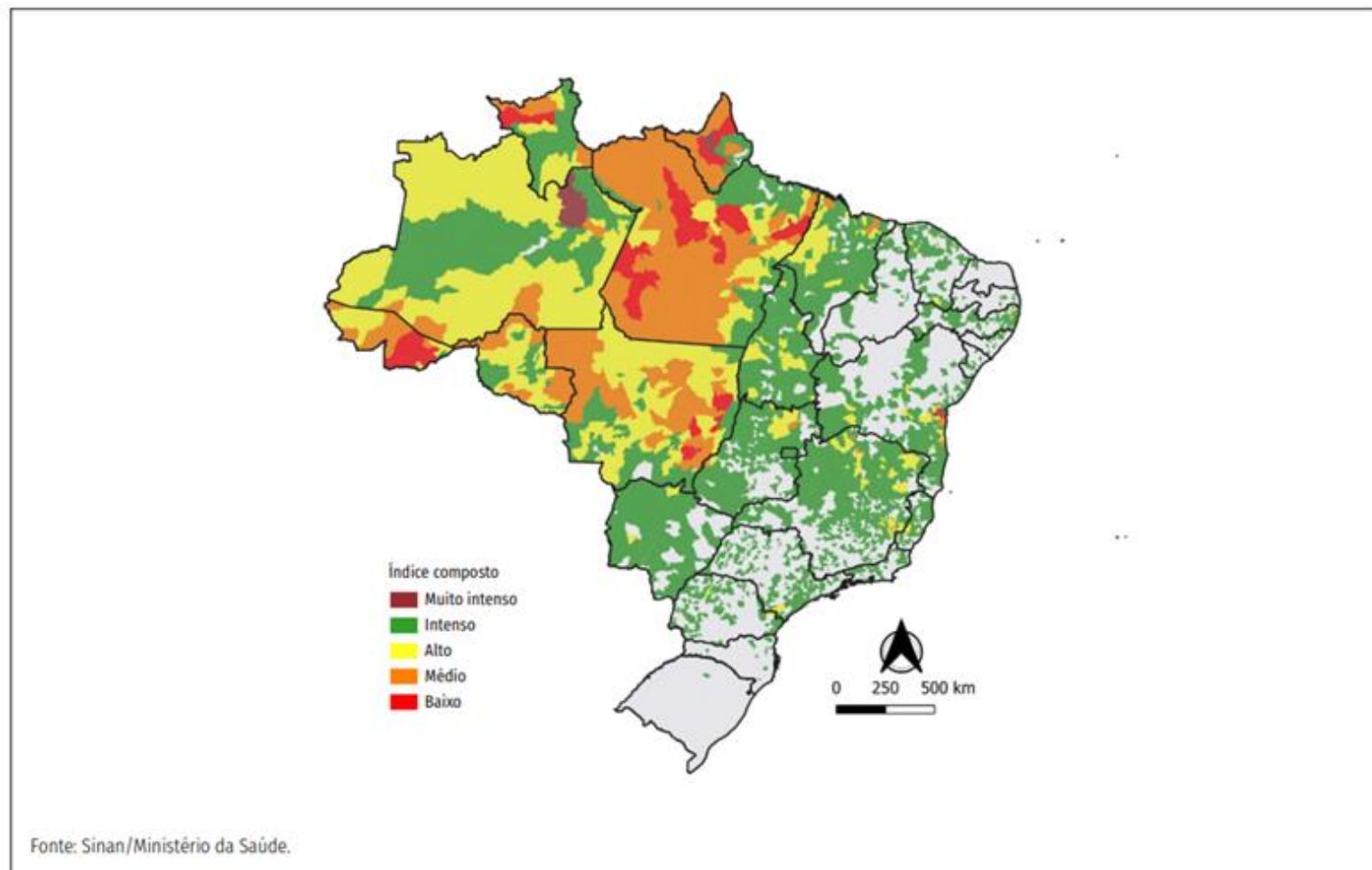


FIGURA 19 Estratificação de risco da leishmaniose tegumentar por município de infecção. Brasil, 2017 a 2019

Risco de Leishmaniose Tegumentar no Brasil

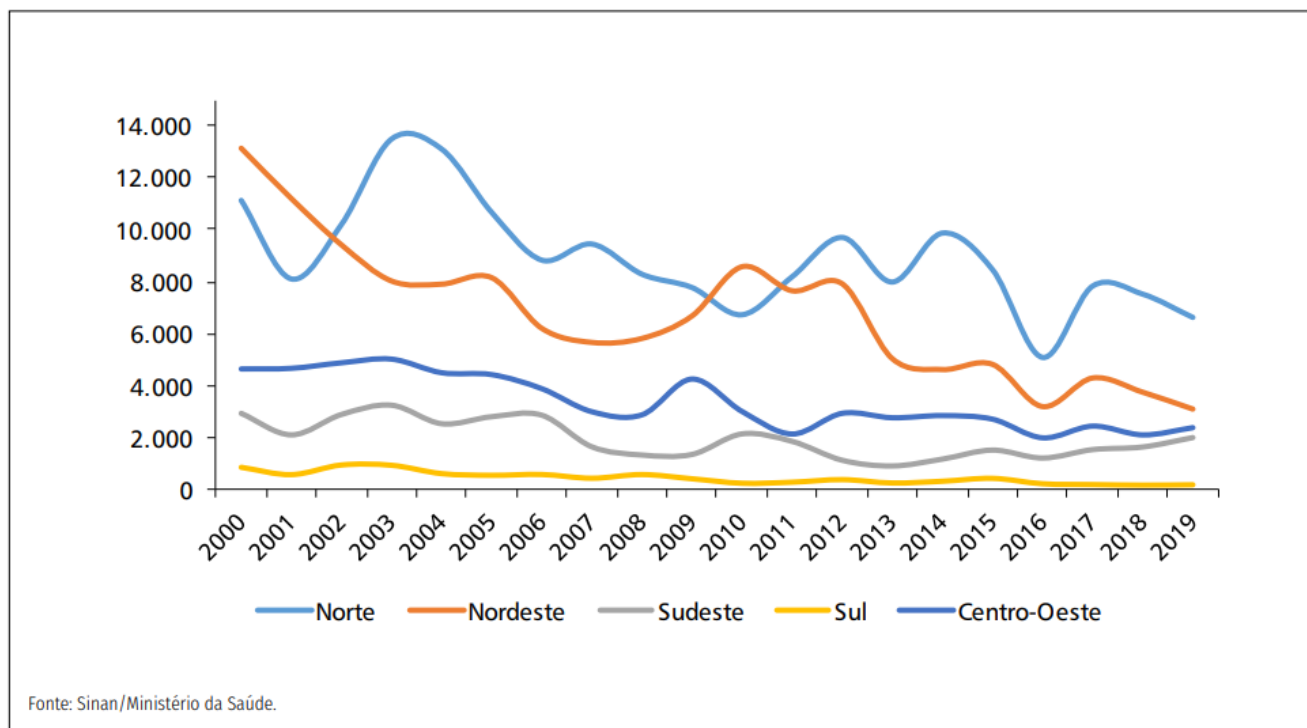
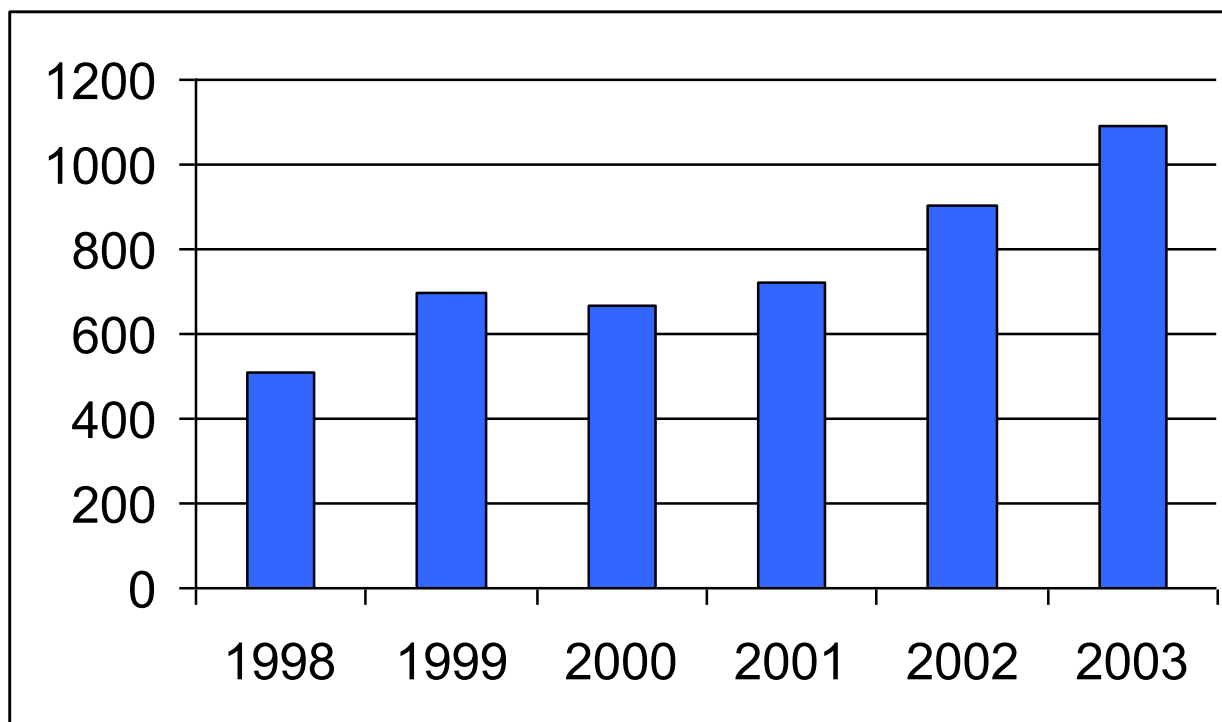


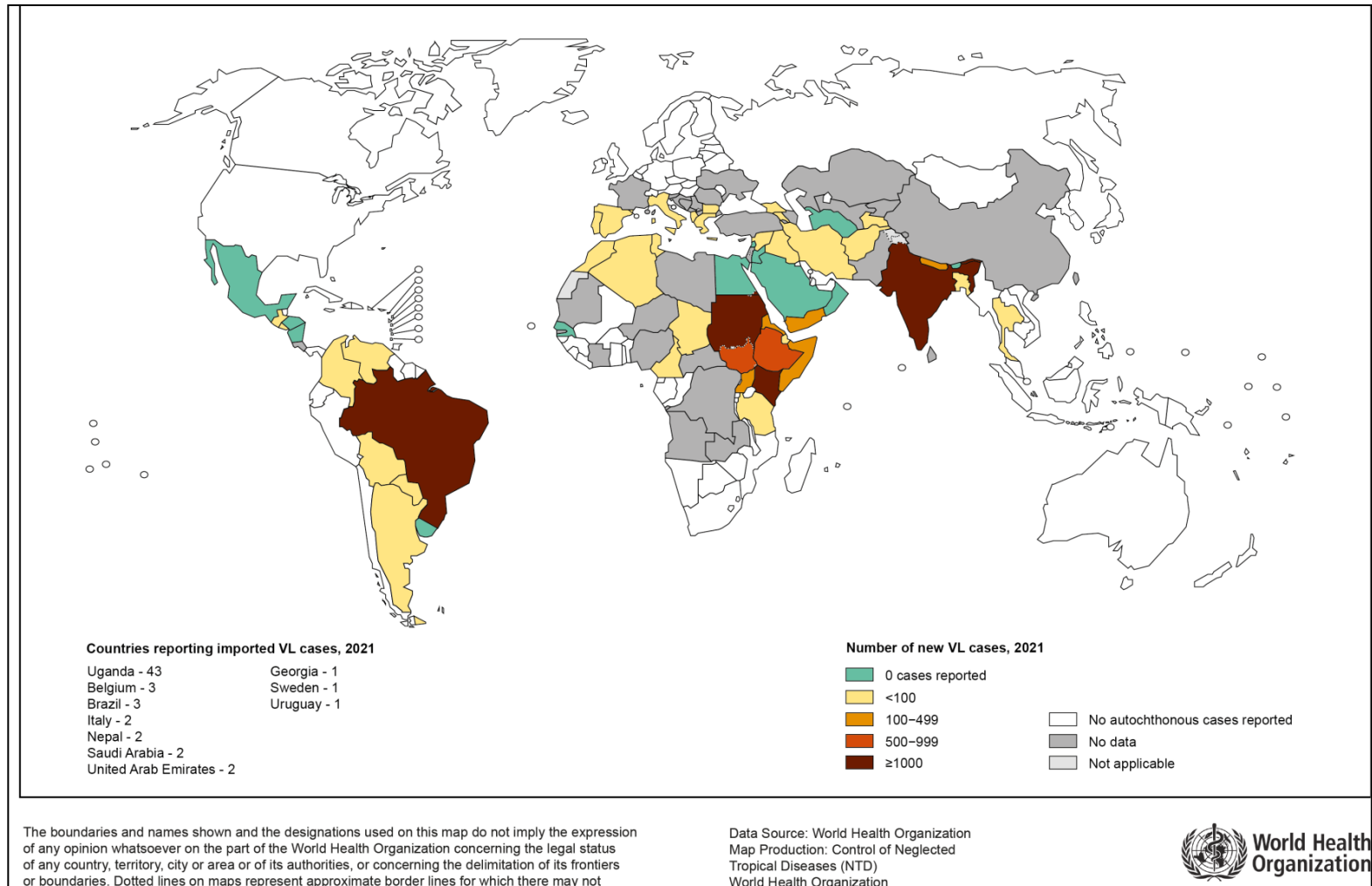
FIGURA 18 Estratificação de risco da leishmaniose tegumentar por município de infecção. Brasil, 2000 a 2019

Leishmaniose Tegumentar no Estado de SP



SUCEM

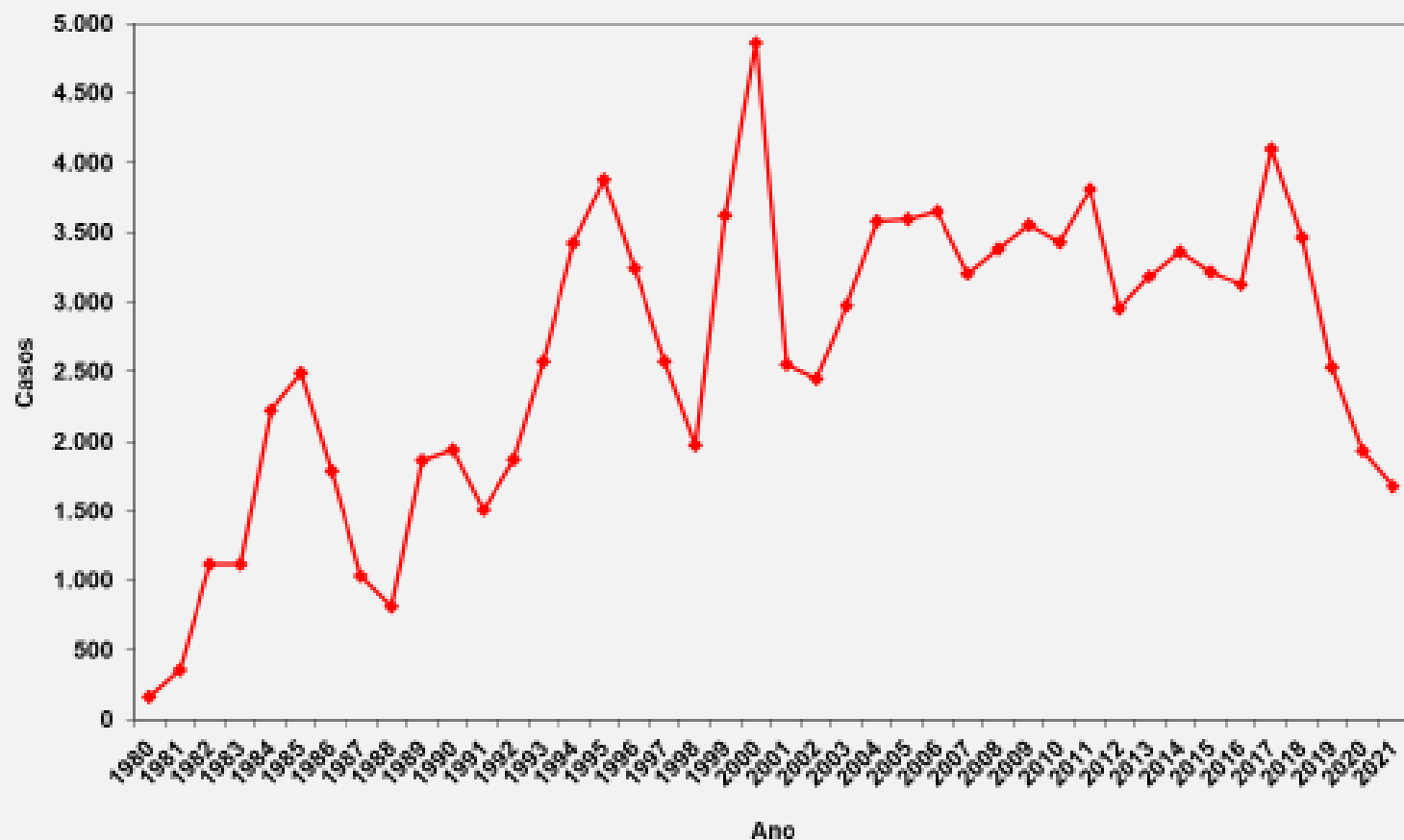
Distribuição Geográfica da Leishmaniose Visceral



~500.000 casos novos por ano (2013)

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

Leishmaniose Visceral no Brasil



Leishmaniose Visceral no Brasil

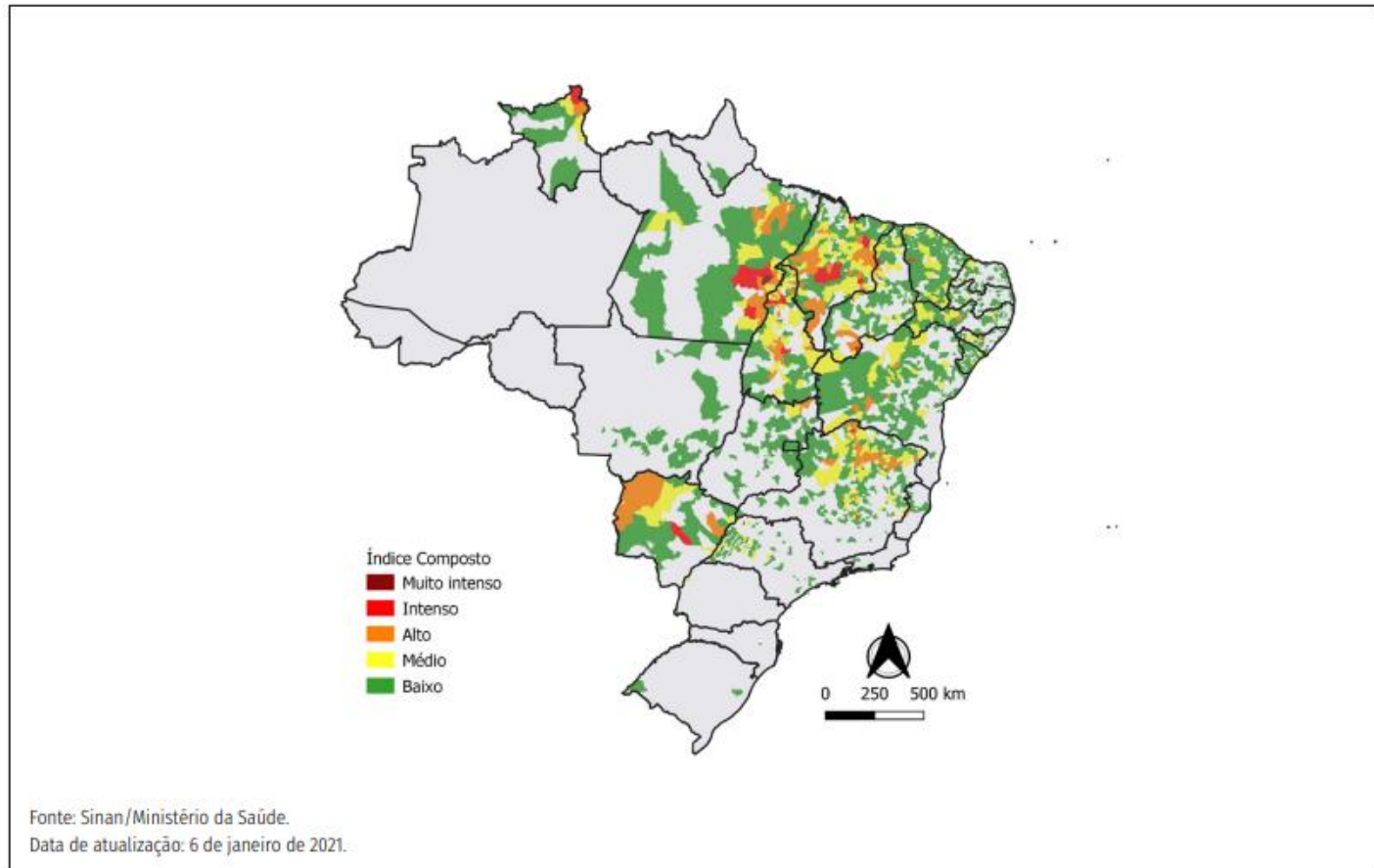


FIGURA 17 Estratificação de risco da leishmaniose visceral por município de infecção. Brasil, 2017 a 2019

Leishmaniose Visceral em São Paulo

7 de abril de 1999

Araçatuba registra 1º caso de leishmaniose

ARAÇATUBA - A Secretaria Estadual da Saúde registrou o primeiro caso de leishmaniose em um ser humano na cidade de Araçatuba, a 540 quilômetros da capital.

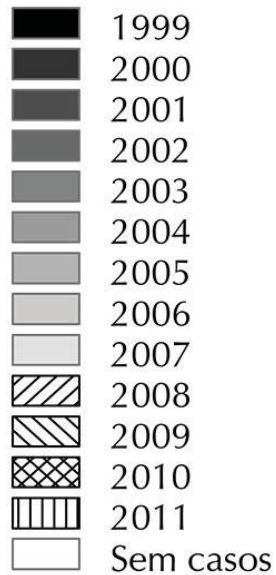
**DISTRIBUIÇÃO DOS CASOS, ÓBITOS e LETALIDADE DE
LVA HUMANA - ESTADO DE SÃO PAULO - 1999 a 2004***

ANO	Nº CASOS	Nº ÓBITOS	LETALIDADE
1999	17	5	29,4
2000	15	-	-
2001	57	3	5,3
2002	114	13	11,4
2003	146	21	14,4

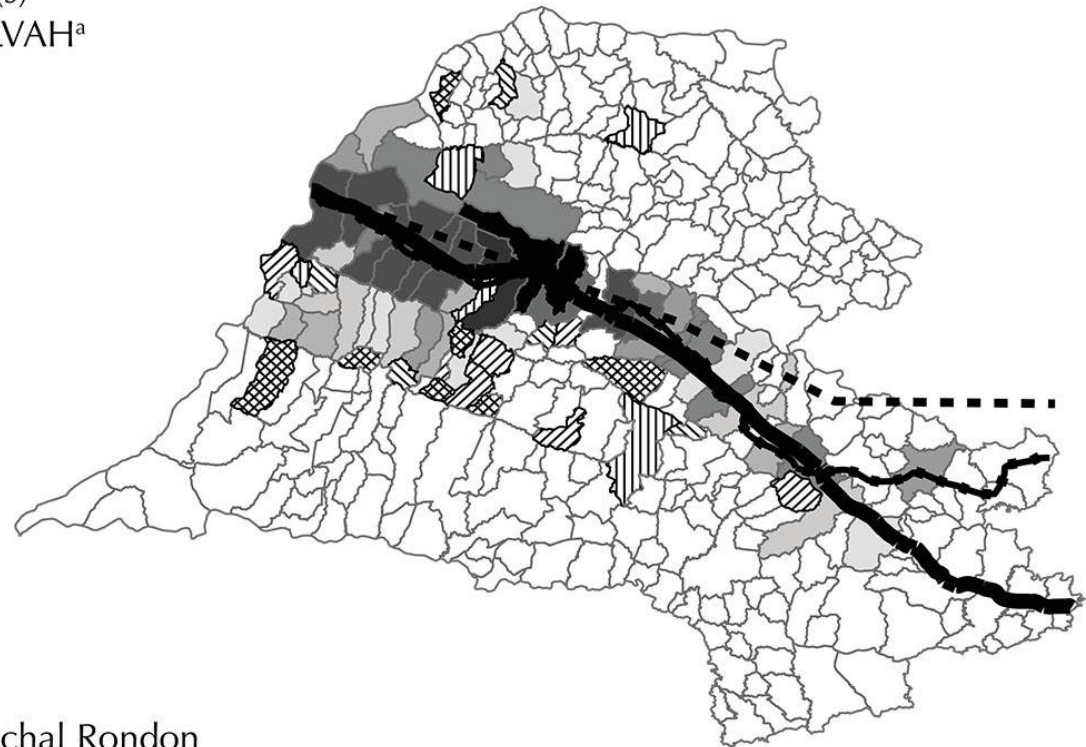
*dados provisórios até 18/07/04

Fonte : Divisão de Zoonoses CVE

Ano de detecção do(s)
primeiro caso(s) de LVAH^a



 Rodovia Marechal Rondon
 Ferrovia Novoeste
 Gasoduto Bolivia-Brazil



^aLVAH: Leishmaniose visceral americana em humanos

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

Folha de São Paulo, 4 março 2018

SAÚDE

Leishmaniose se espalha pelo estado de SP e avança para capital

Doença chegou a Guarujá em 2016, a 400 km das regiões tradicionalmente endêmicas



Cláudia Collucci

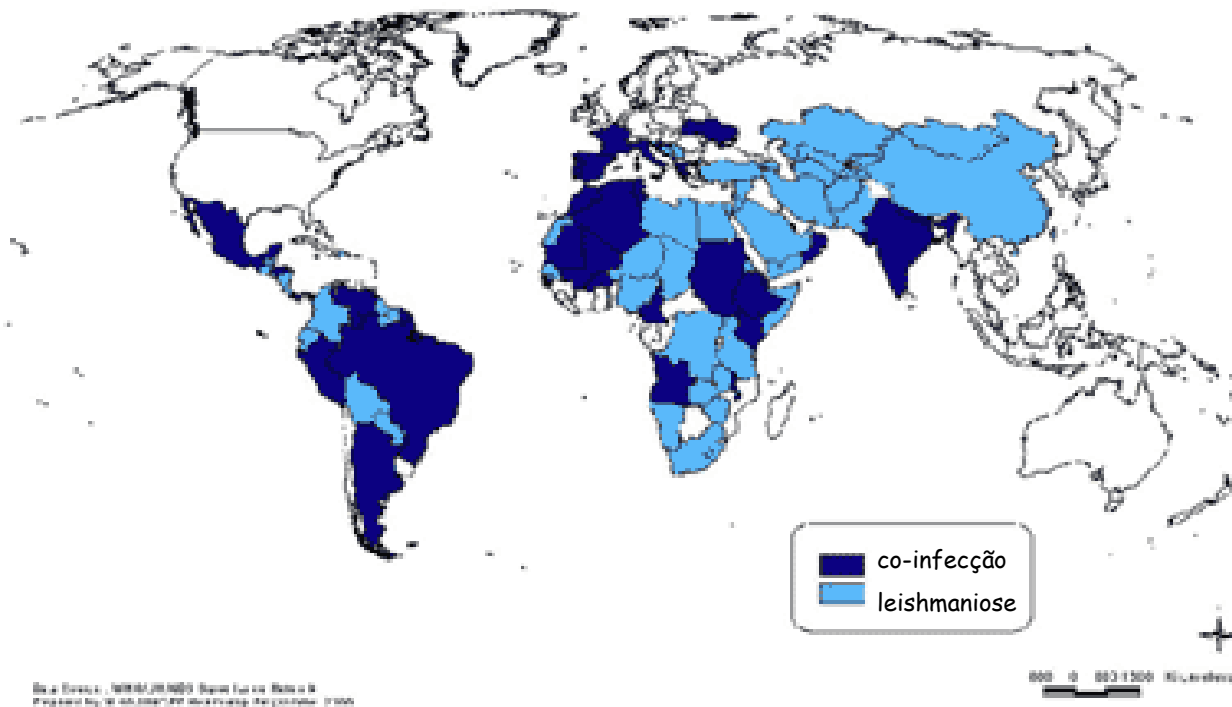
SÃO PAULO

A leishmaniose visceral, doença causada por parasita transmitido ao homem pela picada de mosquitos (especificamente, flebotomíneos), se espalhou pelo estado de São Paulo e avança para a capital.

Apesar de o número de casos estar em queda no país como um todo, a preocupação é que a doença atinja um número cada vez maior de municípios paulistas.

Distribuição geográfica leishmaniose visceral/AIDS

34 Countries Reporting Leishmania / HIV Co-Infection Worldwide



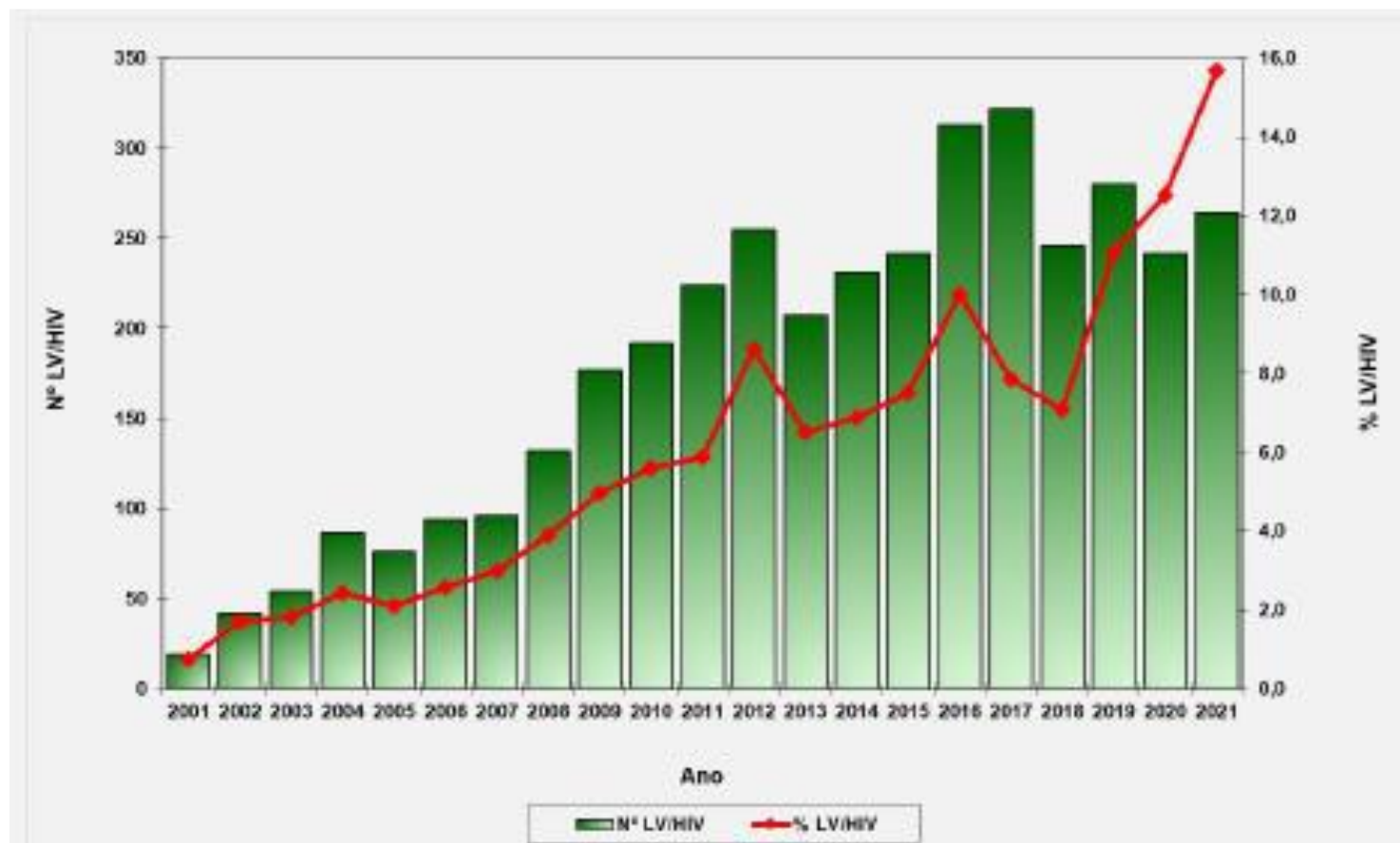
Associação entre leishmaniose visceral e AIDS

Leishmaniose visceral acelera AIDS

HIV ativa leishmaniose em portadores antes assintomáticos

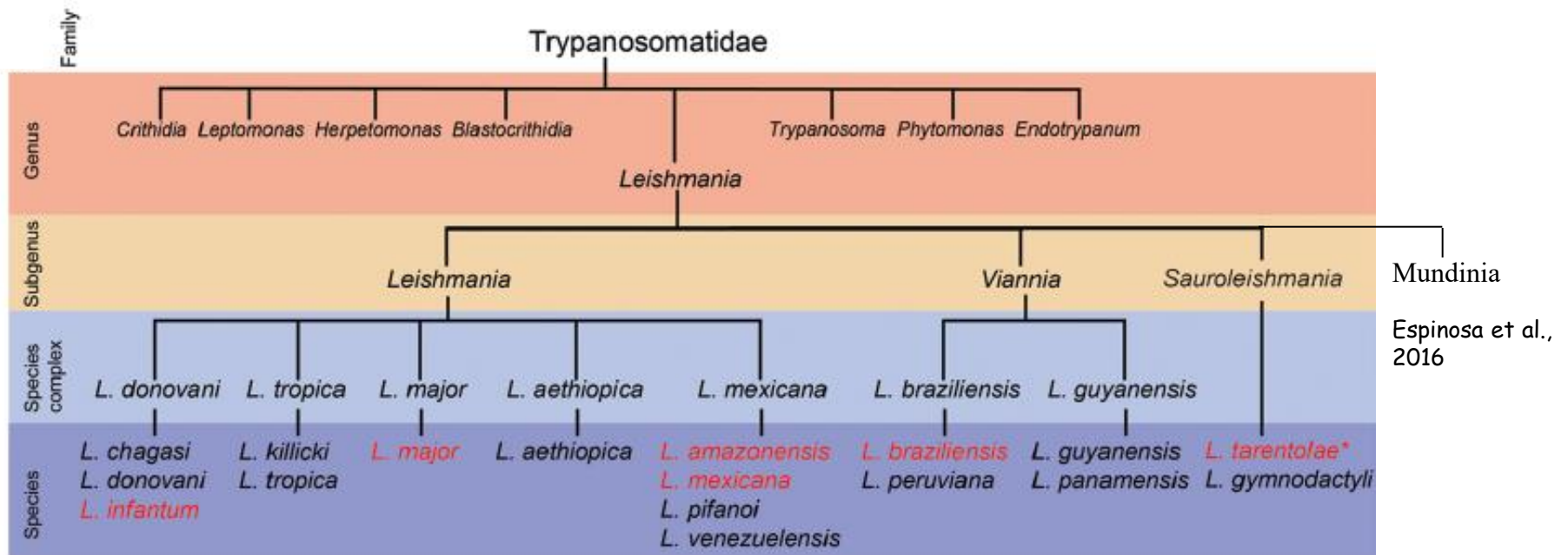
Sul da Europa: até 70% indivíduos com leishmaniose visceral tem HIV (drogas) (WHO, 2009)

Nº de casos e percentual de coinfeção LV/ HIV Brasil, 2001 a 2021



O PARASITA

Ordem Kinetoplastida (cinetoplasto) Família Trypanosomatidae



Real et al., 2013

Ancestral de tripanosomatídeos: parasita de insetos

Gênero *Leishmania*

Sub-gêneros *Leishmania*
Viannia
(*Mundinia*)



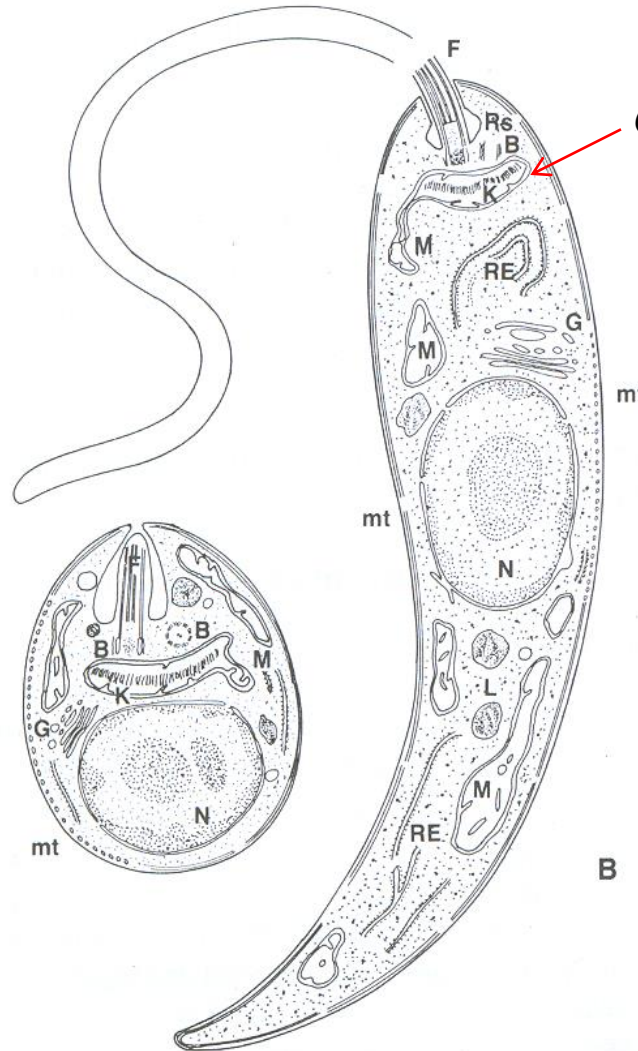
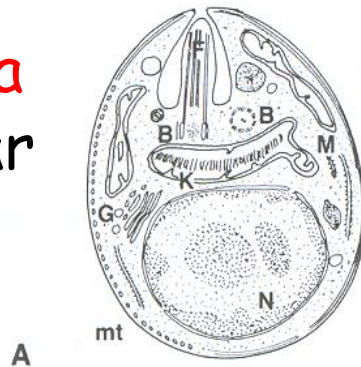
Classificação com base na diferenciação do parasita no inseto:

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

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

FORMAS DO PARASITA

Amastigota
Intracelular
(2-6 μm)



CINETOPLASTO

Promastigota
Vetor, cultura
(14-20 μm)

Bactéria ~ 0,5 μm , linfócito ~ 12 μm

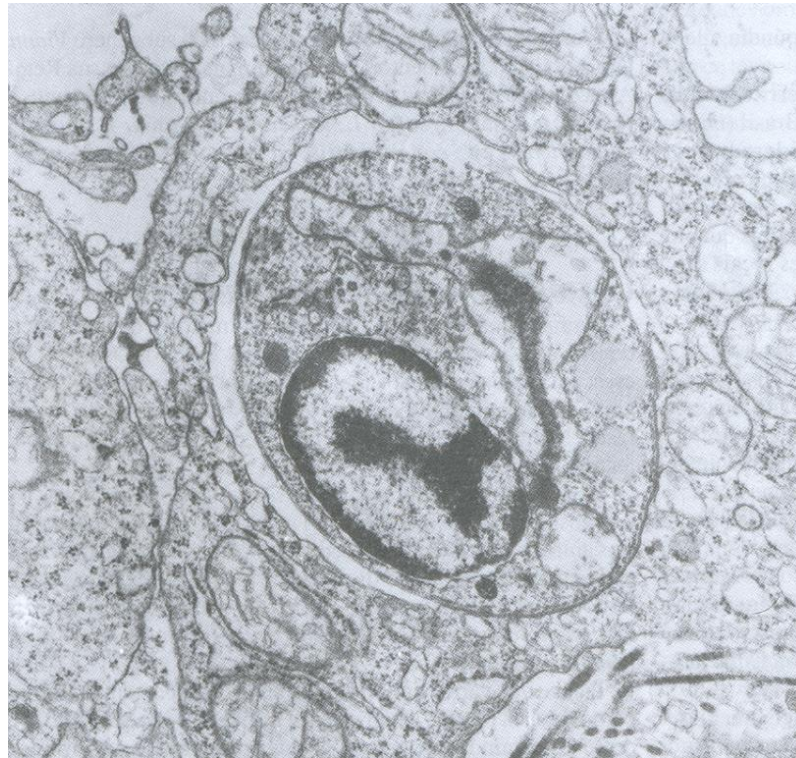
Promastigota



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

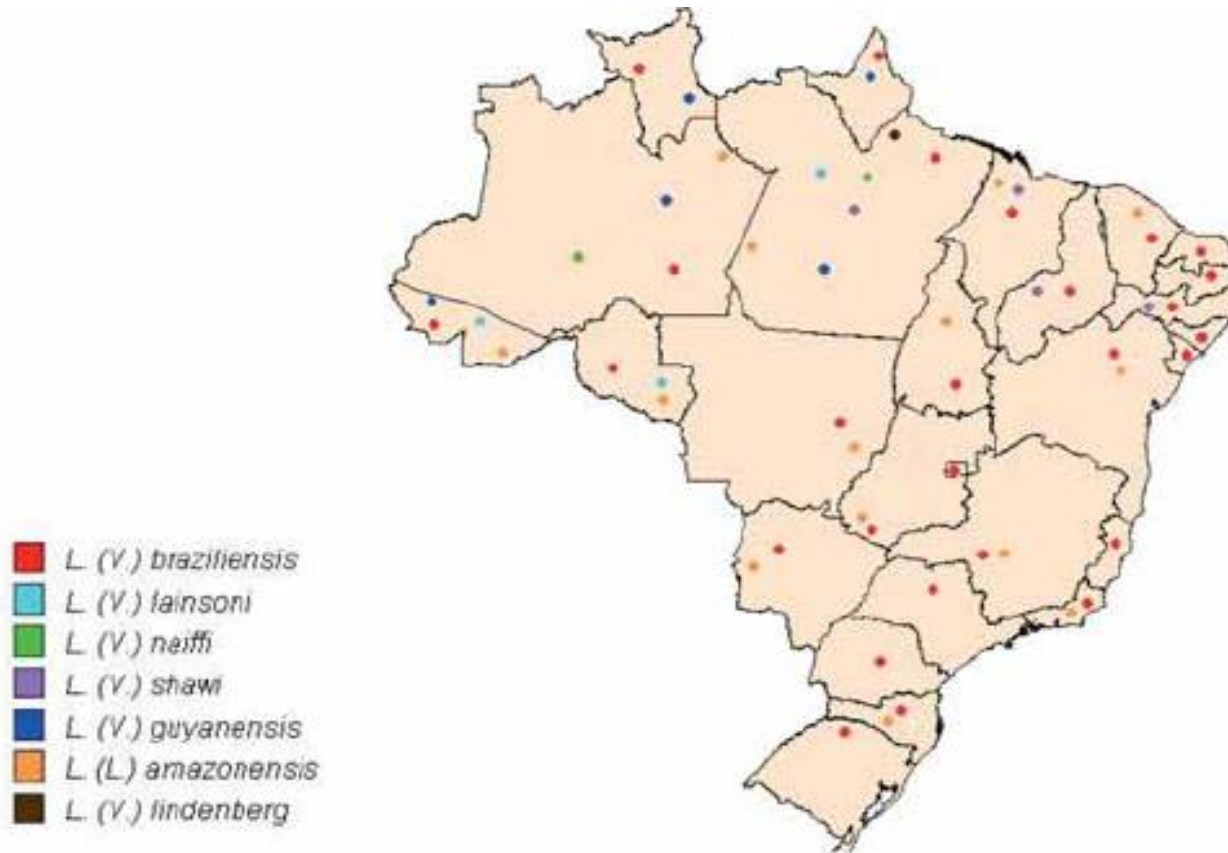
Amastigota

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



Principais agentes da LT no Brasil:

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



Fonte: SVS/MS

2005

LV no Brasil: *Leishmania (L.) infantum* (chagasi)

VETORES

Flebotomíneos- Ordem Phlebotominae

5 gêneros e 700spp

30spp são vetores de *Leishmania*



Lutzomyia nas Américas

Phlebotomus na África,
Europa e Ásia

“**Mosquito (!)** palha”, birigui

VETORES

2-3mm, corpo e asas peludas

Marrons "luminosos" (oleosidade)

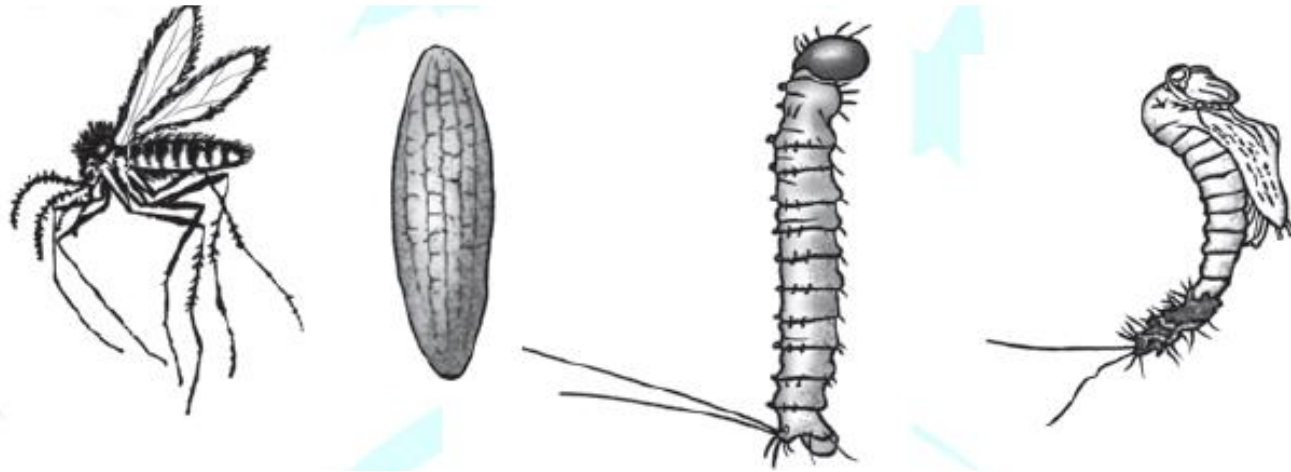
Asas em V

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

Larvas e pupas: habitat úmido, quente e com nutrientes

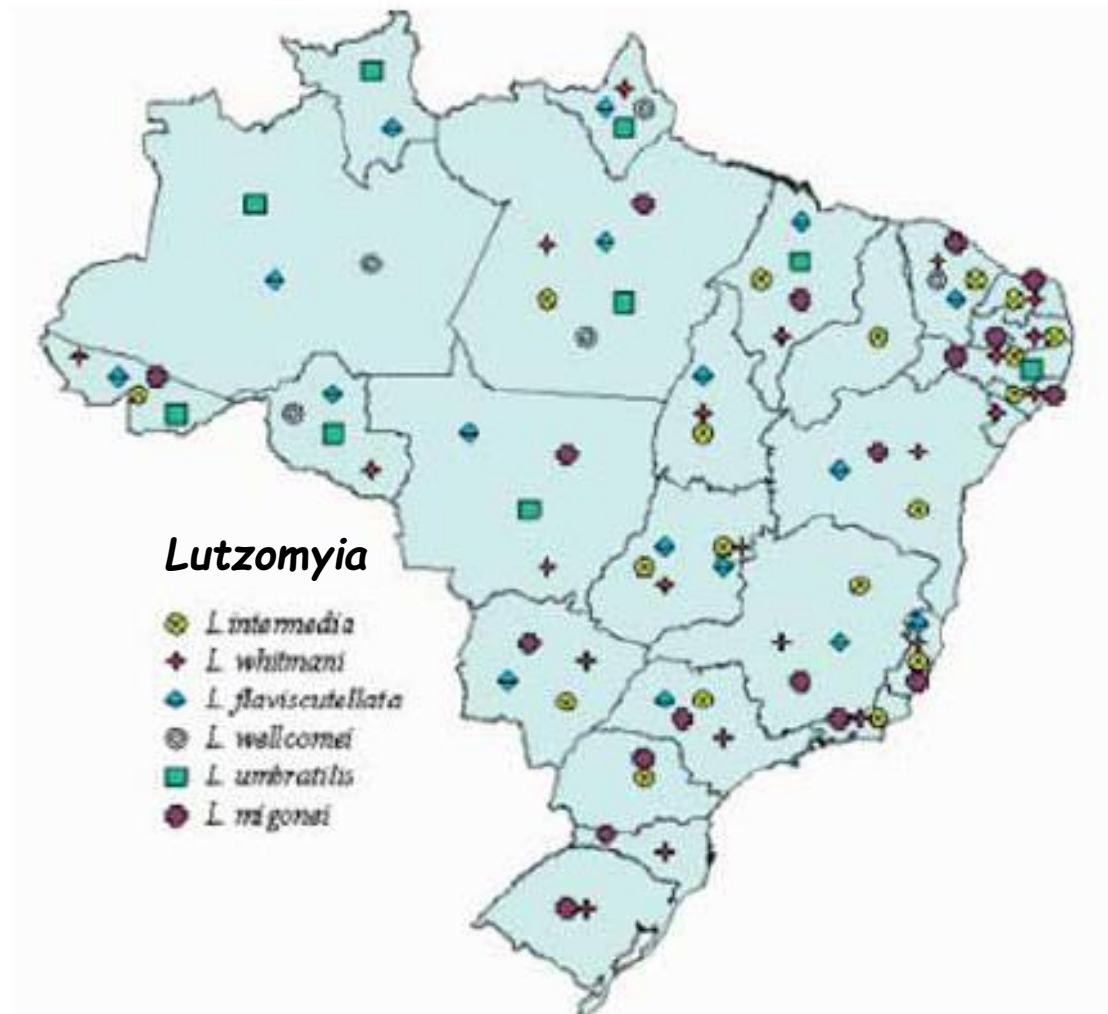
Difícil encontrar locais de desova, larvas e pupas: difícil controle!

VETORES



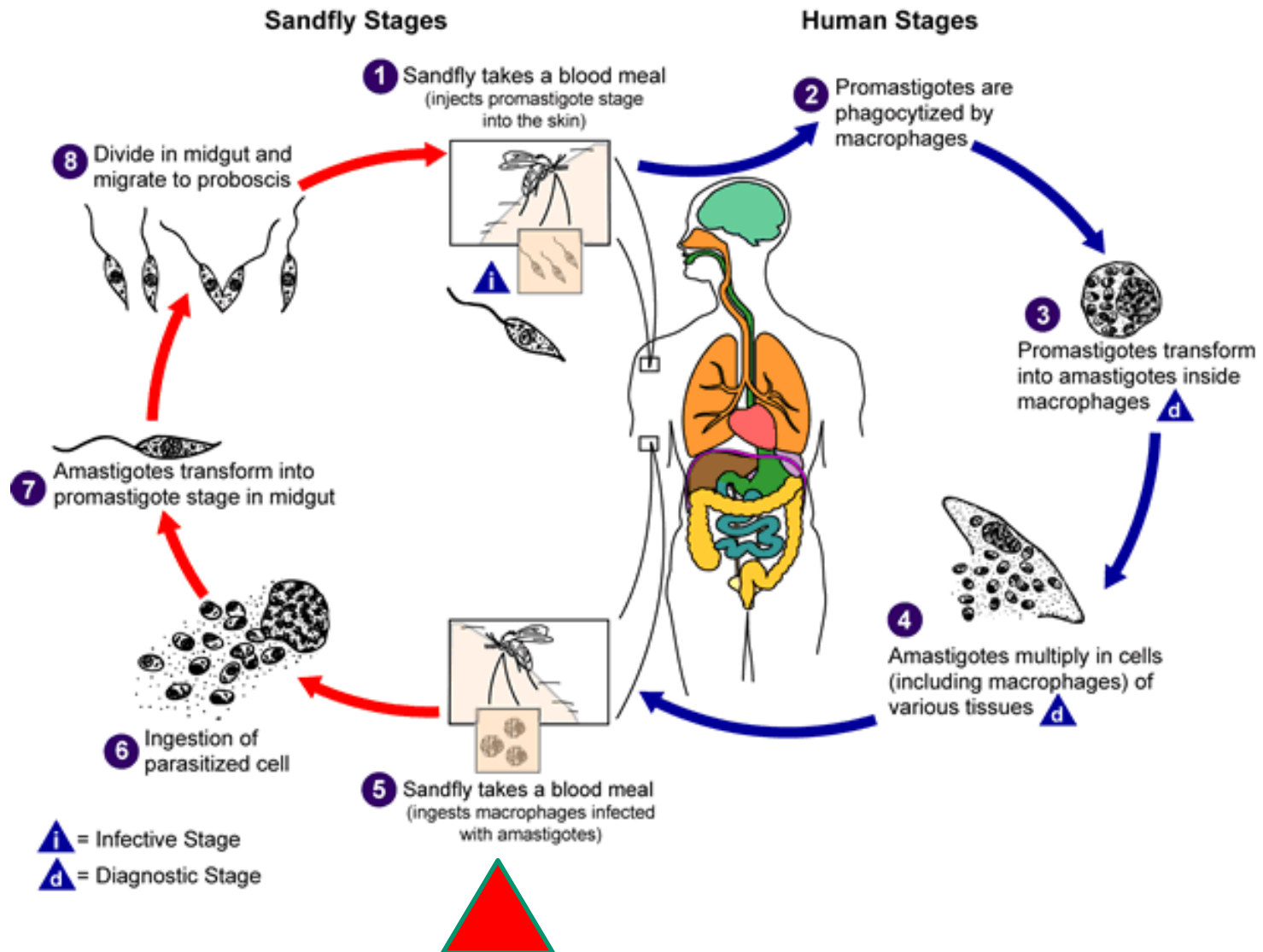
Habitat silvestre/peri-domiciar: lixos e escombros, rachaduras externas de habitações, solo úmido em matas ou florestas, cascas de árvores, tocas de roedores silvestres

Vetores de *Leishmania*- LT no Brasil

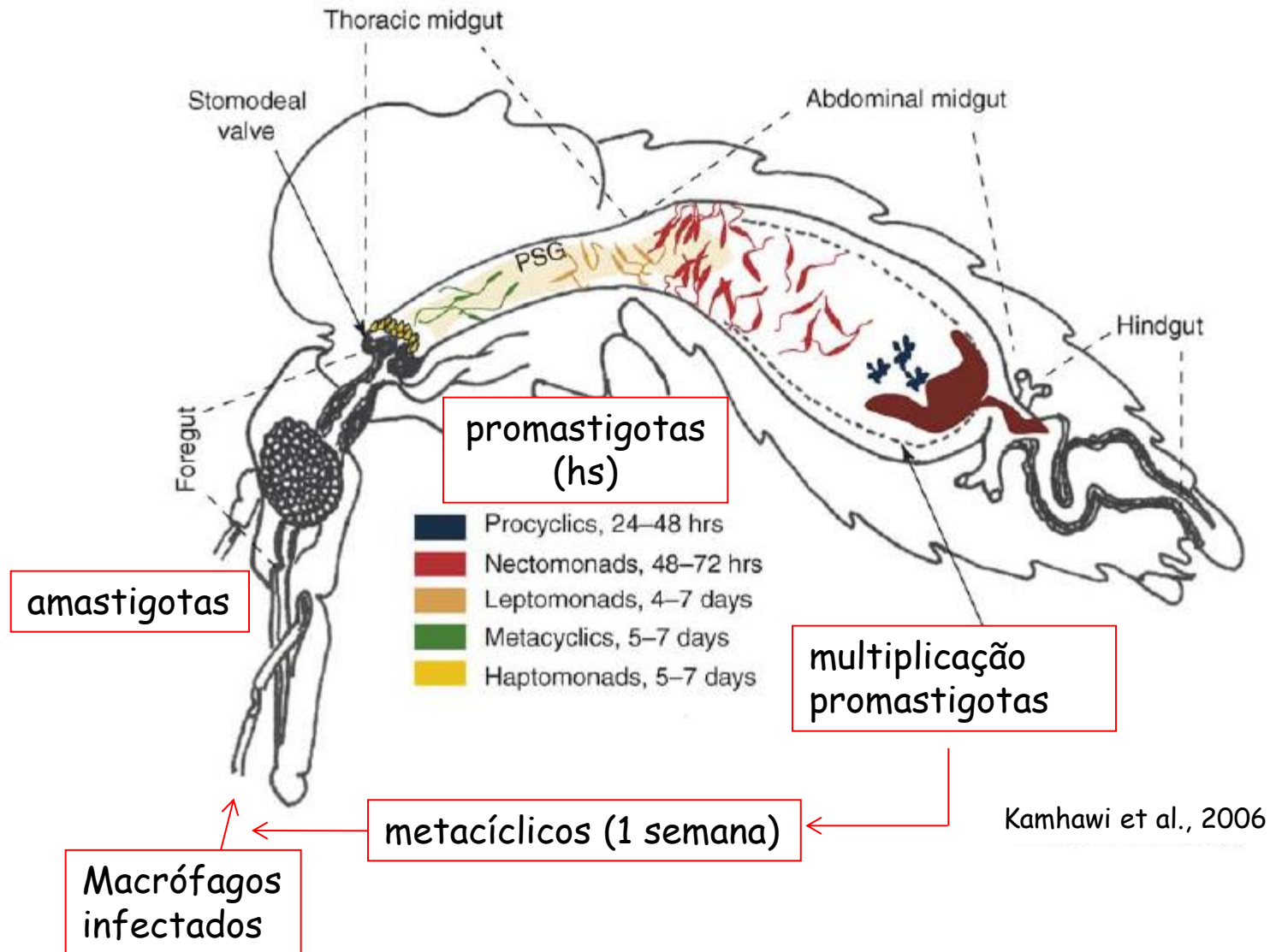


Vetor de *Leishmania*- LV: *Lutzomyia longipalpis*

CICLO



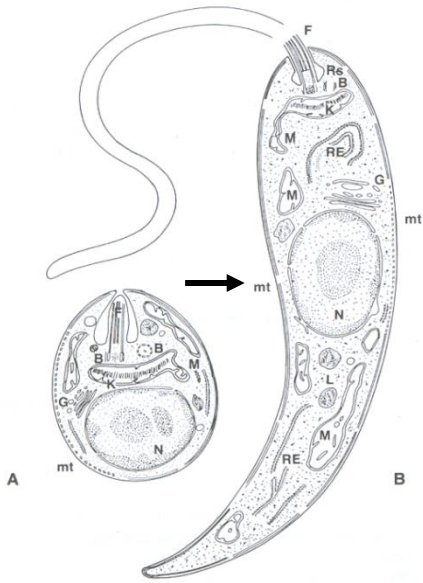
DESENVOLVIMENTO NO VETOR



Desenvolvimento no vetor: aproximadamente 10 dias

<http://www.youtube.com/watch?v=kRRlapcxDFs>

TRANSFORMAÇÃO AMASTIGOTA-PROMASTIGOTA



Cresce 5 vezes

Desenvolve um flagelo

Passa a ter LPG (lipofosfoglicano, molécula majoritária)

Aumenta gp63

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

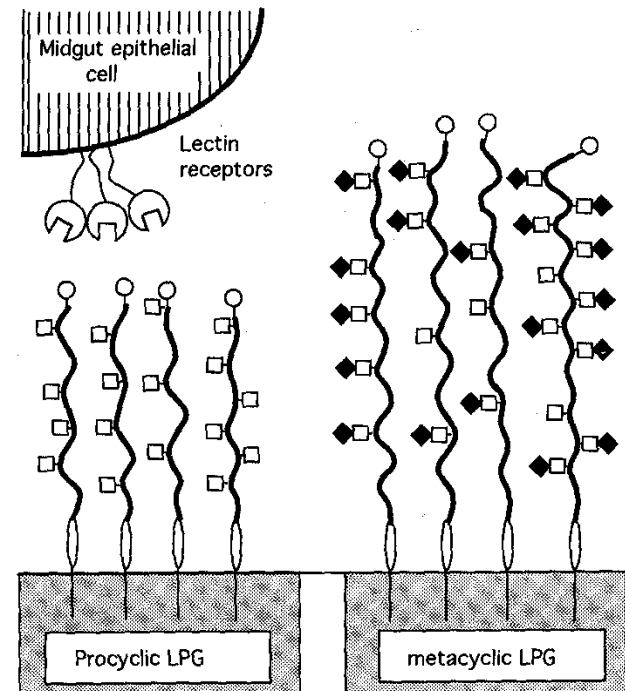
SOBREVIVÊNCIA NO VETOR

Metaciclogênese: vários estágios

LPG de promastigotas:

- Adesão do parasita ao intestino
- Muda na metaciclogênese- perda da adesão

-Diferenças entre espécies-
competência vetorial
(compatibilidade)



SOBREVIVÊNCIA NO VETOR

Conclusão da metaciclogênese: saliva e sangue

Migração para região anterior: açúcar e outros

Inóculo: **regurgitação** do aglomerado de metacíclicos devido ao "promastigote secretory gel (PSG) plug"

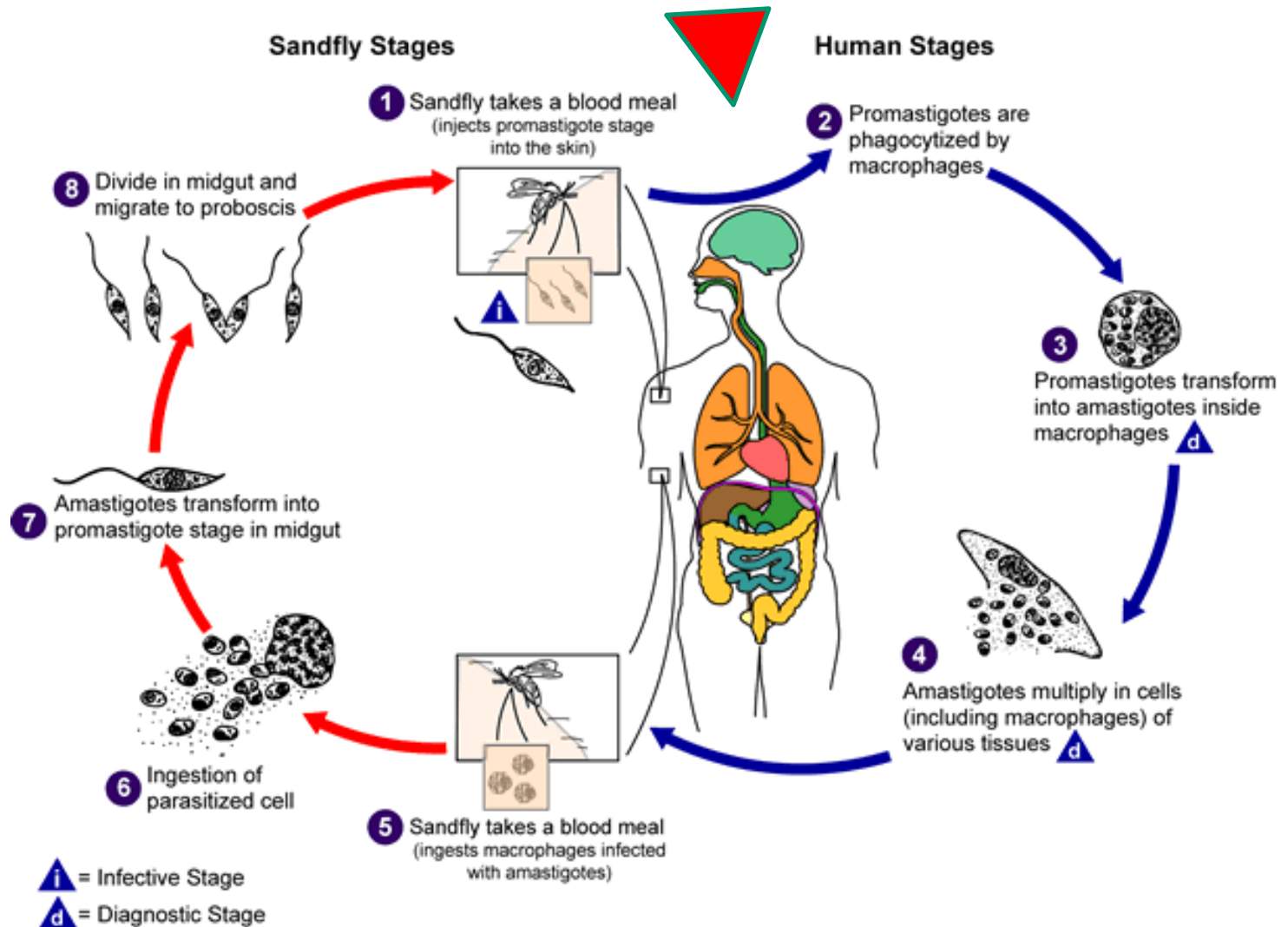
Saliva do vetor:

a. induz vasodilatação,

b. previne a coagulação,

c. tem propriedades imunomoduladoras e anti-inflamatórias (inibe ativação de macrófagos)

CICLO

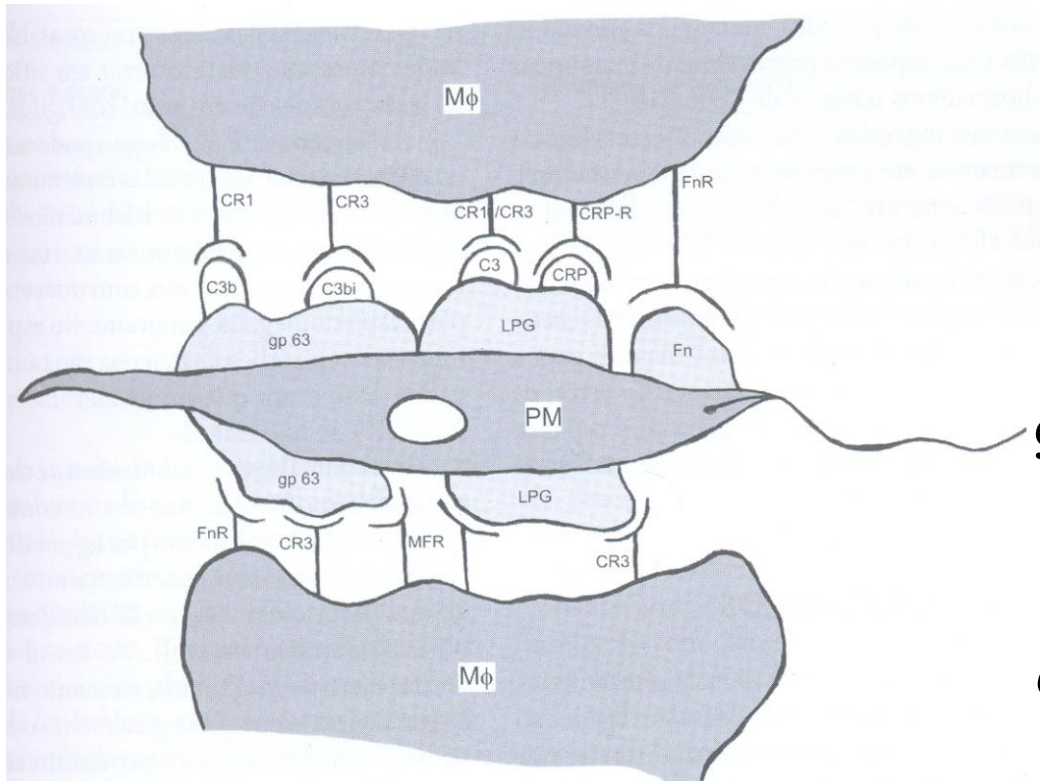


Intervalo?

<https://www.youtube.com/watch?v=AUUYsYNl-AY>

ADESÃO DE PROMASTIGOTA AO MACROFÁGO

Fagocitose "facilitada"



gp63, LPG, PPG, "PS-like"

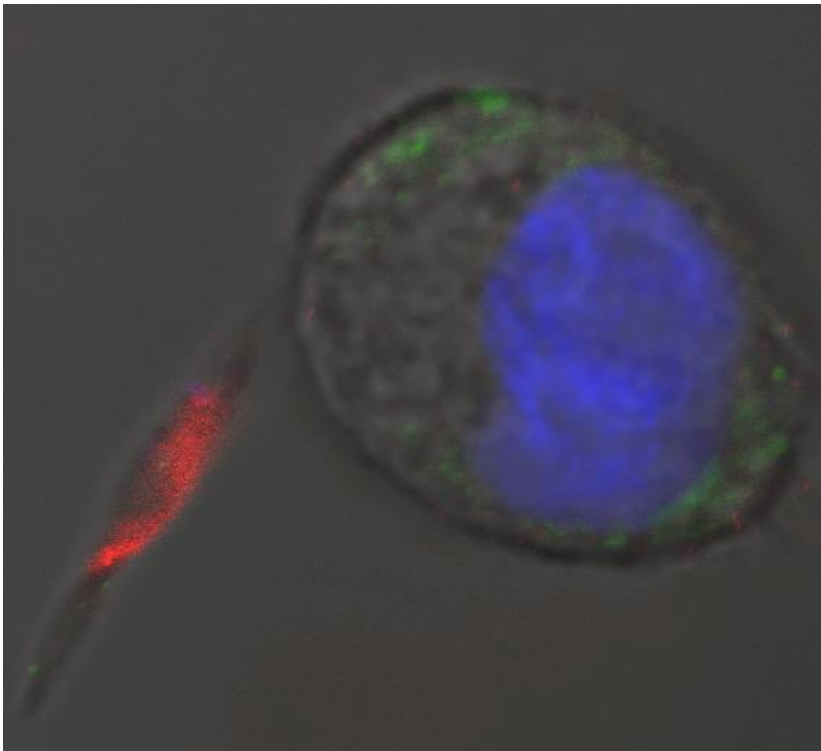
CR, FnR, MR, CRP, PS-R

SOBREVIVÊNCIA NO MACRÓFAGO

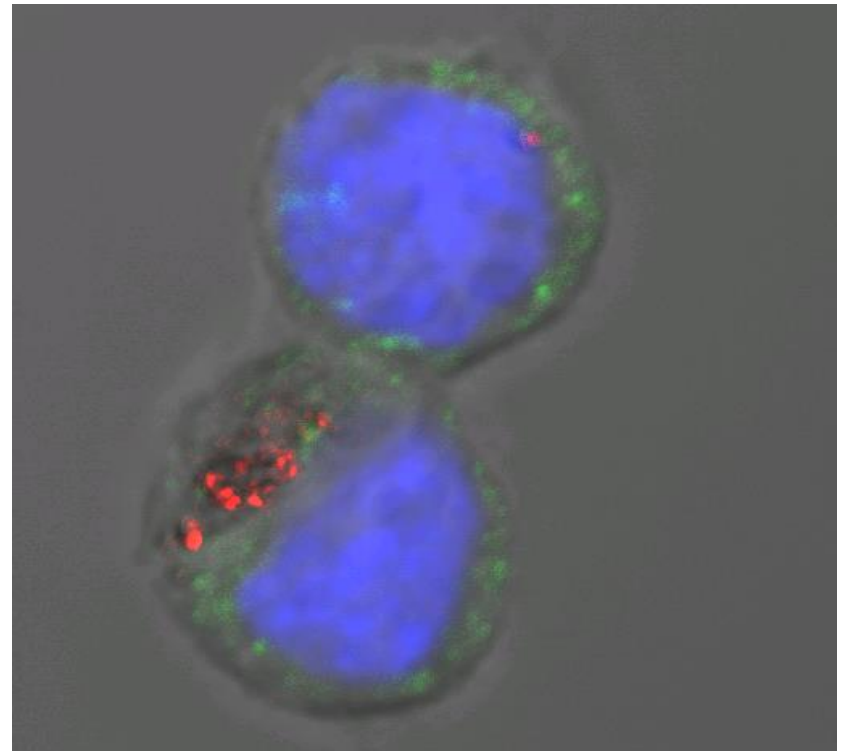
Após fagocitose (5 a 60min), promastigotas no vacúolo parasitóforo

Promastigotas → amastigotas

30min



4h



SOBREVIVÊNCIA NO MACRÓFAGO

- gp63 (protease) inativa complemento: C3b-C3bi
C3b e C3bi ligam CR3, entrada via CR3 inibe "burst" oxidativo
- gp63 e LPG protegem o parasita de enzimas lisossomais
- Diminuição de MHC II na superfície do macrófago
- Uso de IL-2 como fator de crescimento reduz inflamação (IFN γ , IL1)
- LPG induz TGF β e IL10, inibe produção NO e "burst oxidativo"
- Parasita tem SOD (superóxido dismutase): protege contra radicais superóxido

Mecanismos de evasão:

LPG inibe o burst oxidativo

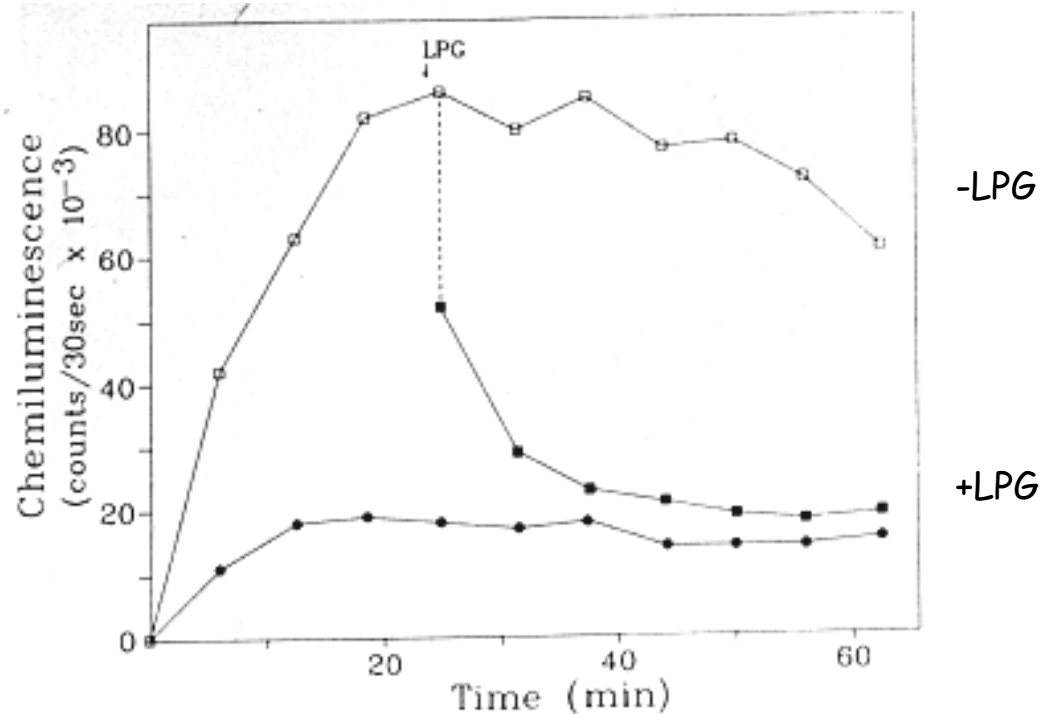
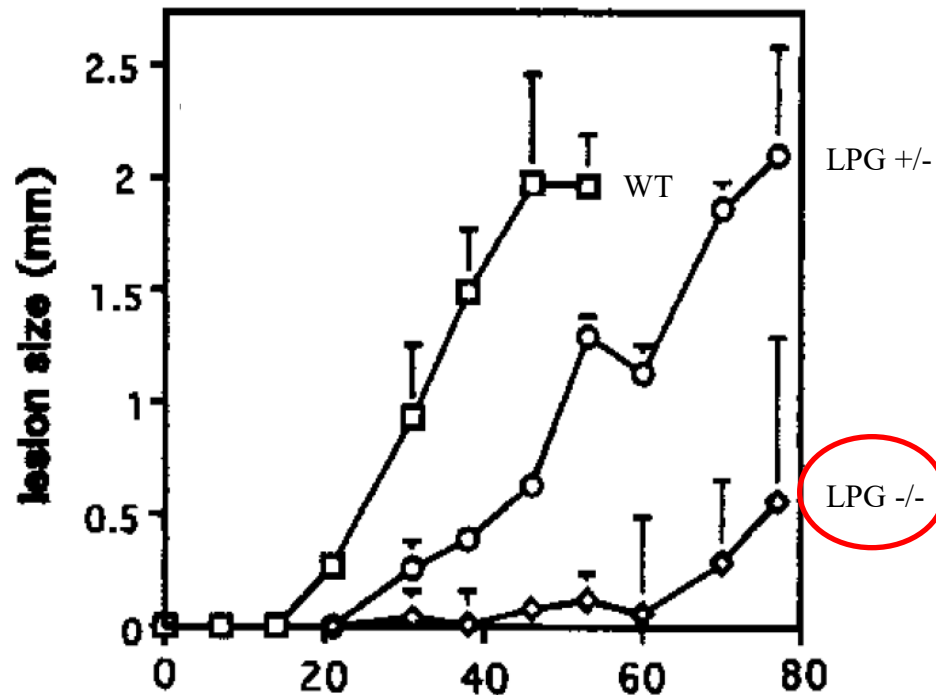


Figure 5. Attenuation of the oxidative burst in stimulated monocytes. Monocytes either in the presence (●—●) or absence (□—□) of LPG (100 μ M) were incubated for 10 min at 22°C and then stimulated by PMA (10 μ g/ml) and the oxidative burst measured. At the 20 min time point, LPG (100 μ M) was added to one set of monocytes (■—■) and an immediate drop in chemiluminescence was observed. Values plotted are the mean of duplicate values for a typical data set.

LPG é fator de virulência em algumas mas não todas spp de *Leishmania*

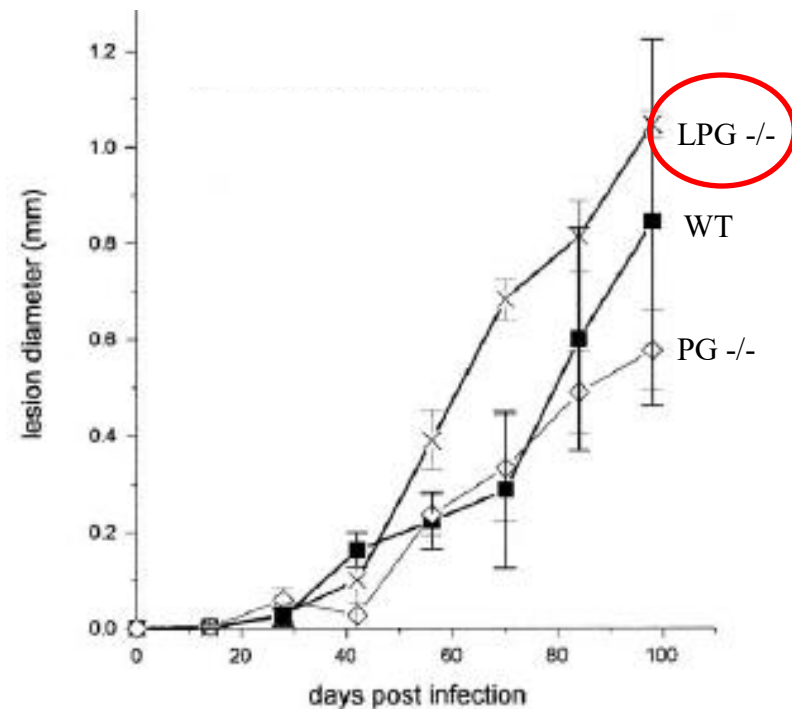


L. major



Spath et al., 2000

L. mexicana



Ilg et al., 2001

Mecanismos de escape do Sistema Imune

Fagocitose silenciosa via receptor de complemento
gp63 inativa complemento

Redução MHC II no macrófago

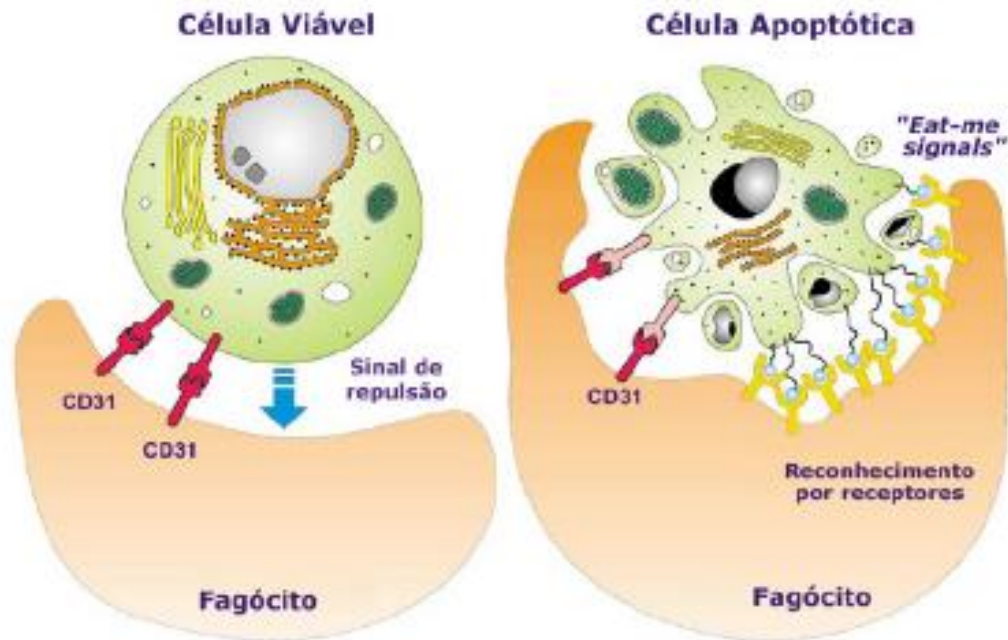
Uso de IL2, redução de IL1 e IFN γ

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

Apoptose e mimetismo apoptótico

Fagocitose por neutrófilos

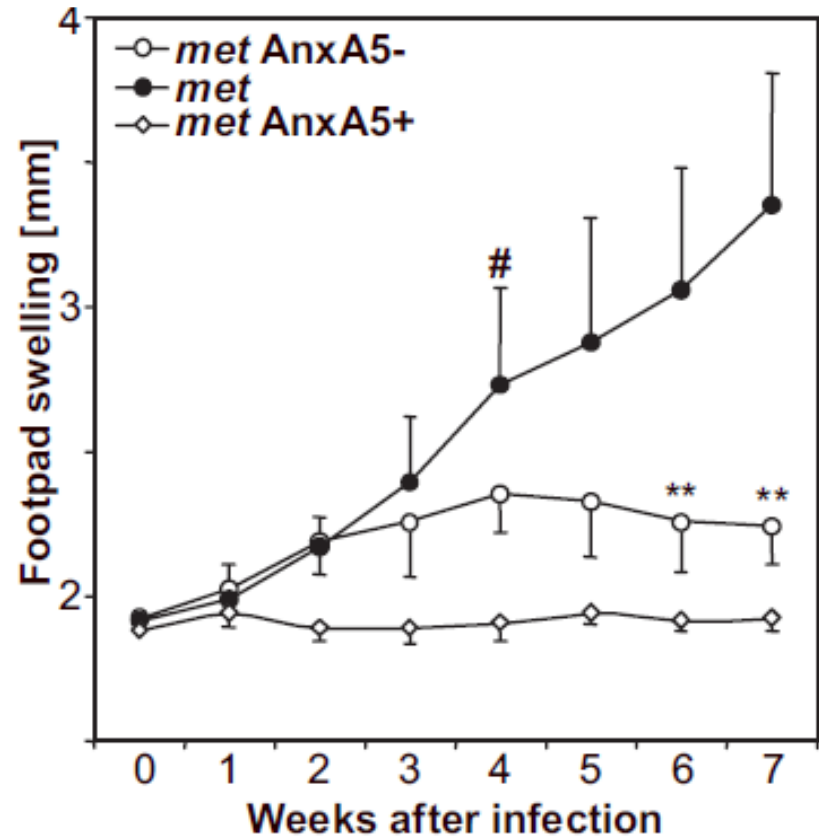
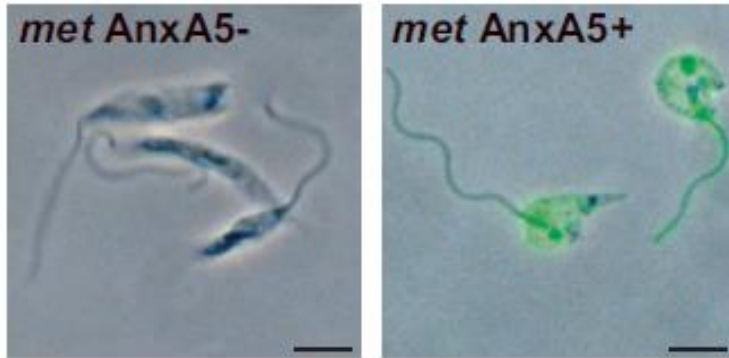
"Apoptose" (promastigotas)



Modificado de Lauber *et al.*, 2004

Deolindo, 2008

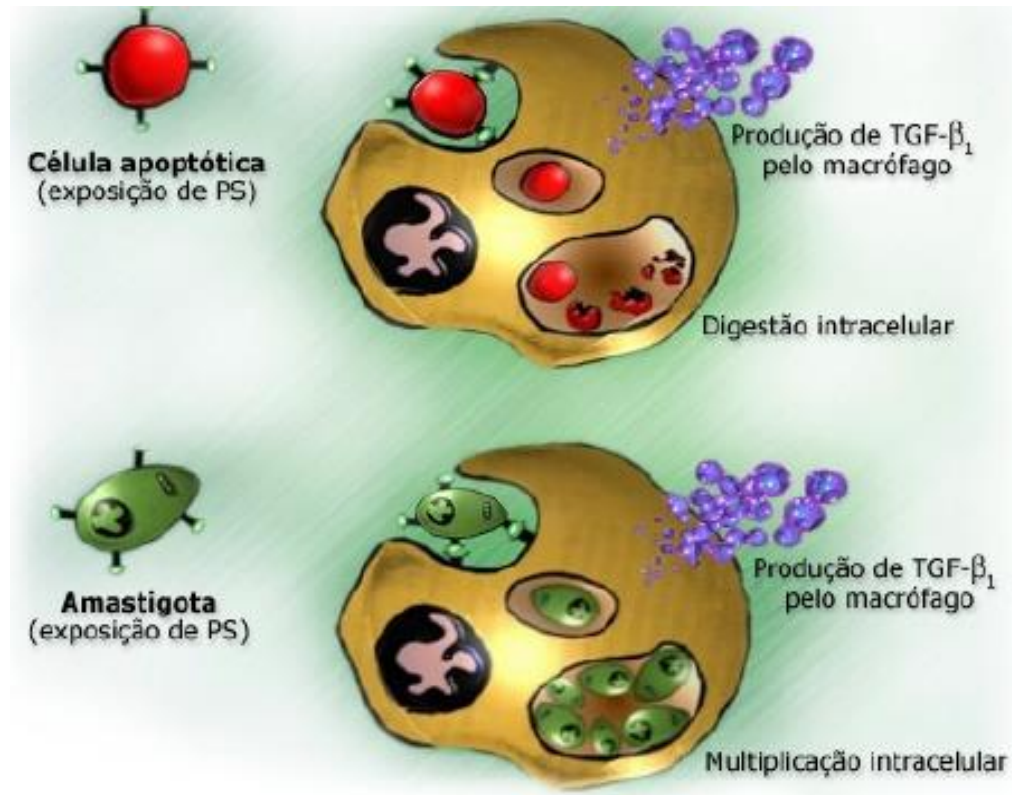
"Apoptose" (promastigotas)



Van Zandbergen et al., 2006

Promastigotas apoptóticos "altruístas" induzem $TGF\beta$ 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

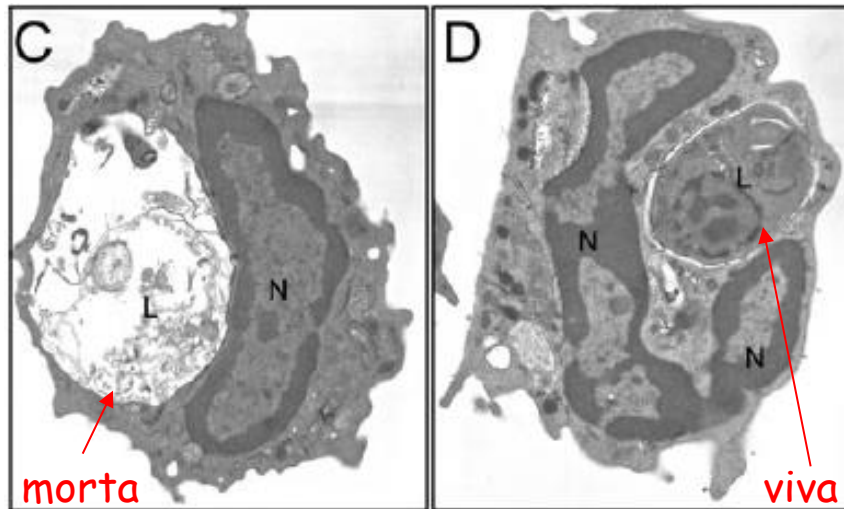


→ gregos

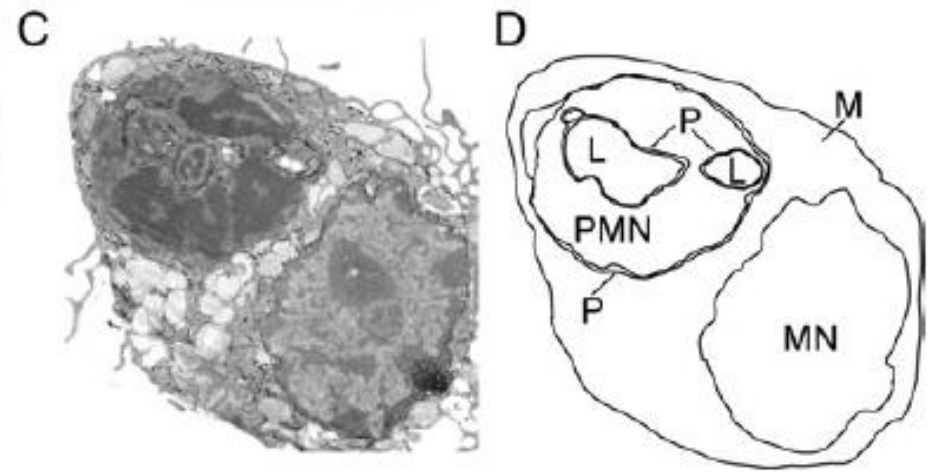
Troia, 1200-1300 a.C. (10 anos)

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 espécies?

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†‡}

Science, ago 2008

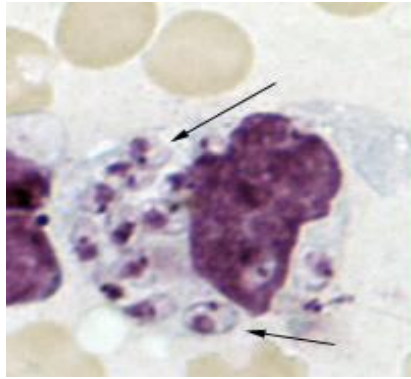
Neutrófilos (verdes) migram dos vasos (azuis) para local do inóculo de *L. major* (vermelha)

(filmagem iniciada 30min após infecção, acelerada 600x)



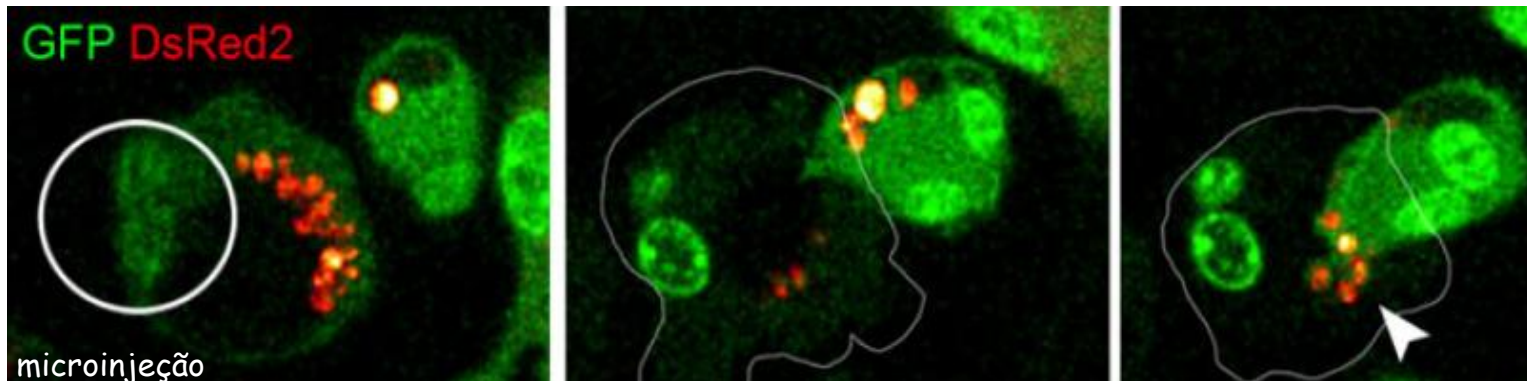
Saída de amastigotas dos macrófagos

Rompimento do macrófago



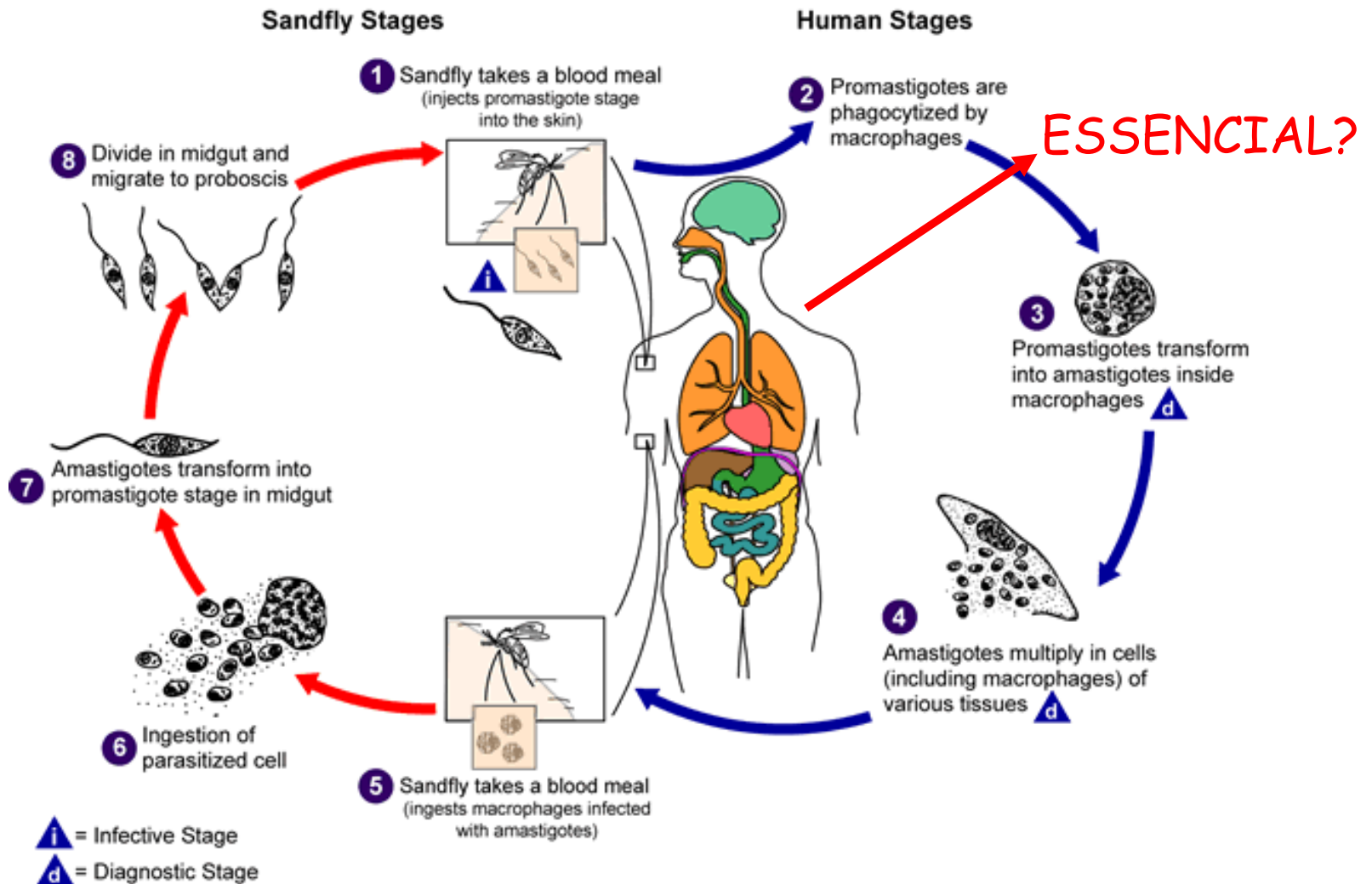
CDC

Transferência entre macrófagos



Real et al., 2014

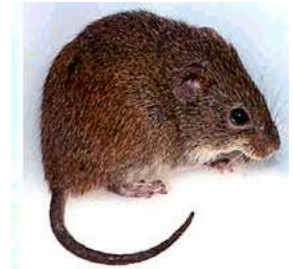
CICLO



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
L.amazonensis : marsupiais, pequenos roedores

RESERVATÓRIOS NA LEISHMANIOSE VISCERAL

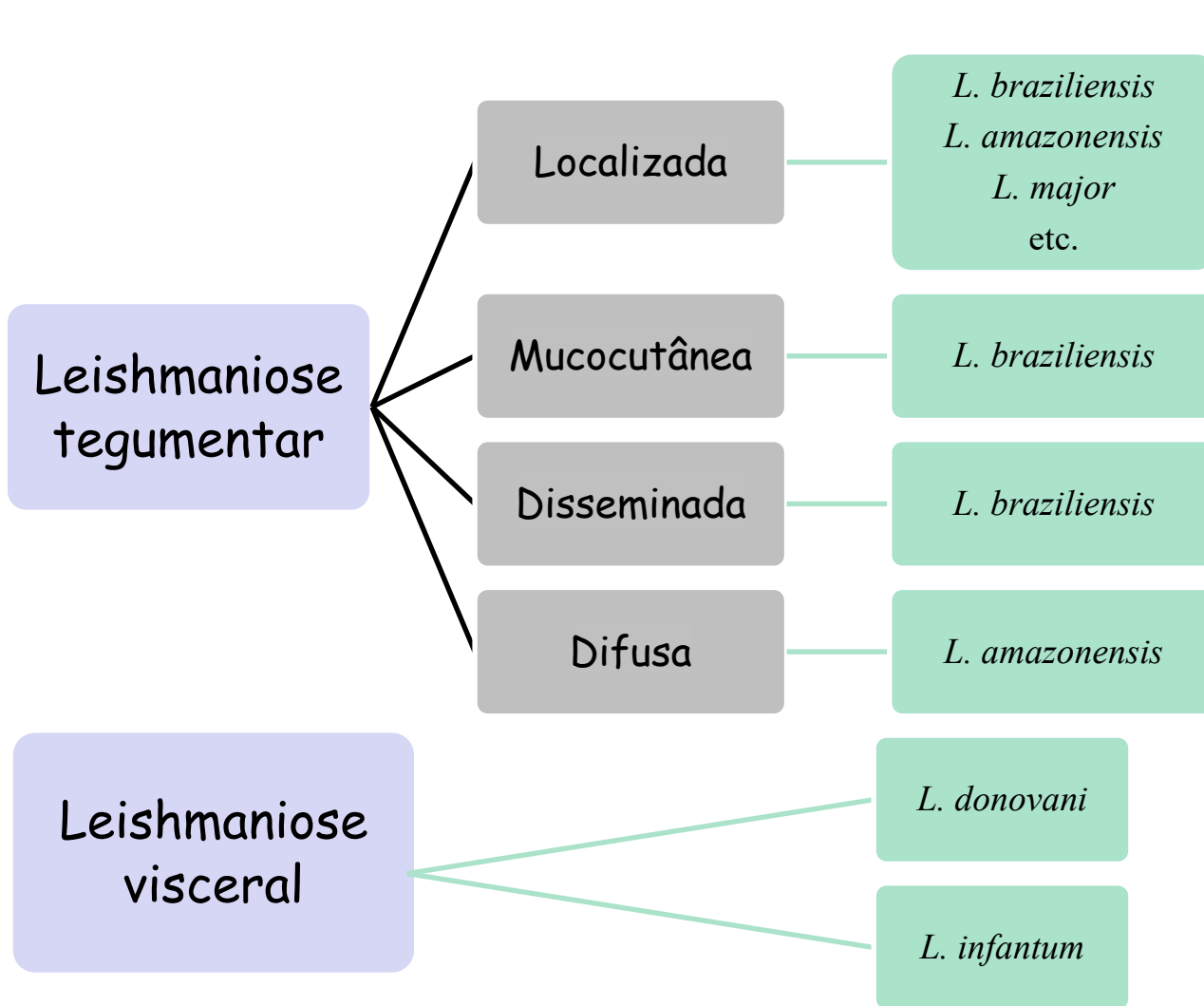
Visceral: canídeos (doença variável, 50% assintomáticos)
Muitos amastigotas em macrófagos da pele: importante
para transmissão

No Brasil:

L. Infantum : cães, raposas e provavelmente marsupiais



LEISHMANIOSE- Síndromes clínicas



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
- 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

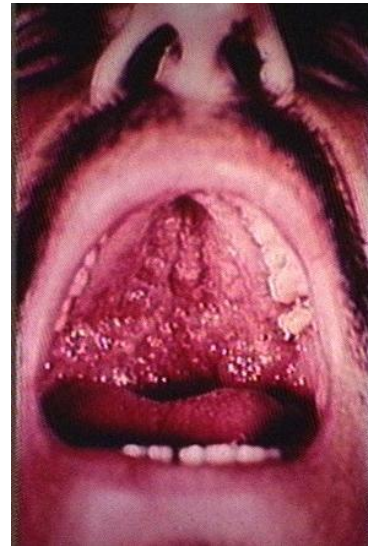




Figura pré-colombiana (séc I AC)
mostrando os efeitos do "huaco"



Quadro clínico-forma visceral (calazar)

L. (L.) infantum

- No Brasil crianças são grupo de risco
- Infecção sistema FM baço, fígado 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



Importância da Resposta imune

RECIPROCAL EXPRESSION OF INTERFERON γ OR INTERLEUKIN 4 DURING THE RESOLUTION OR PROGRESSION OF MURINE LEISHMANIASIS

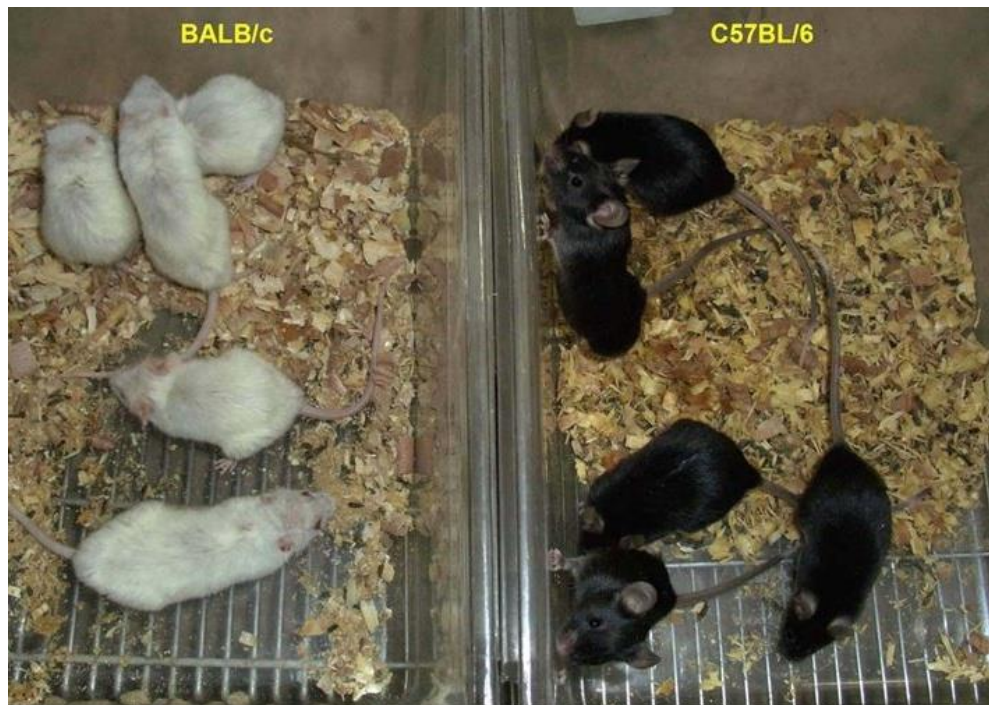
Evidence for Expansion of Distinct Helper T Cell Subsets

By FREDERICK P. HEINZEL,* MICHAEL D. SADICK,* BETTIE J. HOLADAY,*
ROBERT L. COFFMAN,[†] AND RICHARD M. LOCKSLEY*

J. EXP. MED. © The Rockefeller University Press

Volume 169 January 1989 59-72

Leishmania major



Importância da Resposta imune

Leishmania major

Macrófago infectado

Ativação do "burst respiratório" e produção de NO

Apresentação de antígenos na superfície

Respostas

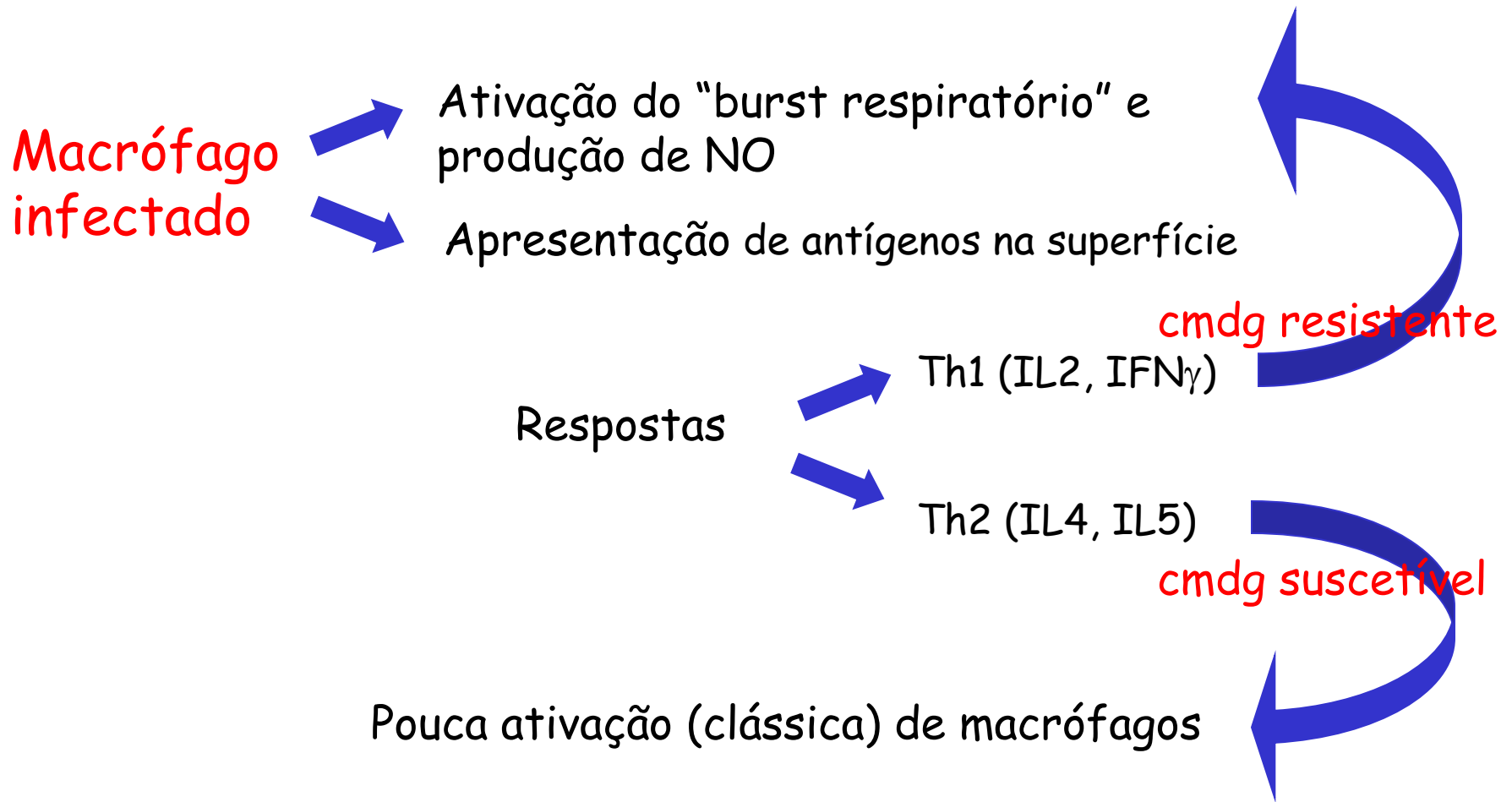
Th1 (IL2, IFN γ)

Th2 (IL4, IL5)

cmdg resistente

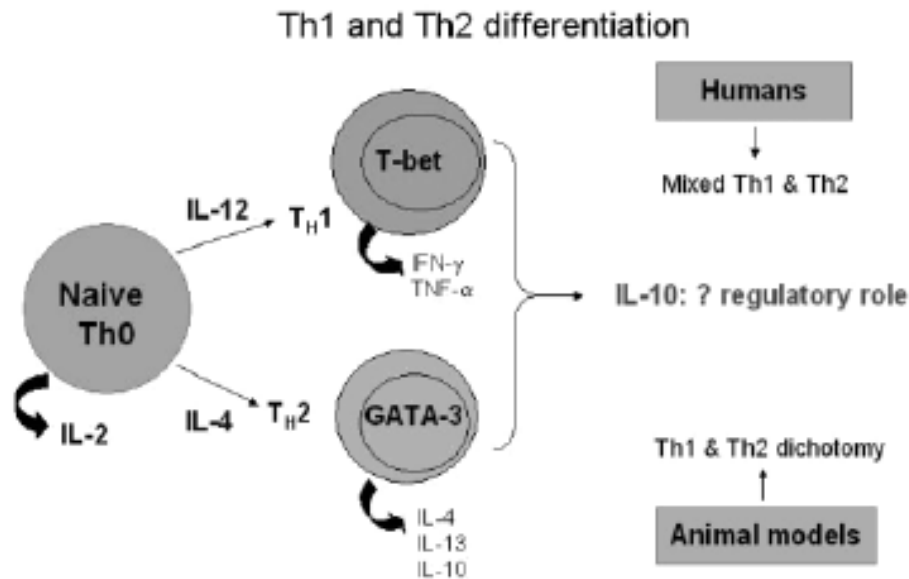
cmdg suscetível

Pouca ativação (clássica) de macrófagos

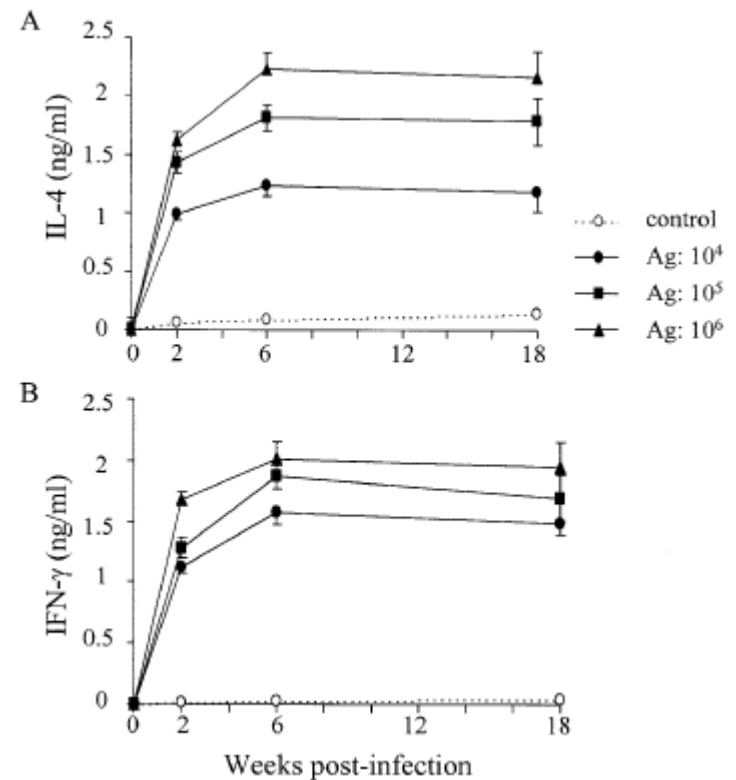


Homem $\neq$ camundongo, *L. amazonensis* $\neq$ *L. major*

L. major



L. amazonensis em
BALB/C: resposta Th1/Th2



DIAGNÓSTICO

1- Parasitológico

LT- raspado/biópsia da lesão

LV- aspirado de medula óssea/baço/fígado

Pesquisa direta: imprint, esfregaço, histopatológico
Cultura

DIAGNÓSTICO

2- Imunodiagnóstico: pesquisa de anticorpos específicos contra o parasita

- Teste imunocromatográfico (teste rápido IT-Leish®)
- Imunofluorescência, ELISA
- Imunohistoquímica
- Reação intradérmica= Resposta celular após 48h (hipersensibilidade tardia) Teste de Montenegro (1926)
- Aglutinação direta

Teste imunocromatográfico (teste rápido IT-Leish®) (baseado no antígeno k39- cinesina)

Uso para LV



sensibilidade 93%
especificidade 97%



Possível uso em saliva! Vaish et al., 2012

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 muito cara
- Interage com ergosterol da membrana do parasita, tornando-a permeável

Pouca resistência

3. Pentamidina:

- Intravenosa, tóxica
 - Altera a estrutura do cinetoplasto e síntese de DNA, RNA, fosfolípidios e proteínas
- Resistência na Índia

4. Miltefosina: primeira droga oral

Teratogênica (proibida para gestantes). Desde 2002
Bom na Índia, variável nas Américas. Resistência

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

Tratamentos disponíveis:

difícil administração, longos, tóxicos, caros, resistência

≠

Tratamento ideal:

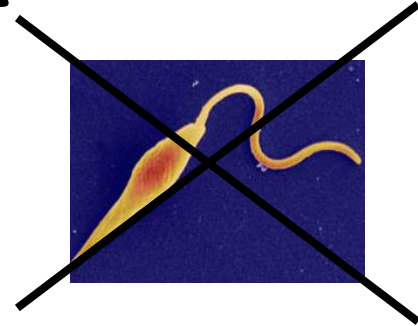
oral, seguro, eficaz, baixo custo, curta duração (~10 dias)

PERSPECTIVAS DE TRATAMENTO?

Índia: tinha 50% dos casos do mundo de LV; Bihar: 90% dos casos indianos



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-Mudança de hábitos/habitações, reduzir desmatamento

VACINAS

Vacinação com parasitas de lesão mortos/atenuados-
"leishmanização"- confere proteção
Fase clínica, mas tem risco

Vacina de proteína recombinante
Resultados pouco animadores

Vacina de DNA- pouco imunogênica em humanos

Vacina com moléculas da saliva do vetor: proteção em
camundongo

Parasitas atenuados geneticamente- promissor em modelo
murino

VACINAS EM CÃES



Particular:

Leish-Tec® = Vacina Recombinante contra Leishmaniose Visceral Canina

Animais soronegativos, preventiva

No mercado desde 2007, única disponível no momento, 96% eficácia

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

<http://revistapesquisa.fapesp.br/2018/06/15/um-parasita-chega-as-metropoles/>

A eutanásia de cães infectados, prática recomendada pelo governo como forma de controle da leishmaniose visceral, “está cada vez menos sendo considerada”. A eutanásia se mostrou pouco eficiente por causa da alta taxa de reposição de cães infectados por outros, principalmente filhotes, mais suscetíveis ao parasita. Além disso, os proprietários dos animais podem assumir o tratamento com a droga miltefosina, aprovada para uso veterinário em 2017. A medicação tem um custo inicial de cerca de R\$ 2 mil por mês e não elimina totalmente os parasitas.

Como estratégia adicional de controle da leishmaniose, o governo federal está avaliando a possibilidade de distribuir a partir de 2019 coleiras impregnadas com 4% de inseticida no controle de leishmaniose visceral em áreas de maior risco de transmissão. “O uso das coleiras tem um impacto maior que a eutanásia na redução da transmissão da leishmaniose visceral”

Cada coleira custa em média R\$ 100 reais, com efeito variável de quatro a seis meses. “A coleira protege os cães saudáveis e evita a transmissão nos infectados”
Uso da coleira em cerca de 10 mil cães, infectados ou não, em Votuporanga (noroeste do estado de São Paulo)- taxa de infecção nos cães caiu de 12% em 2014 para 1,5% no final de 2015

EXPERT Q&A: HOW INDIA TOOK ON A DEADLY NEGLECTED TROPICAL DISEASE

An expert in neglected tropical diseases explains how India has dramatically reduced cases of a deadly disease called visceral leishmaniasis, and how other countries can learn from their approach.



Reivindicamos novos tratamentos e mais investimentos em pesquisa e inovação."

Moacir Zini, Mato Grosso, Brasil

Leishmaniose MATA

Foto: Mariana Abdalla/DNDi

Nota de pesar: A DNDi lamenta o falecimento de Moacir Antônio Zini, em dezembro de 2020, por complicações decorrentes da leishmaniose cutânea difusa. Mais do que paciente, ele foi líder: transformou uma batalha de duas décadas contra a doença em militância, fundando a primeira associação brasileira para pessoas que vivem com

leishmanioses (ABRAPLeish). Também participou de inúmeros eventos científicos e políticos, entre eles a edição de 2016 do DNDi Partners' Meeting, no Rio de Janeiro.

Expressamos nossas condolências à família e aos amigos de Moacir Zini. Sua história de luta permanece conosco.