

Leishmaniose

Profa Alessandra Barone
Prof. Archangelo Fernandes
www.profbio.com.br

Taxonomia

- Reino: Protozoa
- Filo: Sarcomastigophora
- Classe: Zoomastigophorea
- Ordem: Kinetoplastida
- Família: Trypanosomatidae
- Gênero: *Leishmania*
- Subgênero: *Viannia* e *Leishmania*
- Espécie: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (Leishmania) amazonensis*, entre outras

Leishmaniose

- Doença transmitida ao homem através de insetos flebotomíneos que inoculam através de picada, o parasito do gênero *Leishmania*.
- Afetam o sistema fagocítico mononuclear.
- Podem ser encontradas em quatro formas diferentes:
 - Leishmaniose cutânea
 - Leishmaniose cutaneomucosa
 - Leishmaniose cutâneo difusa
 - Leishmaniose visceral ou calazar

Leishmaniose

- **Leishmaniose cutânea**

- Produzem exclusivamente lesões cutâneas, ulcerosas ou não, porém limitadas.

- **Leishmaniose cutaneomucosa**

- Aparecimento de lesões ulcerosas destrutivas das mucosas do nariz, boca e faringe.

- **Leishmaniose cutânea difusa**

- Formas disseminadas, não ulcerosas que aparecem tarde em pacientes tratados de calazar.

- **Leishmaniose visceral ou calazar**

- Parasitos apresentam tropismo pelo SFM do baço, fígado, medula óssea e tecidos linfóides.

Agente etiológico

- Classificação atual: segundo a localização dos promastigotas no intestino do flebotomíneo
 - Subgênero Viannia: desenvolvimento limitado ao intestino médio e anterior
 - EX: *Leishmania (Viannia) braziliensis*
 - Subgênero Leishmania: desenvolvimento nas regiões posterior, média e anterior
 - Ex: *Leishmania (Leishmania) amazonensis*

Agente etiológico

- Complexo *Leishmania braziliensis*
 - *L.(V.) braziliensis*- cutânea e cutaneomucosa
 - *L. (V.) guyanensis* – cutânea e cutaneomucosa
 - *L. (V.) lainsoni* – cutânea
 - *L. (V.) Shawi*, etc

Agente etiológico

- Complexo *Leishmania mexicana*
 - *L. (Leishmania) mexicana* – cutânea e cutânea difusa
 - *L. (Leishmania) amazonensis* – cutânea e cutânea difusa *
 - *L. (Leishmania) pifanoi* – cutânea e cutânea difusa
 - Etc...

* relativamente raro no homem – vetores de hábitos noturnos e pouco antropofílicos. Preferência por roedores

Distribuição de espécies
de *Leishmania*
responsáveis pela
transmissão da
leishmaniose
tegumentar americana,
Brasil – 2005



Fonte: SVS/MS

Agente etiológico

- Complexo Leishmania donovani (visceral)
 - *Leishmania (Leishmania) infantum donovani*
 - *Leishmania (Leishmania) infantum infantum*
 - *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*
- Complexo tropica – Velho mundo - cutâneas
 - *Leishmania (Leishmania) tropica*
 - *Leishmania (Leishmania) major*
 - *Leishmania (Leishmania) aethiopica* – cutânea e cutânea difusa

Leishmaniose

- Endêmica em todos os estados brasileiros, exceto RS
- Crescente urbanização
- Encontrada em mais de 80 países
- Segundo a OMS, 12 milhões de novos casos anualmente.

Morfologia

- Formas amastigotas
 - Habitat: vacúolo digestivo das células do SMF do hospedeiro vertebrado
 - Cinetoplasto em forma de bastão e próximo ao núcleo
 - São pequenos, ovais e levemente achatados
 - Não possuem flagelo livre
 - Bolsa flagelar – invaginação da superfície do parasito
 - Reprodução por divisão binária
 - 1,5 µm a 3,0µm x 3,0 µm a 6,5 µm

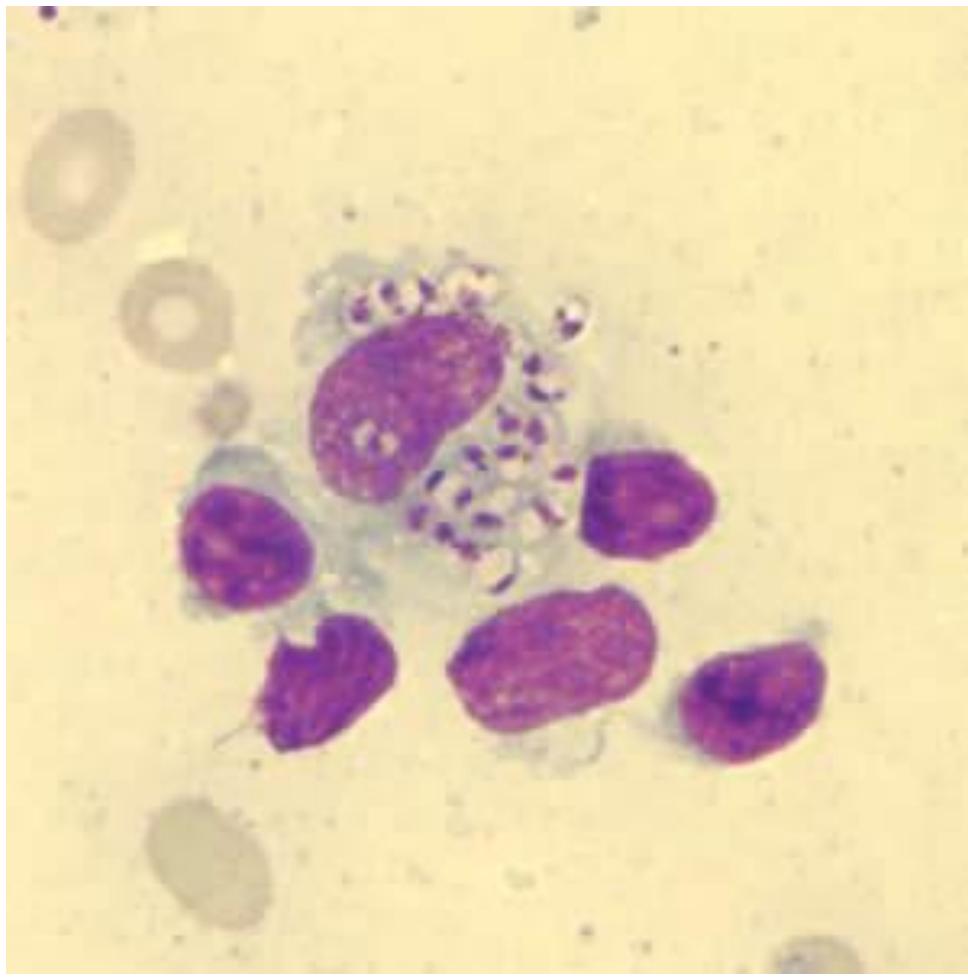


Ilustração disponível em:http://www.dpd.cdc.gov/dpdx/html/ImageLibrary/Leishmaniasis_il.htm

Morfologia

- Promastigotas
 - São extracelulares
 - Habitat: intestino do hospedeiro invertebrado
 - Possuem cinetoplasto oval na região anterior e distante do núcleo
 - Possuem flagelo livre na região anterior
 - Tamanho variável: 16 µm a 40 µm x 1,5 µm a 3,0 µm

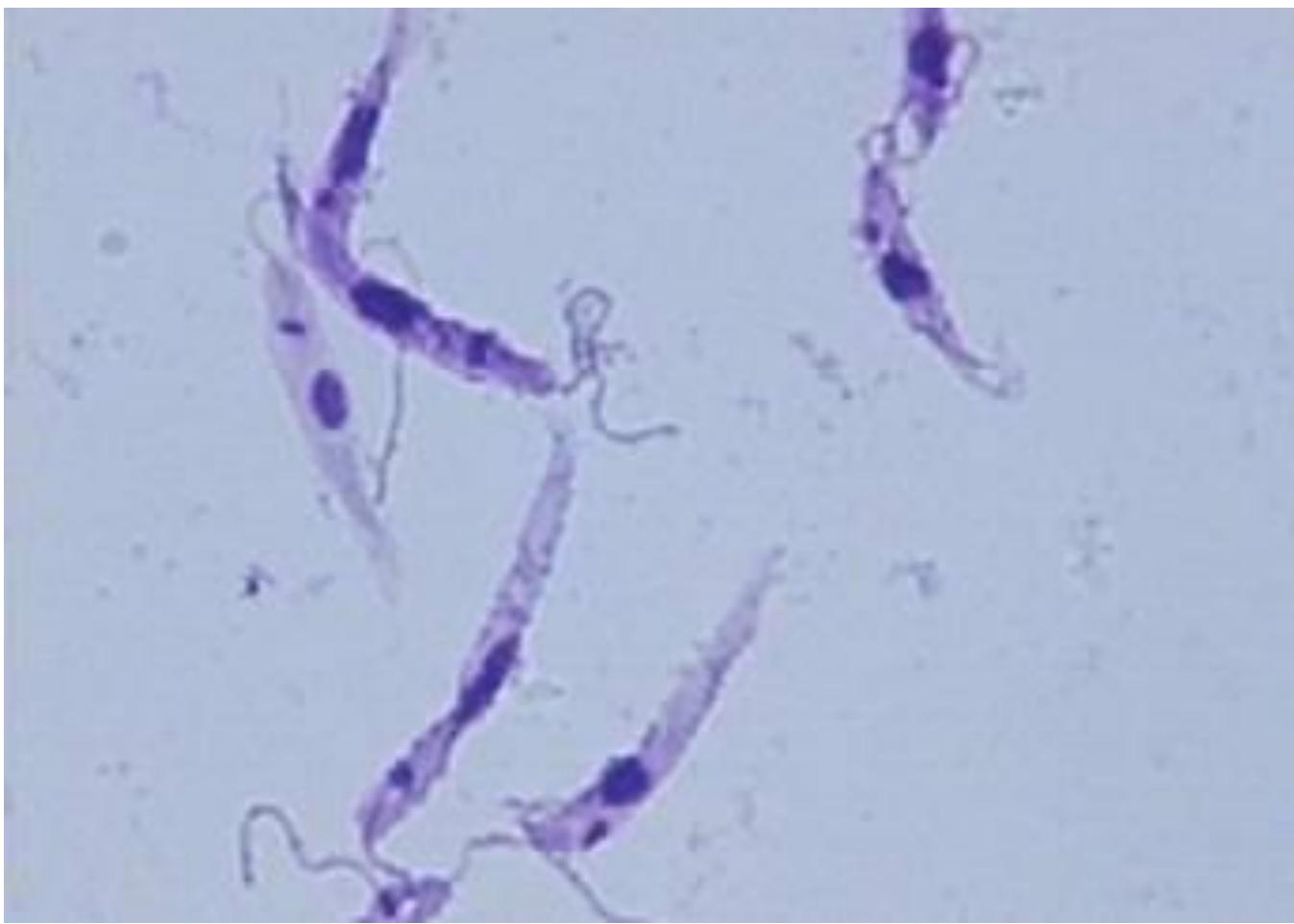


Ilustração disponível em http://www.fcfrp.usp.br/dactb/Parasitologia/Arquivos/Genero_Leishmania.htm

Morfologia

- Paramastigotas
 - Ovais ou arredondadas
 - Pequeno flagelo livre
 - Cinetoplasto na região mediana próximo ao núcleo
 - Ficam aderidas pelo flagelo ao trato digestivo do hospedeiro invertebrado.
 - 5,0 µm a 10 µm x 4,0 µm a 6,0 µm

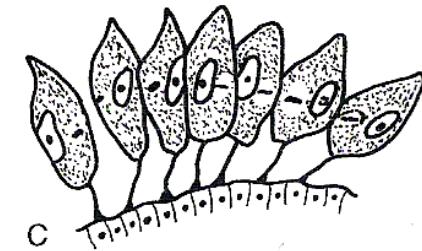
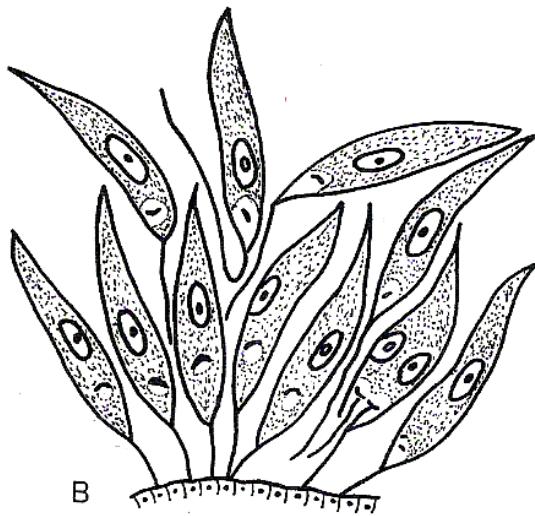
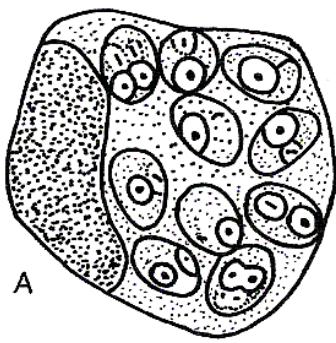


Ilustração disponível em Neves, 2005

amastigota

promastigota

paramastigota

Vetores

- Dípteros da família Psychodidae (ou Phlebotomidae) e subfamília Phlebotominae.
- Gênero:
 - *Lutzomyia* - Novo mundo
 - *Phlebotomus* - África, Europa e Ásia
- Criam-se em matéria orgânica em decomposição

Vetores

- Somente as fêmeas são hematófagas
- Possuem atividade crepuscular e noturna
- No Brasil são conhecidos como mosquito palha, cangalhinha,birigui, asa branca...
- Medem 2 a 4 mm de comprimento.
- Corpo coberto de pelos finos.

Vetores

- Quando em repouso, as asas são mantidas em posição semi-ereta.
- Cabeça forma ângulo de 90° com o tórax
- Extremidade posterior das fêmeas é pontuda e dos machos, bifurcada.
- São holometábolos com formação de ovo, larva (L1 a L4), pupa e forma adulta.



macho

fêmea

Phlebotomus



Ilustração disponível em <http://ruby.fgcu.edu/courses/davidb/50249/web/fly1.htm>

Fêmea do flebotomíneo ingurgitada





Lutzomyia longipalpis
(mosquito-palha)



Ilustração disponível no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral, 2006. Ministério da saúde

Lutzomyia



Ilustração disponível em http://en.wikipedia.org/wiki/File:Lutzomyia_longipalpis-sandfly.jpg

Vetor

- A digestão do sangue dura em torno de 72 horas em média, dependendo da espécie.
- Após o sangue ser digerido e os ovos estarem amadurecidos, a grande maioria das fêmeas morrem após a postura dos ovos.
- As poucas fêmeas sobreviventes necessitam realizar uma segunda alimentação sanguínea, para da mesma forma maturarem seus ovos: é neste momento que elas transmitem a leishmaniose, pois no ato da picada injetam as formas flageladas (os protozoários) na corrente sanguínea de sua vítima.

Vetor

- Algumas espécies encontradas no Brasil:
 - *Lutzomyia whitmani* – AM, SP, MG e ES
 - *Lutzomyia wellcomei* – PA
 - *Lutzomyia intermedia* – RJ , MG, ES e SP
 - *Lutzomyia umbratilis* – AM e PA
 - *Lutzomyia migonei* - SP . MG e ES
 - *Lutzomyia flaviscutllata* - AM

Reservatório

- Reservatório silvestre: roedores (ratos silvestres e capivaras) ,marsupiais (gambás), edentados(tatus) e canídeos silvestres(raposa e lobo)
- “Reservatório” doméstico: cão
- Hospedeiro acidental: homem

Ciclo evolutivo

- O parasito é transmitido através da picada da fêmea do flebotomíneo infectado.
- A saliva do inseto apresenta substâncias quimiotáticas para monócito, neuropeptídeos vasodilatadores que facilitam a ingestão ao mesmo tempo que imunossuprimem a resposta do hospedeiro inibindo a apresentação de抗ígenos.
- Na hora do repasto, a fêmea inocula as formas promastigotas metacíclicas provenientes da região anterior do trato digestivo.

Ciclo evolutivo

Hospedeiro vertebrado

- Fagocitose das formas promastigotas: 4 a 8hrs.
- Diferenciação das formas promastigotas em amastigotas dentro do vacúolo fagocítico: 24 hrs.
- Reprodução por divisão binária das formas amastigotas.
- Rompimento do macrófago.
- Resposta inflamatória e início de um novo ciclo.

Ciclo evolutivo

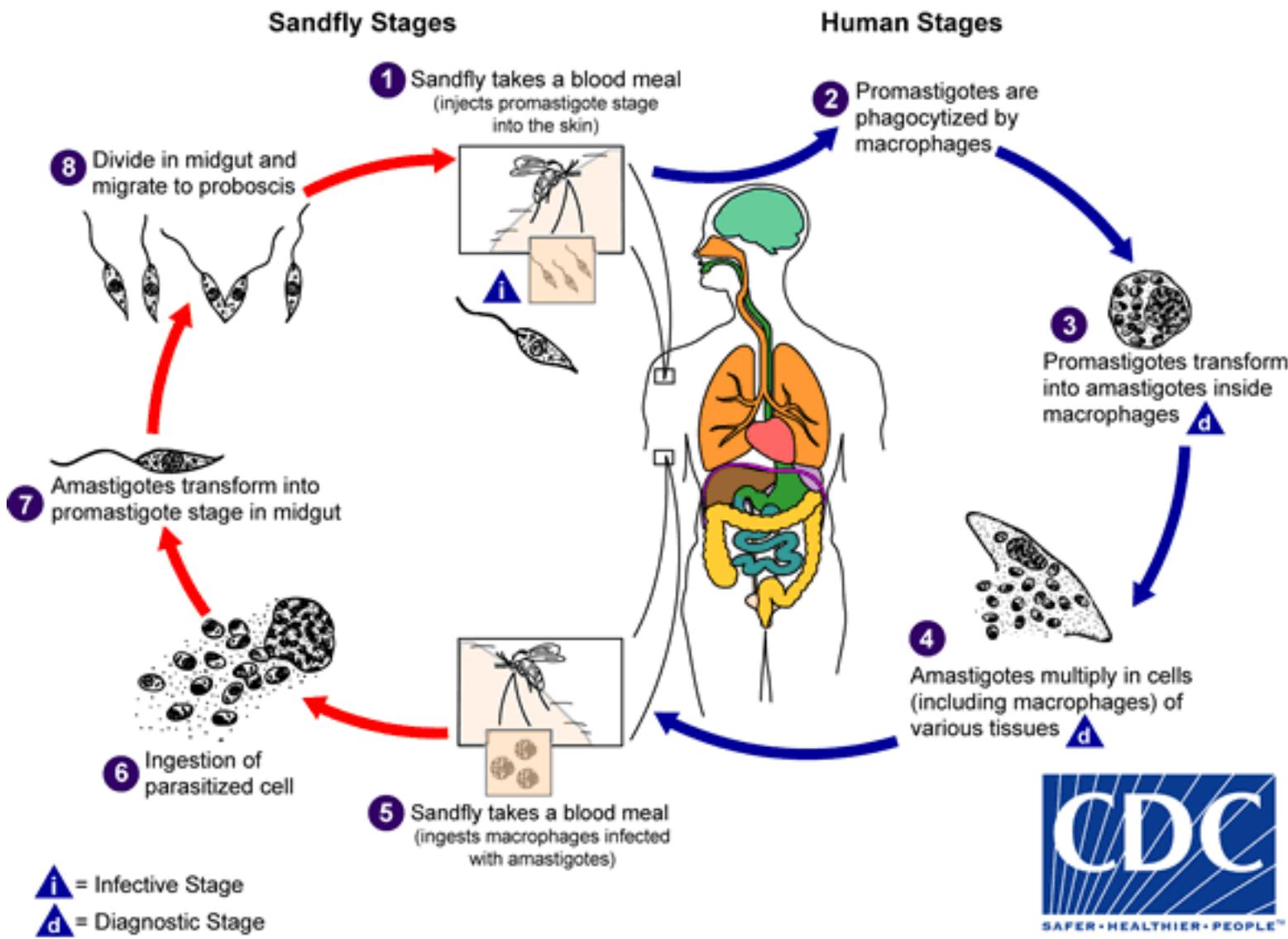
Hospedeiro invertebrado

- Picada do inseto e ingestão de células parasitadas com as formas amastigotas (sangue ou linfa).
- Formação da membrana peritrófica secretada pelas células epiteliais do trato digestivo do vetor.
 - Parasito é protegido pela ação da LPG contra degradação enzimática
- Transformação das amastigotas em promastigotas com posterior divisão binária.

Ciclo evolutivo

Hospedeiro invertebrado

- Rompimento da membrana peritrófica pela ação da protease gp63 e liberação do parasito que adere as microvilosidades intestinais .
- Metacilogênese e migração para a porção anterior do tubo digestivo
- Ciclo de 3 a 5 dias.



<http://www.dpd.cdc.gov/dpdx>

Ilustração disponível em www.dpd.cdc.gov

Interação celular

- Fagocitose
- Apresentação via MHC II para LT CD4
- Diferenciação em Th1 e Th2
- Desenvolvimento da resposta imune celular e humoral
- Ativação da via clássica (ag/ac) e via da lectina
- Produtos da clivagem de C3 (C3b) fixados à membrana do parasito

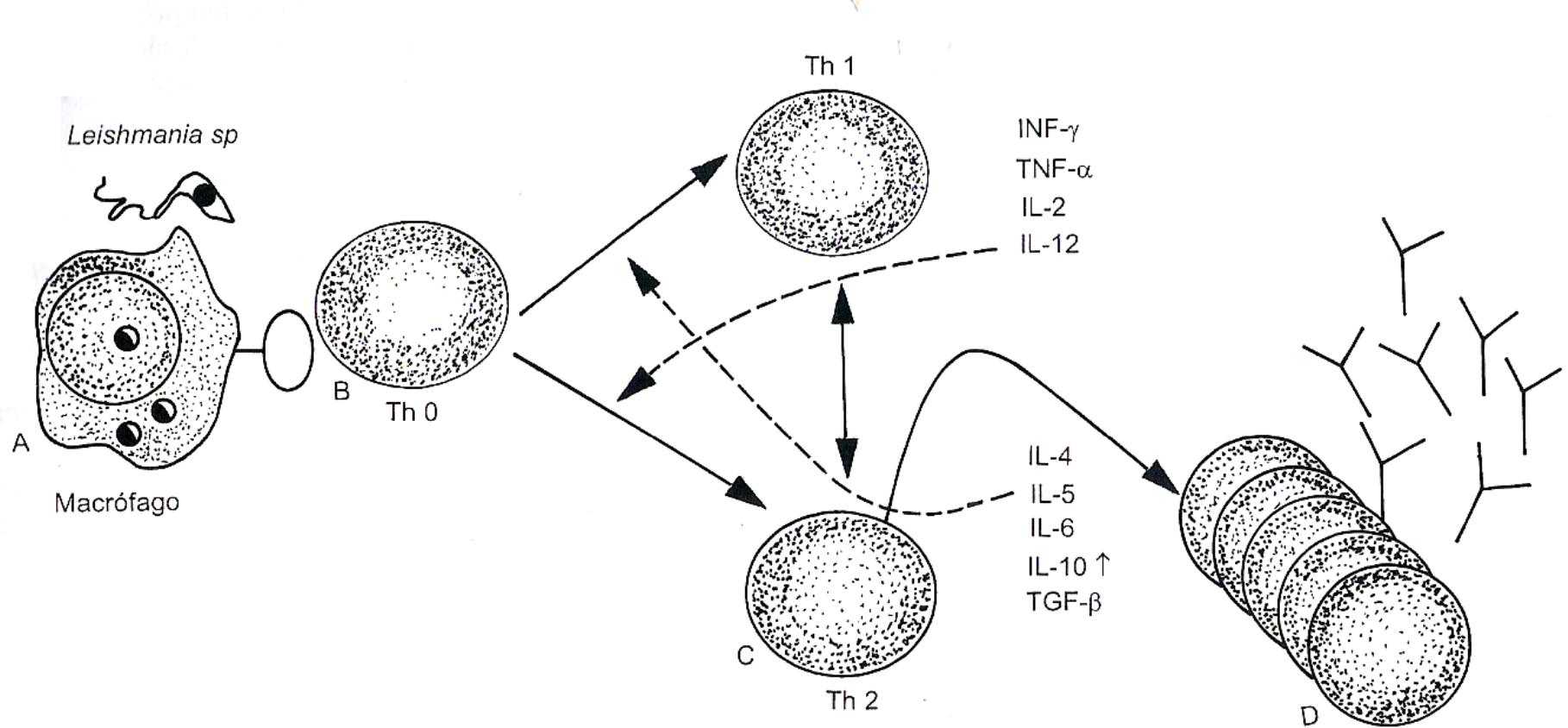
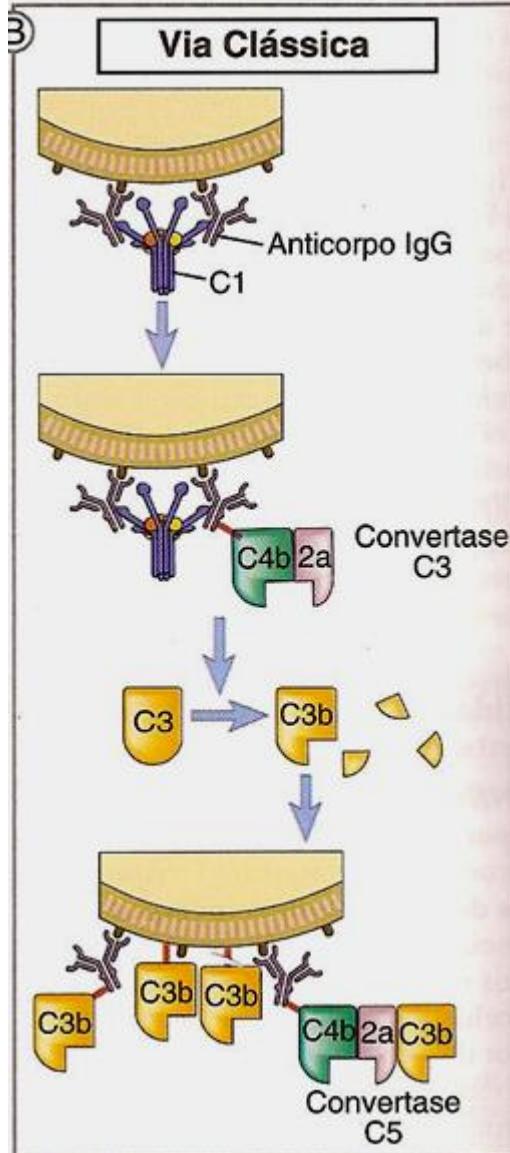


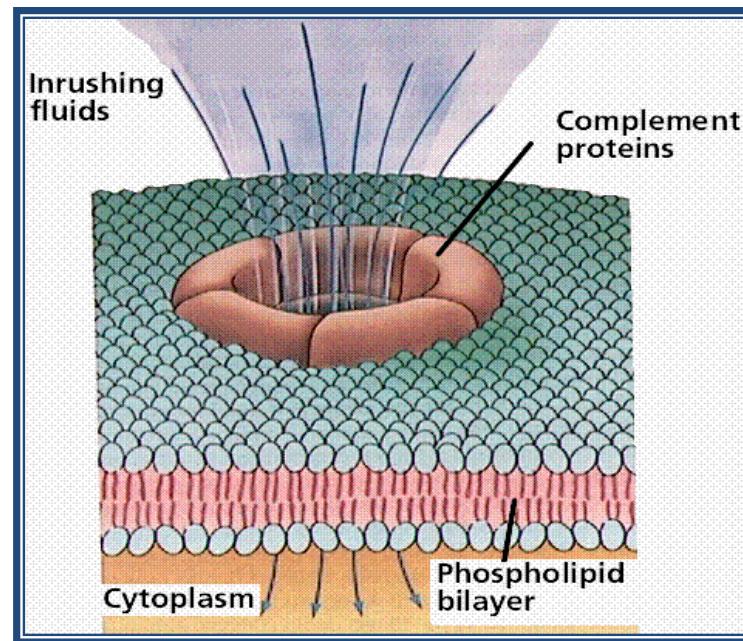
Ilustração disponível em Neves, 2005.

Interação celular

- Reconhecimento pelo macrófago através de receptores para complemento
- Os macrófagos possuem receptores que permitem a internalização do parasito que apresenta LPG, manose e fucose, sem ativação do mecanismo de defesa.
- Os histíocitos não estimulados são as principais células a desenvolverem a infecção



- ✓ C5 é clivado e o fragmento C5b fica ligado a membrana
- ✓ C5 liga-se a C6,C7,C8. A ligação de C9 ao complexo produz o MAC – complexo de ataque a membrana, promovendo a lise celular.



Interação celular

Mecanismos de evasão parasitária:

- Presença de LPG (lipofosfoglicano)
 - Interferem na inserção do MAC (C5 – C9)
 - Inibem ação enzimas líticas macrocíticas e produção de radicais livres
 - Retarda o recebimento de enzimas líticas dos lisossomos para o fagossomo.
- Presença de protease GP63
 - Degradação das enzimas líticas lisossomais macrocíticas

Interação celular

- **Mecanismos de evasão parasitária:**
 - Saliva do vetor - presença de maxidilam :
 - Inibição da secreção de IL12 e INFy.
 - Maior ação das citocinas IL4 e IL10 que agem suprimindo a resposta imune celular favorecendo o sucesso da infecção.

Leishmaniose Tegumentar Americana

- *Leishmania (Viannia) braziliensis*
 - Responsável pela forma cutânea mais destrutiva
 - Ampla distribuição geográfica
- *Leishmania (Viannia) guyanensis*
 - Periurbanização: invasão do homem e fuga dos animais
 - Amazônia e Manaus
- *Leishmania (Leishmania) amazonensis*
 - Lesões ulcerosas simples e limitadas
 - Vetores de hábitos noturnas
 - Rara no homem

Leishmaniose Tegumentar Americana

Leishmania braziliensis

- Lesões cutâneas:
 - Hipertrofia e hiperplasia histiocitária.
 - Edema e infiltração celular – linfócitos e plasmócitos ao redor dos focos histiocitários.
 - Hiperplasia do epitélio e raramente hiperqueratose.
 - Necrose. Formação de úlcera rasa ou ulceração profunda de bordos salientes.
 - Processo de cicatrização: 12 a 15 meses.
 - Lesões não-ulcerosas: hiperplasia da epiderme com crescimento verrucoso ou papilomatoso.

LTA – Leishmaniose cutânea



Densidade dos parasitos nas bordas da úlcera é grande nos estágios iniciais da infecção.



Ilustração disponível no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral, 2007. Ministério da saúde

Leishmaniose cutâneo-mucosa

- *L. (V.) braziliensis*
 - Propensão à metástases em mucosas.
 - Processo lento de curso crônico
 - Propagação via hematogênica.
 - Comprometimento ganglionar.
 - Formação de nódulos circunscritos e ulceração na porção cartilaginosa.

Leishmaniose cutâneo-mucosa

- Destrução das cartilagens e ossos , especialmente do nariz e região palatina . Envolvimento de boca e face.
- O processo estende-se à faringe e laringe com perturbação da fonação e alimentação.
- Cicatrizes de lesões antigas podem gerar metástases anos após o tratamento.

Leishmaniose cutâneo-mucosa

- Úlceras antigas podem apresentar processo de infecções bacterianas de aspecto purulento
- Podem apresentar sintomas gerais de febre, mal estar e anemia moderada.
- Mal cheiro e aspecto das lesões podem condicionar o paciente a um quadro de segregação social.

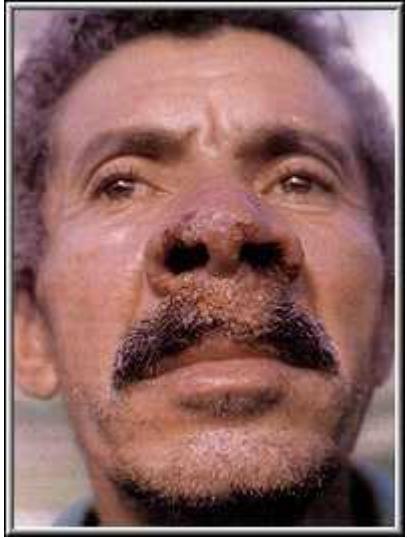


Ilustração disponível em <http://www.portalsaofrancisco.com.br/alfa/leishmaniose/leishmaniose-4.php>

Sintomas iniciais de coriza crônica, obstrução nasal e na medida que aparecem as lesões ulcerativas, aparece a dor

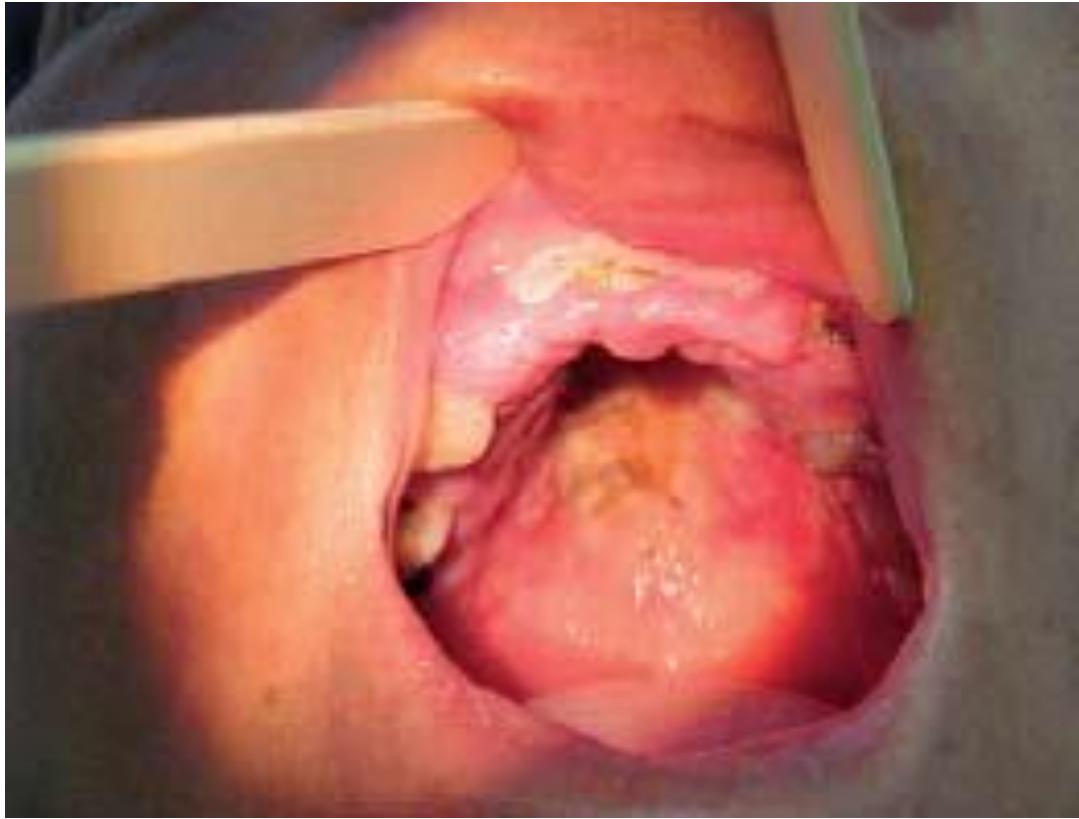


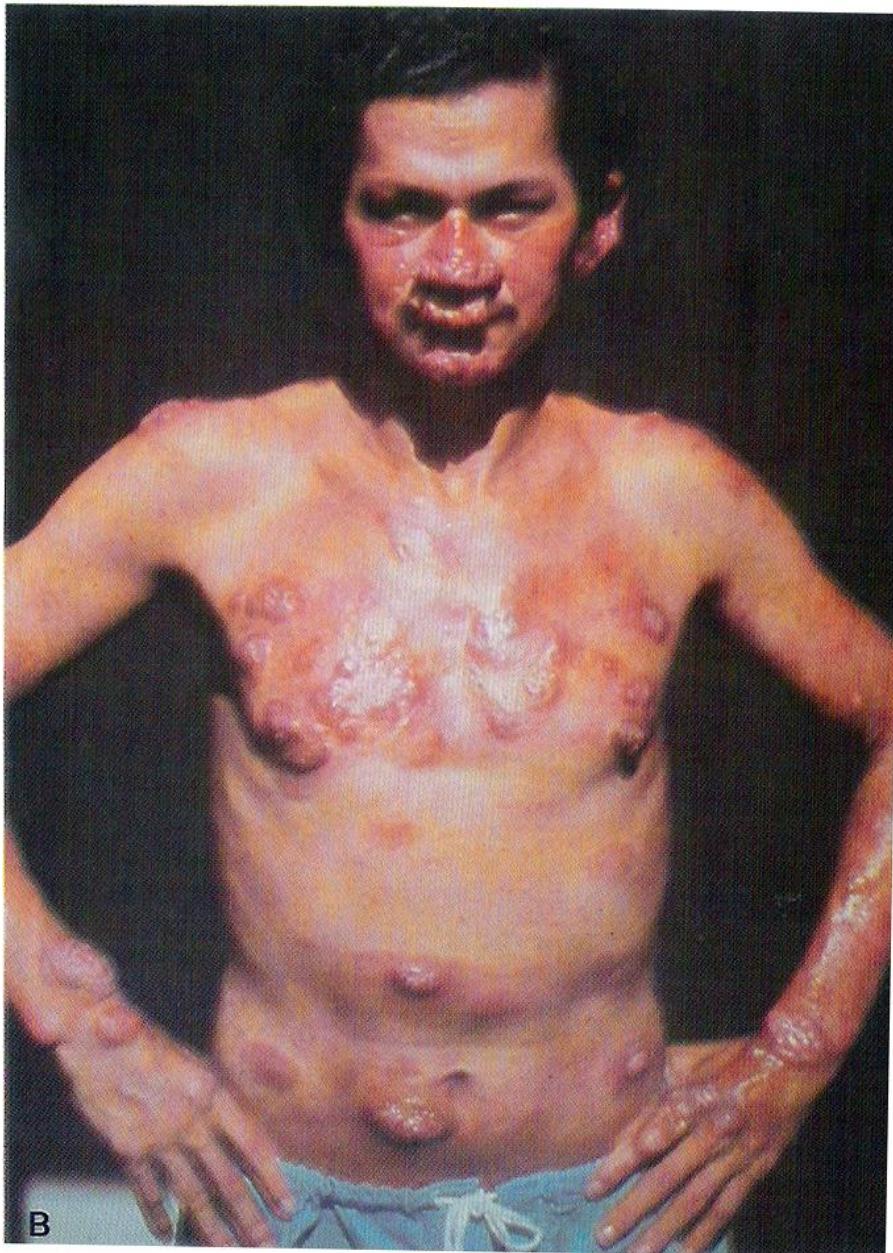
Ilustração disponível no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral, 2007. Ministério da saúde

LTA - Leishmaniose cutânea difusa

- Também chamada de forma lepromatosa.
- Grande número de lesões difusas não ulceradas.
- Agente etiológico: *L.(Leishmania)pifanoi* e *L.(Leishmania)amazonensis*.
- Metástases através de vasos linfáticos e sangue
- Migração de macrófagos parasitados de um sítio para outro.

LTA - Leishmaniose cutânea difusa

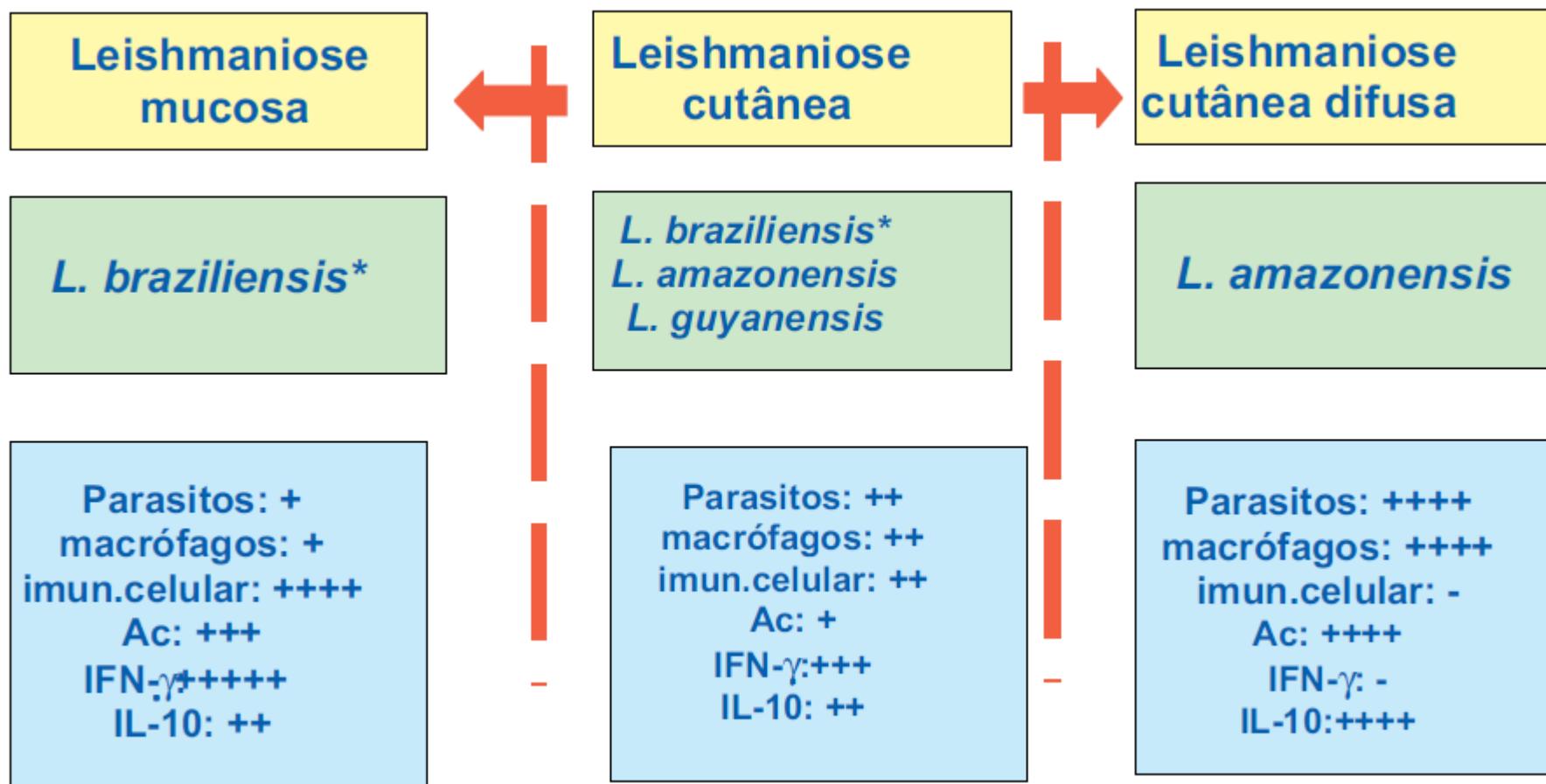
- Produção de nódulos ricos em macrófagos e pouca reação inflamatória.
- Pacientes possuem deficiência imunológica **com depressão da resposta imune celular**.
- Doença de curso crônico e para toda vida.
- Sem resposta a tratamentos convencionais.



B

Pólo hiperanérgico pauciparasitário

Pólo anérgico multiparasitário



Disponível em Manual da Vigilância da Leishmaniose Tegumentar americana

Diagnóstico

- **Clínico (forma cutânea):**
 - Formas ulceradas, normalmente localizadas em áreas expostas da pele, com formato arredondado ou ovalado;
 - Base eritematosa e de consistência firme;
 - Bordas bem delimitadas e elevadas
 - Lesões formam placas de tamanhos variados com limites nítidos em contato com a pele sã.
 - Necessidade de diagnóstico diferencial para outras patologias como úlcera tropical, hanseníase, tuberculose cutânea, etc

Pesquisa do parasito

- Exame direto da borda da lesão em esfregaços corados
- Exame histopatológico
- Cultura : meio NNN e LIT associado à antibióticos
- Inoculação via intradérmica de triturado de fragmento com solução fisiológica em pata ou focinho de hamster

Diagnóstico imunológico

- Teste intradérmico ou Intradermorreação de Montenegro
 - Baseada na visualização da resposta de hipersensibilidade celular retardada
 - Utilização de antígeno promastigota de *L.braziliensis* mortas
 - Injeta-se 0,1 a 0,2mL do antígeno e faz-se a leitura no 3º dia
 - Positividade indicada pelo aparecimento de pápula eritematosa igual ou maior que 5 milímetros.

Testes sorológicos e moleculares

- Imunofluorescência indireta (IFI)
- Imunoenzimático (ELISA)
 - Podem apresentar reação cruzada com outros *Tripanosomatídeos*
- PCR

Epidemiologia

- Cada complexo abrange áreas diferentes
- LTA é primariamente uma enzootia de animais silvestres
- Transmissão humana pela penetração do homem em áreas onde ocorre a doença.
- Endêmica no México, maior parte da América central e todos os países da América do Sul, exceto Chile
- No Brasil, ocorre em todos os estados com maior incidência na região Norte

Controle

- Difícil controle
- Uso de inseticidas e dedetização
- Construção de casas à uma distância mínima de 500m da mata
- Utilização de repelentes e mosquiteiros
- Controle dos animais reservatórios
- Controle do lixo como criadouro

Tratamento

- Antimonial pentavalente:
 - Glucantime: diariamente durante 20 dias (intramuscular)
- Anfotericina B
 - Endovenosa.
 - Tratamento diário ou três vezes por semana durante 3 a 12 semanas

Tratamento

- Imunoterapia - vacina
 - Leishvacin: subcutânea e intramuscular
 - Utilizada para casos resistentes com medicação ou cardiopatas, gestantes, nefropatas e idosos.
- Imunoterapia associado ao Glucantime : 100% de cura em 6 meses



Ilustração disponível em http://www.ufpe.br/biolmol/Leishmanioses-Apostila_on_line/nas_americas.htm



Ilustração disponível em www.ufpe.br/biolmol/Leishmanioses-Apostila_on_line/nas_americas.htm

Leishmaniose visceral

- Agente etiológico:
 - *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi*
 - *Leishmania (Leishmania) infantum donovani*
(americana)
 - Pacientes de todas as idades
 - *Leishmania (Leishmania) infantum infantum*
(Velho mundo)
 - Preferencialmente em crianças tendo canídeos como principal reservatório

Leishmania visceral - calazar

- Doença infecciosa sistêmica de curso lento
- Sinais e sintomas: febre irregular, anemia, hepatoesplenomegalia, edema, emagrecimento , caqueixa e hemorragias podendo levar a morte.
- Parasitos adaptados para viver em temperatura 37°
- Formação de pápula com base dura no local de inoculação do parasito.

Leishmania visceral - calazar

- Tropismo visceral – macrófagos do baço, medula óssea, gânglios linfáticos e fígado (cels de Kupffer). Podem parasitar pulmão, rins, intestinos e pele.
- Os monócitos podem transportar os parasitos para todos os pontos do organismo

Patologia

- Fígado e baço: hiperplasia e hipertrofia dos macrófagos causando esplenomegalia e hepatomegalia
- Fibrose de baço e fígado.
- A reatividade do sistema fagocítico-mononuclear (SFM) e a congestão dos sinusóides esplênicos são responsáveis pela esplenomegalia.

Patologia

- Esplenomegalia de característica dura e indolor a palpação.
- Hepatomegalia em menor escala .
- Diminuição da albumina no soro: ascite
- Deposição de imunocomplexos causando glomerulonefrite
- Lesão renal com albuminúria

Patologia

- Substituição do tecido hematopoético por macrófagos parasitados: anemia , leucopenia e plaquetopenia
- Aumento do número de parasitos gera intolerância imunológica que pode ter evolução fulminante
- Imunodepressão com diminuição da resposta a outros抗ígenos: infecções secundárias
- Perturbação do apetite , desnutrição, caqueixa e morte

Leishmania visceral - calazar



Ilustração disponível no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral, 2006. Ministério da saúde



Ilustração disponível no Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose visceral, 2006. Ministério da saúde

Transmissão

- Vetor
 - Picada da fêmea de *L. longipalpis*
- Transfusão sanguínea
- Uso de drogas injetáveis
- Transmissão congênita
- Acidentes de laboratório

Diagnóstico laboratorial

- Pesquisa do parasito:
 - Punção de **medula óssea**, linfonodos, fígado e baço.
 - Esfregaço corados por Giemsa
 - Semeadura em meio de cultura NNN
 - Inoculação em hamster
 - Cortes histológicos de punção medular

Métodos imunológicos e moleculares

- RIFI: utilização de promastigotas fixadas em lâmina
- ELISA
- TraLd: Teste Rápido Anticorpo Anti-*Leishmania donovani*
- PCR
- Teste de Montenegro: é sempre negativo durante o período de estado da doença, não sendo assim, utilizado para o diagnóstico

Exames laboratoriais

- Hemograma revela anemia.
- Pancitopenia.
- Elevação das aminotranferases (2 a 3x)
- Aumento das bilirrubinas, uréia e creatinina.
- Níveis de anticorpos anti-Leishmania elevados.
- VHS elevado.
- Hiperglobulinemia.
- Aspirado do baço e da medula óssea geralmente mostram as formas amastigotas do parasita.

Epidemiologia

- A LV ocorre nas Américas, Ásia, África e Europa
- Brasil: regiões norte, nordeste, sudeste e centro-oeste
- Principais áreas endêmicas brasileiras:
 - Nordeste, MG e MS
- Áreas rurais mais atingidas pela endemia
- Peri -domicilio em favelas onde cães infectados ficam em contato com humanos

Epidemiologia

- Ciclo silvestre:
 - *Lutzomyia longypalpis* - raposa
- Ciclo doméstico ou peridoméstico
 - *Lutzomyia longypalpis* - homem e cão

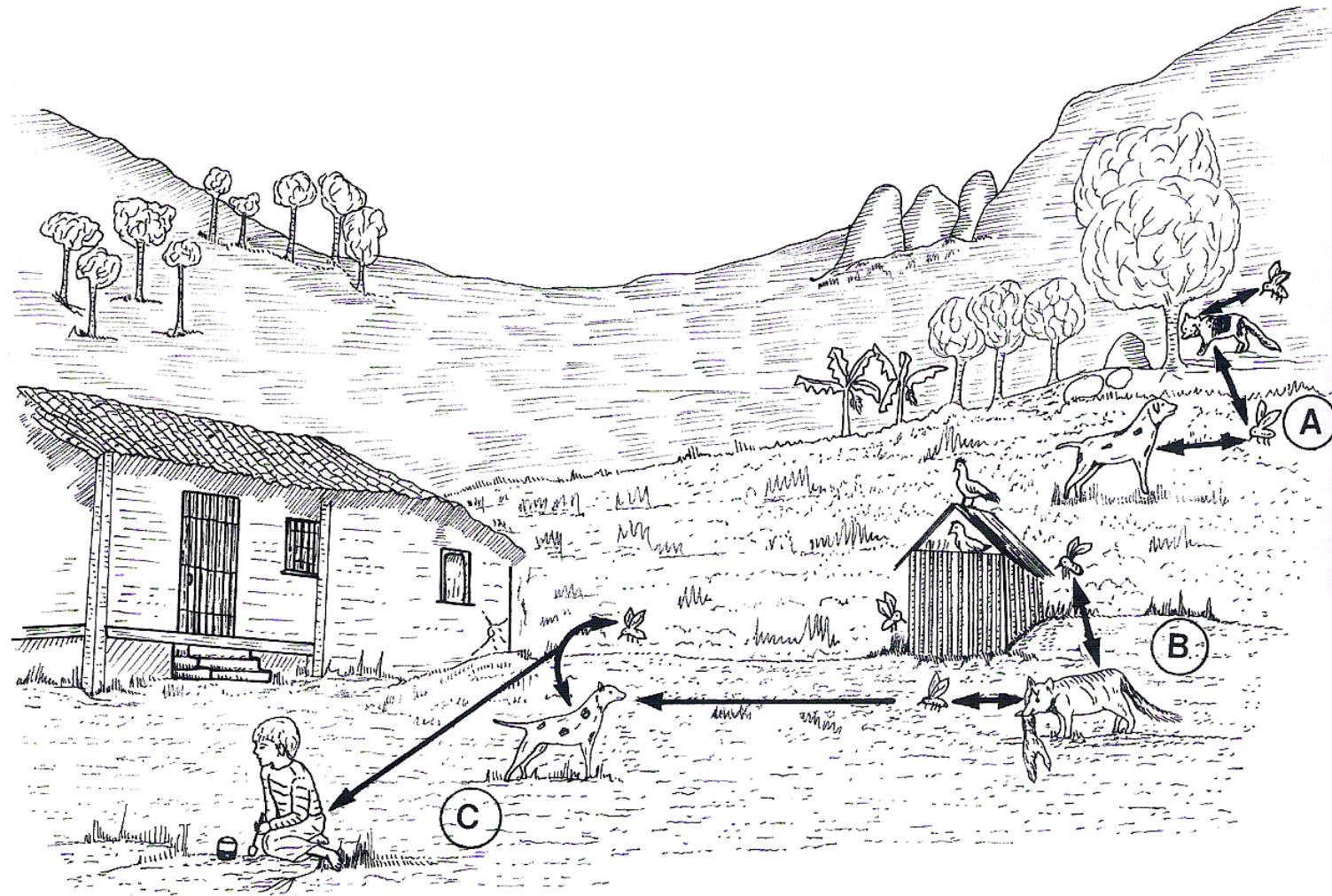


Ilustração disponível em Neves, 2005

A – ciclo silvestre

B – ciclo peridomiciliar C – ciclo domiciliar

Controle

- Estudo da fauna flebotômica na região
- Estudos de reservatórios silvestres da região
- Combate aos flebotomíneos
- Tratamento dos doentes
- Vacinação dos cães
- Utilização de coleiras impregnadas com inseticidas

Tratamento

- Glucantime – antimoniato de N-metilglucamina
- Pentamidina
- Antibiótico
 - Anfotericina B
- Rifn- γ : interferon γ recombinante humano
 - Usado em associação com os antimoniais
- Citocina recombinante humana
 - Fator estimulador de colônias
 - IL12
 - Em estudo

Referência bibliográfica

- DE CARLI, Geraldo Attílio. **Parasitologia Clínica.**2.Ed.São Paulo: Ed. Atheneu, 2207. 906p
- NEVES, David Pereira. **Parasitologia humana.** 11.Ed.São Paulo: Editora Atheneu, 2005. 494p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.** Brasília: Editora MS.2006. 113p.
- MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral.**2.ed. Brasília: Editora MS.2007. 179p.
- REY, Luis. **Bases da Parasitologia Médica.** 3.Ed.Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.2010.391p.

Referência bibliográfica

- www.dpd.cdc.gov
- <http://www.fiocruz.br/ccs/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?infoid=354&sid=6>
- http://www.ufpe.br/biolmol/Leishmanioses-Apostila_on_line/nas_americas.htm