

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA - APRESENTAÇÃO ATÍPICA DIAGNOSTICADA COM TÉCNICA DE BIOLOGIA MOLECULAR

Laryssa Madeira de Araujo¹, Daniela Cristina Caetano Maia², Bárbara Agonio¹, Lizka Moreno Cerdan³, Renata da Silva Galvão⁴, Valeska Albuquerque Francesconi do Valle⁵, Fabio Francesconi do Valle⁶

¹Médica Residente em Dermatologia/Resident, Dermatology

²Médica Dermatologista/Dermatologist

³Medica Residente em Anatomia Patologica/Resident, Anatomic Pathology

⁴Mestre em Medicina Tropical/Master in Tropical Medicine

⁵Médica Dermatologista, Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas/Dermatologist, Master in Tropical and Infectious Diseases

⁶Médico Dermatologista, Mestre em Doenças Tropicais e Infecciosas; Chefe da Enfermaria de Dermatologia/Dermatologist, Master in Tropical and Infectious Diseases; Head of the Inpatient Department of Dermatology

Serviço de Dermatologia, Hospital Universitário Getúlio Vargas, Universidade Federal do Amazonas. Manaus-AM, Brasil

RESUMO – Leishmaniose tegumentar Americana é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por protozoários do gênero *Leishmania*, que acomete pele e mucosa. A clínica é variada e relaciona-se com a espécie de *Leishmania* e a resposta imune do hospedeiro; o quadro clássico são lesões ulceradas únicas ou múltiplas, porém mostraremos um caso atípico da doença. Paciente apresentava lesões predominantemente verrucosas em membros inferiores, a reação em cadeia da polimerase confirmou o diagnóstico de leishmaniose tegumentar Americana. Este paciente, após início do antimoniato de meglumina, evoluiu com melhora clínica das lesões, corroborando para o diagnóstico. A importância se deve a necessidade do conhecimento das formas atípicas da doença, a fim de se estabelecer um diagnóstico precoce e uma terapêutica correta.

PALAVRAS-CHAVE – *Leishmania*; Leishmaniose Cutânea; Reação em Cadeia da Polimerase.

AMERICAN CUTANEOUS LEISHMANIASIS, WARTY ATYPICAL PRESENTATION, DIAGNOSED WITH MOLECULAR BIOLOGY TECHNIQUE

ABSTRACT – American cutaneous leishmaniasis is an infectious, not contagious disease, caused by a protozoa from genus *Leishmania* and affects skin and mucosal tissue. The clinical symptoms is varied and it is related with the *Leishmania* species and the immune response of the host; Most common symptoms are single or multiples ulcerated lesions, however, we will present an atypical case of the disease. The patient presented mainly verrucous lesions in lower limbs, the polymerase chain reaction confirmed American cutaneous leishmaniasis diagnosis. After meglumine antimoniate treatment, the patient evolved with clinical improvement of the lesions, which supports the diagnosis. This case relevance is the need of knowledge of the disease atypical forms, in order to establish an early diagnosis and also an appropriate therapy.

KEY-WORDS – *Leishmania*; Leishmaniasis Cutaneous; Polymerase Chain Reaction.

Conflitos de interesse: Os autores declaram não possuir conflitos de interesse. *No conflicts of interest.*

Suporte financeiro: O presente trabalho não foi suportado por nenhum subsídio ou bolsa. *No sponsorship or scholarship granted.*

Direito à privacidade e consentimento escrito / Privacy policy and informed consent: Os autores declaram que pediram consentimento ao doente para usar as imagens no artigo. *The authors declare that the patient gave written informed consent for the use of its photos in this article.*

Recebido/Received - Julho/July 2015; Aceite/Accepted – Agosto/August 2015

Caso Clínico

Correspondência:

Dr.ª Laryssa Madeira de Araujo
Serviço de Dermatologia
Hospital Universitário Getúlio Vargas
Universidade Federal do Amazonas
Manaus-AM, Brasil.
E-mail: larymadeira@hotmail.com

INTRODUÇÃO

As leishmanioses são antropozoonoses consideradas um grande problema de saúde pública, representam um complexo de doenças com importante espectro clínico e diversidade epidemiológica. A organização mundial de saúde estima que 350 milhões de pessoas estejam expostas com registro de dois milhões de novos casos das diferentes formas clínicas ao ano.

Leishmaniose tegumentar Americana (LTA) tem ampla distribuição mundial e no continente Americano, há registro de casos desde o extremo sul dos EUA até o norte da Argentina, com exceção do Chile e Uruguai. Encontra-se em expansão em todas as regiões do Brasil, com maior número de casos nas regiões Norte, Centro Oeste e Nordeste.¹

No Brasil, a LTA é uma das afecções dermatológicas que merece mais atenção, devido a sua magnitude, assim como pelo risco de ocorrência de deformidades que pode produzir no ser humano, e também pelo envolvimento psicológico, com reflexos no campo social e econômico, uma vez que, na maioria dos casos, pode ser considerada uma doença ocupacional.¹

LTA é uma doença infecciosa, não contagiosa, causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*, transmitida por picada de flebotomos e que acomete pele e mucosas. No Brasil, é uma doença com diversidade de agentes, de reservatórios e de vetores que apresenta diferentes

padrões de transmissão e um conhecimento ainda limitado sobre alguns aspectos, o que a torna de difícil controle.

A *Leishmania* é um protozoário pertencente à família *Trypanosomatidae*, parasito intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, com duas formas principais: uma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor, e outra aflagelada ou amastigota, observada nos tecidos dos hospedeiros vertebrados.²

Nas Américas, são atualmente reconhecidas 11 espécies dermatrópicas de *Leishmania* causadoras de doença humana e oito espécies descritas, somente em animais. No entanto, no Brasil já foram identificadas sete espécies, sendo seis do subgênero *Viannia* e uma do subgênero *Leishmania*. As três principais espécies são: *L. (V.) braziliensis*, *L.(V.) guyanensis* e *L.(L.) amazonensis* e, mais recentemente, as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L. (V.) lindenberg* e *L. (V.) shawi* foram identificadas em estados das regiões Norte e Nordeste.¹

Nos últimos anos, observou-se conforme os estudos epidemiológicos a mudança no padrão de transmissão da LTA, inicialmente era considerada como uma zoonose de animais silvestres, que acometia somente as pessoas que adentravam florestas, porém, posteriormente, a doença começou a ocorrer em zonas rurais, praticamente desmatadas, e em regiões periurbanas.³



Fig 1 - A) Presença de placas verrucosas em membros inferiores; B) Presença de úlceras sob as placas verrucosas.

Caso Clínico

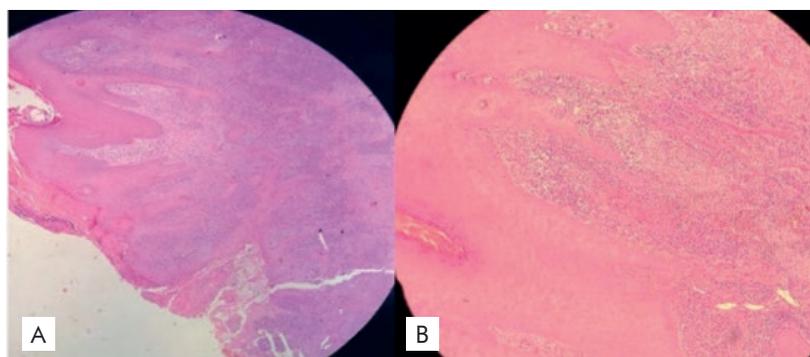


Fig. 2 - A) Presença de hiperqueratose, acantose hiperplasia pseudoepiteliomatosa. Na derme observa-se infiltrado inflamatório; **B)** Na derme, observa-se a presença de células epitelioides e células gigantes, e plasmócitos em torno dos granulomas.

RELATO DO CASO

Sexo masculino, 25 anos, agricultor, proveniente de Coari, município do interior do estado do Amazonas, em bom estado geral, apresentando há 8 meses quadro predominante de placas verrucosas e algumas úlceras de bordas infiltradas, bem delimitadas em membros inferiores (Fig.s 1 A e B), refere que no início do quadro apresentava somente as úlceras e que posteriormente evoluíram para esse aspecto verrucoso; não apresentava alteração nos demais sistemas e nem sinal de imunodepressão ao exame físico. Devido à importante história epidemiológica e à presença de lesões ulceradas, foi solicitado o exame direto para LTA através da escarificação da lesão e que se mostrou positivo devido a presença de amastigotas arredondadas intracelulares e isoladas. Diante disso, foi realizada a biópsia e encaminhada para micologia e histopatologia; solicitado exames laboratoriais no qual vieram sem alterações, sorologia para VIH e hepatites ambas negativas. O resultado do micológico foi negativo; e o estudo histopatológico demonstrou hiperqueratose, acantose, infiltrado de linfócitos, histiócitos, células epitelioides, células gigantes

multinucleadas e plasmócitos em torno dos granulomas (Fig.s 2 A e B); foi realizada a reação em cadeia da polimerase (PCR) utilizando 6 cortes de 20 micras, de biópsia parafinada, com remoção da parafina num tubo de 1,5 ml estéril com dois banhos de xilol e álcool absoluto, o álcool foi evaporado a 1 hora em cabine de fluxo, adicionou-se 180 μ L de tampão de digestão e 20 μ L de proteinase K, incubação 56°C em overnight e seguindo a extração com *Mini kit PureLink Genomic DNA*. Invitrogen USA. Para a detecção do DNA *Leishmania* sp. foram utilizados pares de primers miniexon 5' (ACA GAA ACT GAT ACT TAT ATA GCG)3' e 5' (TAT TGG TAT GCG AAA CTT CCG)3'. Segundo descrição de Marfurt et al, foi identificada a espécie *L. braziliensis* com RFLP (*restriction fragment length polymorphism*) com 20 μ L do produto da PCR-miniexon, adicionando enzima de restrição HAEIII e buffer 10x REact 2, Invitrogen e incubação à 37°C por 2 horas⁴ (Fig.s 3 A e B).

Diante disso, foi iniciado o tratamento com antimonialto de meglumina (15 ml/dia equivalente a 17 mg Sb^V/kg/dia) por 20 dias. Após 10 dias do término do tratamento, o paciente evoluiu com melhora importante das lesões e sem

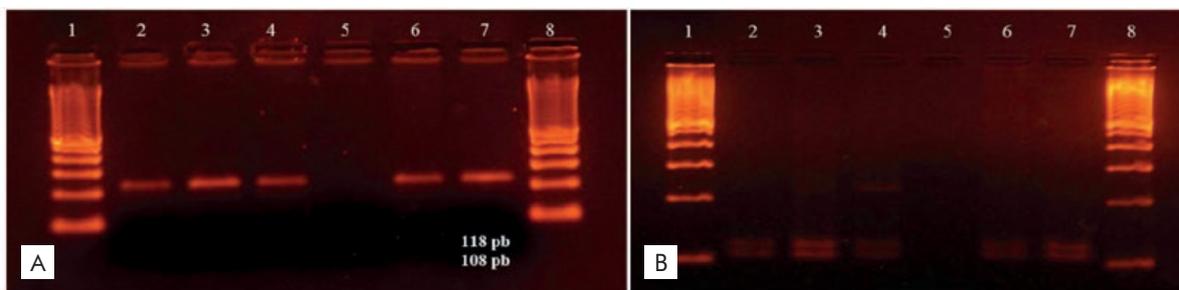


Fig. 3 - A) Detecção de DNA de *Leishmania* em amostras clínicas (3, 4, 6, 7), utilizando PCR-miniexon, com amplificação de 226 pares de bases, visualizado em gel de agarose 2% corado com brometo de etídeo 1 μ g/mL. (2) controle positivo, (5) controle negativo, (1,8) Marcador Ladder 100 pares de base invitrogen; **B)** Identificação de *L. braziliensis*, por PCR-RFLP (3, 4, 6, 7), (2) controle positivo, (5) controle negativo, (1, 8) Marcador Ladder 100 pares de base invitrogen, visualizado em gel de agarose 3% corado com brometo de etídeo 1 μ g/mL.

Caso Clínico



Fig 4 - A e B) Apresentação clínica após 30 dias do início do tratamento. Lesões em processo de cicatrização.

complicações referente a medicação, atualmente em seguimento ambulatorial há 6 meses e sem recidivas até o momento (Fig.s 4 A e B).

DISCUSSÃO

Coari localiza-se a 365 Km de Manaus, capital do estado do Amazonas, e que atualmente encontra-se em constante desmatamento devido a construção do gasoduto Manaus-Coari, por esse motivo, vem crescendo o número de casos de LTA nessa região.

As manifestações clínicas são variáveis e relacionam-se com a espécie de *Leishmania* e a resposta imune do hospedeiro. Clinicamente, o quadro clínico clássico da LTA são lesões únicas ou múltiplas constituídas de úlceras circulares de bordas elevadas e eritematosas conhecidas com úlcera franca; as variedades atípicas e inusuais são observadas de 2% a 5% de todos os pacientes infectados. As variedades descritas são: esporotricóide, psoriasiforme, lúpica, erisipeloide, micetomatosa, periungueal, eczematoza, zosteriforme, anular, palmoplantar, cicatricial, vegetante, impetigóide, carcinoma espinocelular *like*; devido a esse amplo espectro de lesões o diagnóstico clínico nem sempre é simples ou imediato.⁴

O diagnóstico de LTA abrange aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. Frequentemente a associação de alguns desses elementos é necessária para se chegar ao diagnóstico final. O diagnóstico clínico pode ser feito com base nas características da lesão associada à anamnese, em que os dados epidemiológicos são de grande importância⁵; sua confirmação pode ser possível através da detecção do parasita no exame direto pelo microscópico ou pela cultura, pode ser utilizado a PCR; os testes imunológicos, como o teste de

Montenegro e imunofluorescência indireta, também podem ajudar; e o exame histopatológico pode sugerir o diagnóstico.⁶

Na leishmaniose cutânea verrucosa, o diagnóstico clínico pode ser confundido com outras doenças não relacionadas. Neste caso, a PCR mostrou-se útil na identificação do parasito, permitindo diagnóstico preciso, fator relevante no prognóstico do quadro clínico. A detecção de seqüências de DNA específicas de patógenos representa uma das mais importantes contribuições da PCR na epidemiologia e na clínica de doenças infecciosas.⁷

O Ministério da Saúde do Brasil recomenda o antimonial pentavalente (SbV) como fármaco de primeira escolha para o tratamento, com doses 15 mg SbV/kg/dia para lesões cutâneas, limitado a três ampolas ou 1,275 mg SbV/dia.¹ Os efeitos colaterais mais frequentes dessa medicação são artralgia, mialgia, inapetência, cefaléia, febre, vômitos, tontura e inchaço no local da aplicação. A cardio, nefro e hepatotoxicidade dos antimoniais constituem uma importante limitação à sua segurança, com necessidade de avaliação clínica e laboratorial periódica durante o tratamento.⁸

A resposta de pacientes ao tratamento com SbV pode variar de acordo com a cepa do parasito, o estado imunológico do paciente e a forma clínica. Estudos do DNA do parasito tem mostrado sua ampla diversidade, incluindo subespécies de *L.(V.)b*. Os pacientes que não são curados com pelo menos duas séries de SbV devem ser tratados com pentamidina ou anfotericina B.

A pentamidina deve ser usada na dose de 4 mg/kg/dia, em administração IM a cada 2 dias, no total de 3 a 10 doses. Anfotericina B é a melhor opção para os pacientes com doença mucosa não responsiva a antimonial pentavalente, porém seu emprego requer hospitalização e sua utilização é limitada

Caso Clínico

pela toxicidade. A dose total varia entre 1 a 1,5 g para a forma cutânea e 2,5 a 3 g para a forma mucosa.¹

Variações genéticas de uma espécie podem dar origem a características como diversidade antigênica, da virulência, da patogenicidade e resistência às drogas.

Acredita-se que a gravidade da doença pode interferir na resposta terapêutica, e algumas espécies de parasitos são mais susceptíveis ao SbV de maneira inata.⁹

Este caso alerta para a importância do conhecimento das formas atípicas da doença, a fim de se estabelecer o diagnóstico precoce e instituir a terapêutica correta.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância da leishmaniose tegumentar americana. Brasília: Fundação Nacional de Saúde; 2013.
2. Mejía PA, Restrepo R, Toro AM. Leishmaniasis mucocutánea verrucosa: una manifestación inusual. Rev Asoc Col Dermatol. 2008; 16:97-9.
3. Murback ND, Hans G, Nascimento RA, Nakazato KR, Dorval ME. American cutaneous leishmaniasis: clinical, epidemiological and laboratory studies conducted at a university teaching hospital in Campo Grande, Mato Grosso do Sul, Brazil. An Bras Dermatol. 2011; 86:55-63.
4. Marfurt J, Nasereddin A, Niederwieser I, Jaffe CL, Beck HP, Felger I. Identification and differentiation of Leishmania species in clinical samples by PCR amplification of the miniexon sequence and subsequent restriction fragment length polymorphism analysis. J Clin Microbiol. 2003;41:3147-53.
5. Guedes AC, de Carvalho ML, Melo MN. Leishmaniose tegumentar americana: apresentação pouco comum. An Bras Dermatol. 2008; 83:445-9.
6. Gontijo B, de Carvalho ML. Leishmaniose tegumentar americana. Rev Soc Brasil Med Trop. 2003; 36:71-80.
7. Guimarães LH, Machado PR, Lagoa EL, Morgan DJ, Schriefer A, Bacellar O, et al. Atypical manifestations of tegumentary leishmaniasis in a transmission area of Leishmania braziliensis in the state of Bahia, Brazil. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2009; 103: 712-5.
8. Lima EB, Porto C, Motta JC, Sampaio RN. Tratamento da leishmaniose tegumentar americana. An Bras Dermatol. 2007; 82:111-24.
9. De Grave W, Fernandes O, Campbell D, Bozza M, Lopes U. Use of molecular probes and PCR for detection and typing of Leishmania- a minireview. Mem Inst Oswaldo Cruz. 1994; 89: 463-9.