



CARTAS - TROPICAL/INFECTOPARASITÁRIA

Quarto caso de leishmaniose tegumentar no Brasil por *Leishmania major* – É possível a introdução de novas espécies no Brasil pela imigração? ☆☆☆



Prezado Editor,

A leishmaniose tegumentar (LT) no Brasil é leishmaniose do novo mundo (LTNM), com espécies de protozoário, vetores, reservatórios e apresentação distintos, comparada à do velho mundo (LTVM), que ocorre em países europeus, africanos e do Oriente Médio. Relatamos o quarto caso de LT no Brasil por espécie do velho mundo, não nativa da América Latina, e discutimos sobre a introdução dessa espécie no país.

Relato do caso

Homem sírio de 31 anos apresentou-se com onze placas eritemato-crostosas nos membros, tronco e couro cabeludo, além de úlcera emoldurada de 1,5 cm, fundo limpo, na região distal da perna direita (fig. 1). O quadro teve início há três meses, sem sintomas sistêmicos, após 45 dias de viagem a Homs, Síria. Três familiares apresentavam lesões semelhantes. Com a hipótese de LT, foram realizadas biópsias, as quais demonstraram infiltrado misto dérmico e presença de muitos parasitas amastigotas dentro de macrófagos (fig. 2). Entretanto, não foi possível identificar diferenças entre *Leishmania amazonensis* e *L. major* por meio da anatomopatologia, apesar de a literatura referir diferenças no tamanho dos vacúolos parasitóforos dessas espécies (maiores e com mais parasitas para *L. amazonensis* e menores com poucos parasitas para *L. major*).¹ Foi realizada a extração de DNA com o QIAamp™ DNA FFPE tissue kit (QIAGEN) da biópsia de pele fixada em formalina e embocada em parafina, e realizadas reação em cadeia da polimerase (PCR) simples e o sequenciamento de Sanger para análise do DNA minicircular

do cinetoplasto (kDNA ou DNA mitocondrial) de *Leishmania* spp. Esse alvo genético foi escolhido pela presença em múltiplas cópias por célula e pelo tamanho do fragmento de DNA amplificado a partir dos primers empregados (kDNA-F, forward: 5'-GTGGGGGAGGGGCGTTCT-3' e kDNA-R, reverse: 5'-ATTTTACACCAACCCCGATT-3'),²⁻⁴ permitindo maior sensibilidade para detecção do parasita no tipo de amostra analisada. Na PCR, houve amplificação específica de fragmento com tamanho aproximado de 116-120 pares de bases (fig. 3), e o sequenciamento de DNA permitiu a identificação molecular do complexo de espécies *L. major* (fig. 4), confirmando o agente não nativo no país. Infelizmente, o paciente se mudou e não retornou presencialmente, apenas por telemedicina, referindo resolução espontânea.

Discussão

No Oriente Médio, os agentes etiológicos mais relatados são *L. tropica* e *L. major*, transmitidos pelo mosquito do gênero *Phlebotomus*.⁵ *Leishmania major*, porém, não apresenta reservatório, e é considerada uma antroponose. No Brasil, as espécies mais prevalentes são *L. braziliensis*, *L. amazonensis* e *L. guyanensis*, transmitidas pelos mosquitos do gênero *Lutzomyia*. Quanto à clínica, diferente da clássica úlcera com fundo granulomatoso, a LTVM caracteriza-se por múltiplas pápulas eritematosas nos locais das picadas, que evoluem para nódulos < 2 cm, ulceram e formam crosta ("úlceras secas").⁵ O teste de Montenegro tem alta sensibilidade para a detecção de infecção prévia por *L. major*.⁶

Em 1991, na Síria, onde essa doença é endêmica, em decorrência do combate ao mosquito, os casos diminuíram. Contudo, no final dos anos 1990, observou-se um aumento atribuído à intensa migração rural-urbana e à deterioração de serviços, como o recolhimento do lixo e saneamento básico.⁷ A partir de 2011, não há mais dados epidemiológicos, em razão da guerra civil, que culminou na destruição de 57% dos hospitais públicos.⁷ Houve colapso da saúde e migração em massa para países vizinhos. Assim, reemergiram doenças como poliomielite, sarampo e tuberculose, além da LT, em resposta ao aumento dos vetores e ao caos assistencial.

Os refugiados estabeleceram-se em cidades fronteiriças, principalmente na Turquia, desamparados de atendimento médico e em ambiente favorável à propagação de epidemias. Observaram-se novos casos de LT nos campos de refugiados. No Líbano, houve aumento de seis casos entre 2000-2012 para 1.033 casos só em 2013, dos quais 97% eram em refugiados sírios.⁸

DOI referente ao artigo:

<https://doi.org/10.1016/j.abd.2022.07.004>

☆ Como citar este artigo: Matsumoto CT, Enokihara MM, Ogawa MM, Yarak S. Fourth case of tegumentary leishmaniasis in Brazil by *Leishmania major* – is it possible for new species to be introduced in Brazil through immigration? An Bras Dermatol. 2023;98:564-7.

☆☆ Trabalho realizado na Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, Departamento de Dermatologia, SP, Brasil.

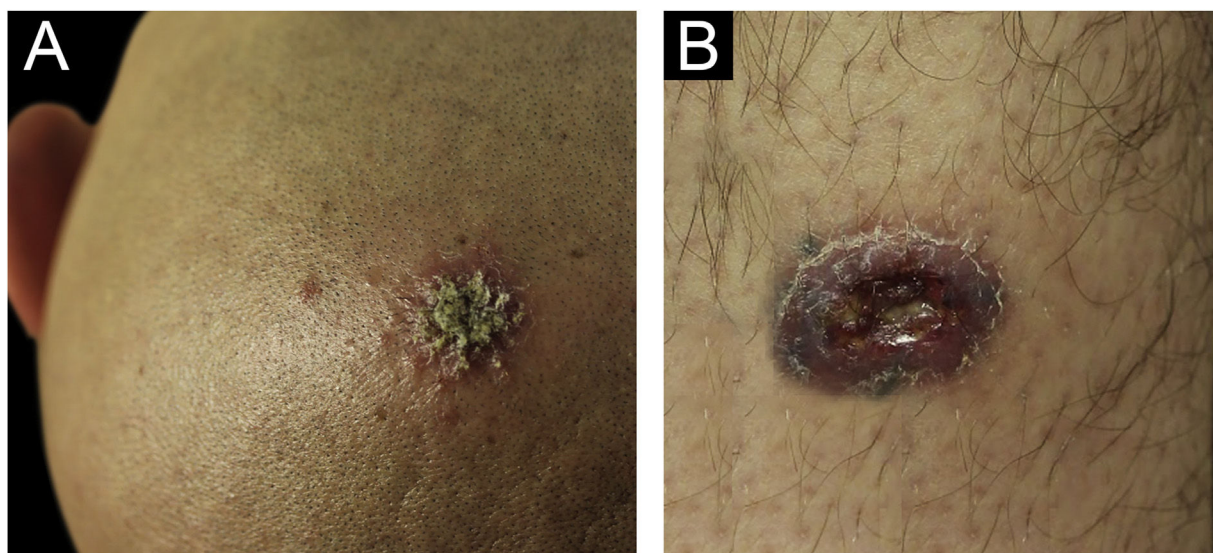


Figura 1 (A) Placa eritematosa encimada por crostas melicéricas no couro cabeludo. (B) Úlcera de fundo limpo com bordas emolduradas acima do maléolo medial direito.

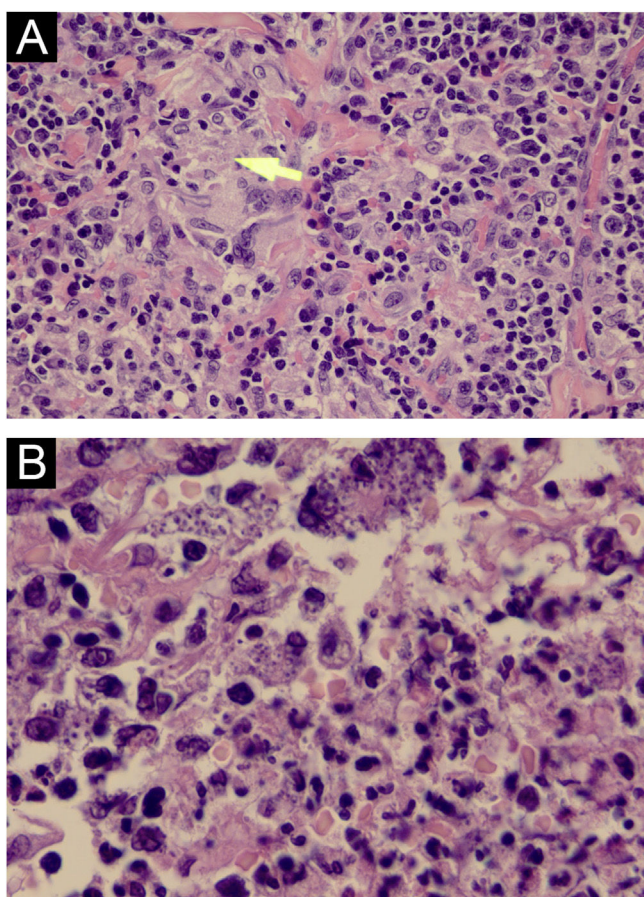


Figura 2 (A) Parasitas amastigotas dentro de macrófagos (seta amarela), Hematoxilina & eosina, 400 ×. (B) Parasitas amastigotas dentro de macrófagos (Hematoxilina & eosina, 1.000 ×).

No Brasil, a Síria é a nacionalidade com a maior representatividade entre os refugiados.⁹ Há situações de vulnerabilidade, obstáculos político-sócio-econômicos, de

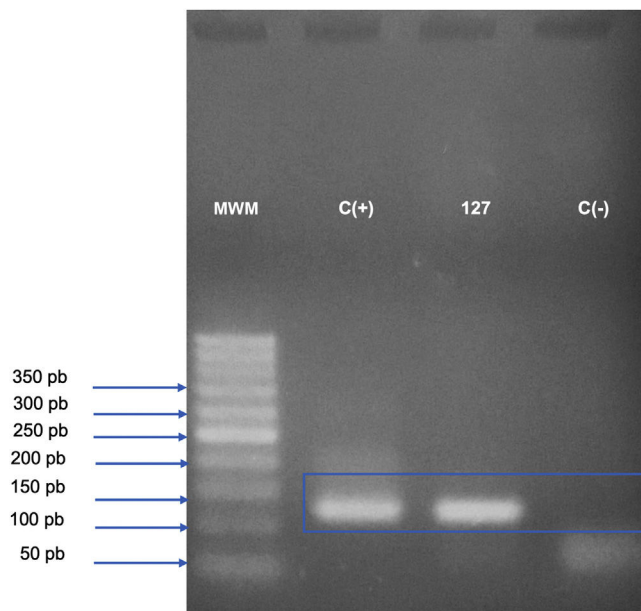


Figura 3 Análise do fragmento de DNA minicircular do cinetoplasto (DNA mitocondrial ou kDNA) de *Leishmania* spp., amplificado pela reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional e visualizado por eletroforese em gel de agarose a 2,5%. As bandas observadas no gel representam o produto de PCR (amplicon) de 116-120 pares de bases, gerado a partir da amplificação com *primers* kDNA-F e kDNA-R; gel corado com Safe Dye (Cellco Biotech do Brasil). MPM, marcador de peso molecular de 50 pb (Cellco Biotech do Brasil); C(+), controle positivo (DNA extraído de cultura - *Leishmania amazonensis* - 40 ng/L); 127, DNA extraído de amostra de biópsia de pele de região do maléolo medial direito fixado em formalina e embocado em parafina; C(-), controle negativo (água estéril).

idioma e culturais, que são barreiras para o acesso à assistência de saúde digna. Desse modo, diagnóstico, tratamento, notificação e análise epidemiológica são prejudicados.



Figura 4 Análise do sequenciamento de DNA a partir do produto de PCR com os *primers* específicos para uma região do DNA minicircular do cinetoplasto (DNA mitocondrial ou kDNA) de *Leishmania* spp. (A) Montagem e edição das seqüências, uma fita senso (*forward*) e duas fitas antissenso (*reverse*), com o emprego do *software* Sequencher™ e visualização dos cromatogramas ou eletroferogramas. (B) Análise comparativa realizada pelo alinhamento da seqüência consenso com seqüências nucleotídicas depositadas no GenBank-NCBI (BLASTn – blast.ncbi.nih.gov.qblast.cgi). O sequenciamento permitiu a identificação molecular do complexo de espécies *Leishmania major* (BLASTn = similaridade ou identidade máxima: > 95%, tamanho do fragmento: 117 pb).

Com isso, é possível se questionar sobre a transmissão autóctone de espécies novas de *Leishmania*. Na Turquia, foram detectadas cepas não endêmicas, inclusive em paciente sem histórico de viagens, sugerindo a introdução dessa espécie.¹⁰ No Mediterrâneo, verificou-se a competência do mosquito *P. sergentii* como vetor,¹¹ levantando a hipótese da viabilidade da introdução dessa doença nos demais países europeus. No Brasil, onde a PCR não é rotineira, existem potenciais vetores para *L. major*^{12,13} e há casos isolados no Centro-Oeste descritos de cepas *L. major-like*, possivelmente *L. major*,¹⁴ nas décadas de 1970 e 1980, em pacientes sem histórico de viagens.¹⁵ Entretanto, faltam informações para avaliar a capacidade de transmissão autóctone.

Conclusão

Salientamos a importância desse diagnóstico nos pacientes provenientes de áreas endêmicas, considerando-se o potencial para deformidades. Além disso, ressaltamos a relevância deste relato para a investigação epidemiológica da possibilidade de transmissão autóctone de espécies do velho mundo no país.

Suporte financeiro

Nenhum.

Contribuição dos autores

Cindy Tiemi Matsumoto: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

Milvia Maria Simões e Silva Enokihara: Participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura.

Marília Marufuji Ogawa: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

Samira Yarak: Levantamento dos dados, ou análise e interpretação dos dados; redação do artigo ou revisão crítica do conteúdo intelectual importante; participação efetiva na orientação da pesquisa; participação intelectual em conduta propedêutica e/ou terapêutica de casos estudados; revisão crítica da literatura; aprovação final da versão final do manuscrito.

Conflito de interesses

Nenhum.

Agradecimento

Agradecemos ao Centro de Diagnóstico e Pesquisa em Biologia Dr. Ivo Ricci (São Carlos, SP, Brasil) e Macrogen (Coreia do Sul) pela identificação molecular.

Referências

1. Real F, Mortara RA, Rabinovitch M. Fusion between *Leishmania amazonensis* and *Leishmania major* parasitophorous vacuoles: live imaging of coinfecting macrophages. *PLoS Negl Trop Dis*. 2010;4:e905.
2. Akhoundi M, Downing T, Votýpka J, Kuhls K, Lukeš J, Cannet A, et al. *Leishmania* infections: Molecular targets and diagnosis. *Mol Aspects Med*. 2017;57:1–29.
3. Prestes SR, Guerra JA, Romero GA, Magalhães LK, Santana RA, Maciel MG, et al. Polymerase chain reaction-based method for the identification of *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *Leishmania (Viannia) guyanensis* in mucosal tissues conserved in paraffin. *Rev Soc Bras Med Trop*. 2015;48:555–9.
4. Reale S, Maxia L, Vitale F, Glorioso NS, Caracappa S, Vesco G. Detection of *Leishmania infantum* in dogs by PCR with lymph node aspirates and blood. *J Clin Microbiol*. 1999;37:2931–5.
5. Uzun S, Gürel MS, Durdu M, Akyol M, Karaman BF, Aksoy M, et al. Clinical practice guidelines for the diagnosis and tre-

atment of cutaneous leishmaniasis in Turkey. *Int J Dermatol*. 2018;57:973–82.

6. Alvarado R, Enk C, Jaber K, Schnur L, Frankenburg S. Delayed-type hypersensitivity, and lymphocyte proliferation in response to *Leishmania major* infection in a group of children in Jericho. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 1989;83:189–92.
7. Al-Salem WS, Pigott DM, Subramaniam K, Haines LR, Kelly-Hope L, Molyneux DH, et al. Cutaneous Leishmaniasis and Conflict in Syria. *Emerg Infect Dis*. 2016;22:931–3.
8. Saroufim M, Charafeddine K, Issa G, Khalifeh H, Habib RH, Berry A, et al. Ongoing epidemic of cutaneous leishmaniasis among Syrian refugees. *Lebanon. Emerg Infect Dis*. 2014;20:1712–5.
9. gov.br [Internet]. Coordenação-Geral do Comitê Nacional para os Refugiados. Refúgio em números, 4ª edição. Ministério da justiça e segurança pública. 2019 [cited 2022 Apr 23]. Available from: https://www.gov.br/mj/pt-br/assuntos/seus-direitos/refugio/refugio-em-numeros-e-publicacoes/anexos/refugio_em_numeros-4e.pdf.
10. Özbilgin A, Gencoglan G, Tunali V, Çavuş I, Yıldırım A, Gündüz C, et al. Refugees at the Crossroads of Continents: A Molecular Approach for Cutaneous Leishmaniasis Among Refugees in Turkey. *Acta Parasitol*. 2020;65:136–43.
11. Khamesipour A, Rathb B. Refugee health and the risk of cutaneous Leishmaniasis in Europe. *Int J Infect Dis*. 2016;53S:95–6.
12. Guimarães AC, Nogueira PM, Silva SO, Sadlova J, Pruzinova K, Hlavacova J, et al. Lower galactosylation levels of the Lipophosphoglycan from *Leishmania (Leishmania) major*-like strains affect interaction with *Phlebotomus papatasi* and *Lutzomyia longipalpis*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. 2018;113:e170333.
13. Soares RPP, Turco SJ. *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Phlebotominae): a review. *An Acad Bras Ciênc*. 2003;75:301–30.
14. Almeida LV, Luís Reis-Cunha JL, Coqueiro-Dos-Santos A, Rodrigues-Luís GF, Baptista RP, de Silva SO, et al. Comparative genomics of *Leishmania* isolates from Brazil confirms the presence of *Leishmania major* in the Americas. *Int J Parasitol*. 2021;51:1047–57.
15. Silva SO, Wu AA, Evans DA, Vieira LQ, Melo MN. *Leishmania* sp. isolated from human cases of cutaneous leishmaniasis in Brazil characterized as *Leishmania major*-like. *Acta Trop*. 2009;112:239–48.

Cindy Tiemi Matsumoto ,
Milvia Maria Simões e Silva Enokihara ,
Marília Marufuji Ogawa * e Samira Yarak 

Departamento de Dermatologia, Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

* Autor para correspondência.

E-mail: mariliaogawa@uol.com.br (M.M. Ogawa).

Recebido em 4 de maio de 2022; aceito em 30 de julho de 2022

<https://doi.org/10.1016/j.abdp.2023.03.009>
2666-2752/ © 2023 Publicado por Elsevier España, S.L.U. em nome de Sociedade Brasileira de Dermatologia. Este é um artigo Open Access sob uma licença CC BY (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).