



Leishmaniose: confirmação laboratorial de casos clínicos suspeitos de infeção entre 2008 e 2013

Susana Martins, Anabela Vilares, Idalina Ferreira, Tânia Reis, Maria João Gargaté

m.joao.gargate@insa.min-saude.pt

Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas. Departamento de Doenças Infecciosas, INSA.

Introdução

A leishmaniose é uma doença infecciosa causada por um variado número de espécies de um protozoário parasita pertencente ao género *Leishmania*. A transmissão é assegurada quando uma fêmea de diferentes espécies de *Phlebotomus* (Velho mundo) ou *Lutzomyia* (Novo mundo) efetua a sua refeição de sangue num indivíduo. O contágio inter-humano é possível mas raro, podendo ocorrer por transfusões de sangue, partilha de seringas e transmissão materno fetal (1). O cão é o principal reservatório e também o principal hospedeiro deste parasita. O género *Leishmania* inclui aproximadamente 30 espécies, a maioria das quais infeta o Homem originando quatro apresentações clínicas diferentes: leishmaniose visceral (LV) ou síndrome de kala-azar (a forma mais severa da doença), leishmaniose cutânea (LC) (a forma mais comum da doença), leishmaniose cutânea difusa e leishmaniose mucocutânea.

A nível mundial, estima-se que ocorram 1,3 milhões de novos casos e 20.000 a 30.000 mortes por ano provocados por esta parasitose. Relativamente à forma mais grave da doença (LV) estima-se que surjam entre 0,2 e 0,4 milhões de novos casos por ano em todo o mundo (1). Nos anos 80, esta apresentação clínica de LV assumiu grande importância devido à pandemia VIH/SIDA, atingindo mais de 35% do total de doentes infetados, tornando-se, à data, a terceira doença parasitária oportunista mais frequente da infeção VIH/SIDA, a seguir à toxoplasmose e à criptosporidiose (2). Em Portugal, a leishmaniose é endémica, causada pela espécie *L. infantum*, sendo a apresentação clínica predominante, a leishmaniose visceral. A leishmaniose cutânea é rara em Portugal, e os úl-

timos registos, datados dos anos 40, ocorreram nas bacias hidrográficas dos rios Douro, Tejo e Sado (3).

O diagnóstico laboratorial realizado no INSA pode ser efetuado pela identificação direta das formas amastigotas em esfregaços de sangue ou tecidos normalmente aspirados esplénicos, biópsias hepáticas ou punções medulares, após coloração de Giemsa ou hematoxilina-eosina; pelo isolamento e identificação das formas promastigotas em culturas a 27 °C em meio NNN ou *Schneider's drosophila* a partir de punções medulares e sangues periféricos; por testes imunológicos (IFI, ELISA, Immunoblot), que não deverão ser utilizados no caso de crianças e de doentes imunocomprometidos, que apresentam baixos títulos de anticorpos e, por isso, não é possível distinguir uma infeção ativa de uma infeção antiga. Por último, as técnicas de biologia molecular a partir de sangue periférico ou tecidos, possuem uma elevada sensibilidade e especificidade e permitem identificar rapidamente uma infeção ativa.

Objetivo

Este estudo tem como objetivo descrever as características demográficas de doentes com quadro clínico suspeito de leishmaniose, cujo diagnóstico laboratorial foi confirmado no Laboratório Nacional de Referência de Infeções Parasitárias e Fúngicas do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA) entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013.

Material e métodos

Foi efetuada a análise retrospectiva dos resultados laboratoriais de todos os casos com suspeita clínica de leishmaniose, que recorreram ao INSA para confirmação ou exclusão do diagnóstico, entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013.

Para o diagnóstico laboratorial da infeção por *Leishmania* foram utilizadas métodos serológicos (ELISA (RBioPharma), IFI (Biomerieux), Immunoblot (Ldbio Iberlab)) e o método molecular nested PCR para amplificação da região variável do gene codificante SSUrRNA, adaptado e modificado de Cruz L. *et al* (4). Para a análise descritiva dos dados demográficos dos casos confirmados, recorreu-se ao cálculo de frequências absolutas e relativas.

artigos breves_ n. 6

_Resultados

Entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013 foram analisadas, por métodos serológicos e/ou moleculares, amostras biológicas de doentes com suspeita clínica de leishmaniose. Nos casos em que o quadro clínico foi conhecido, 80% apresentavam esplenomegalia. Destas amostras analisadas, confirmaram-se 37 (17,7%) casos positivos: 26 (70%) por métodos serológicos, 10 (27%) por PCR e 1 (3%) por ambas as metodologias.

Na **Tabela 1** apresenta-se o número total de casos com quadro clínico suspeito, recebidos no INSA entre 2008 e 2013, e o número de casos com diagnóstico laboratorial confirmado, por ano de diagnóstico.

Tabela 1: Distribuição dos casos de leishmaniose por ano, 2008-2013.

Ano	Número total de casos analisados	Diagnóstico laboratorial
		Resultado positivo N° (%)
2008	78	14 (17,9)
2009	39	7 (17,9)
2010	37	8 (21,6)
2011	25	2 (8,0)
2012	15	3 (20,0)
2013	15	3 (20,0)
Total	209	37 (17,7)

Em relação à distribuição dos casos positivos por distrito de residência, observou-se que a maioria dos doentes residia no distrito de Castelo Branco (24,3%), seguido do distrito de Setúbal (21,6%) e de Faro (10,8%) (**Gráfico 1**).

Dos doentes cujo género foi conhecido, verificou-se que 58,3% (21/36) pertenciam ao género masculino e 41,7% (15/36) ao género feminino.

A idade foi conhecida em 33 dos 37 doentes com infeção por *Leishmania* sp. Observaram-se 8 casos em crianças: uma criança com 11

meses de idade, cinco com idades compreendidas entre 1 e 4 anos e duas crianças com 14 e 17 anos. Em relação à população adulta, 75,7% (25/33) dos casos ocorreram em doentes com idade igual ou superior a 21 anos, sendo o grupo etário dos 31 aos 50 anos o mais frequente, com 33,3% (11/37) de casos de infeção por *Leishmania* sp. (**Gráfico 2**).

Gráfico 1: Distribuição dos casos de leishmaniose por distrito de residência, 2008-2013.

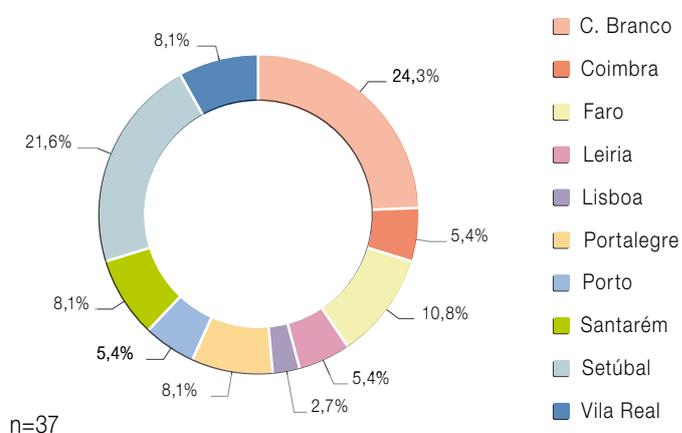
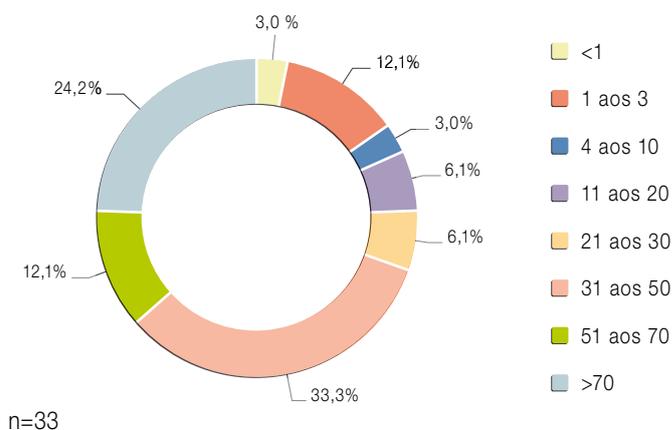


Gráfico 2: Distribuição dos casos de leishmaniose por grupo etário, 2008-2013.





Discussão e conclusão

Entre 2008 e 2013, e segundo o último relatório das Doenças de Declaração Obrigatória 2009-2012 da Direção-Geral da Saúde (DGS), foram notificados 42 casos de leishmaniose (38 confirmados e 4 prováveis), sendo a maioria crianças, entre 1 e 4 anos de idade e do sexo masculino (5). Durante os últimos 6 anos (2008-2013), o Laboratório Nacional de Referência de Infecções Parasitárias e Fúngicas do INSA confirmou 37 casos com suspeita clínica de leishmaniose. Apesar de o Laboratório de Referência do INSA não ser o único, a nível nacional, a efetuar o diagnóstico laboratorial pode-se equacionar a existência de subnotificação desta doença, seguindo o descrito por Serra E., ao concluir que, entre 1999-2009, dos 375 indivíduos internados com Leishmaniose visceral em vários hospitais de Portugal continental, 38,6% foram notificados (6). De acordo com os últimos dados da Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2011 e 2012, não foram declarados casos de leishmaniose em Portugal, tendo sido notificados 88 casos, entre 2005 e 2010 (7). O relatório anual de 2013 do *European Centre for Disease Prevention and Control* (ECDC) não refere quaisquer dados sobre a ocorrência de leishmaniose nos países europeus, informação esta que vem reforçar a hipótese anteriormente levantada relativamente à subnotificação desta parasitose.

Em relação ao presente estudo, a maioria dos casos ocorreram em indivíduos com idade igual ou superior a 31 anos, o que é corroborado por Campino L. e Ravel, que afirmaram que esta doença deixou de ser considerada predominantemente infantil e passou a emergir na população adulta jovem, em particular nos indivíduos imunocomprometidos com coinfeção VIH/SIDA (8, 9).

A maioria dos casos positivos confirmados neste estudo foi proveniente da Beira Interior (Castelo Branco), seguido da Região de Lisboa e Vale do Tejo (Setúbal e Lisboa) e do Algarve (Faro), o que está de acordo com o estudo realizado por Serrada E., na primeira década de 2000, no que respeita à região de Lisboa e Vale do Tejo (6). Contudo, a urbanização/domesticação dos focos zoonóticos naturais e a diminuição da população canina nas áreas urbanas aumenta a vulnerabilidade do homem à infeção acidental (10).

As alterações climáticas/ambientais e socioeconómicas em Portugal, assim como a resistência do parasita e do vetor aos fármacos e

inseticidas em uso, podem favorecer a emergência e/ou reemergência da leishmaniose no nosso país. Estes factos, associados ao desconhecimento da população sobre a doença e à sua subnotificação, alertam para a importância de se desenvolver um plano nacional de diagnóstico e de prevenção e controlo, quer do vetor, quer da doença humana e canina em Portugal.

Agradecimentos

À Doutora Cristina Furtado pela revisão científica do artigo.

Referências bibliográficas:

- (1) Antunes F (ed). Manual sobre doenças Infecciosas. Lisboa: Permanyer Portugal, 2003, p. 428-30.
- (2) Gargaté MJ. Leishmaniose. In: Núncio MS, Alves, MJ (eds). Doenças associadas a artrópodes vetores e roedores. Lisboa: INSA, IP, 2014, p. 63-69. [LINK](#)
- (3) Ramo A, Farinhote AA. Contribuição para o conhecimento do kala-azar em Portugal. *Ann Inst Med Trop (Lisb)*. 1952;9(4):1485-1500.
- (4) Cruz I, Cañavate C, Rubio JM, et al. A nested polymerase chain reaction (Ln-PCR) for diagnosing and monitoring *Leishmania infantum* infection in patients co-infected with human immunodeficiency virus. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 2002;96(Suppl1):S185-9.
- (5) Direção-Geral da saúde. Doenças de Declaração Obrigatória, 2009/2012. Lisboa: DGS, 2014. (Vol. 1). [LINK](#)
- (6) Serrada E. A leishmaniose visceral em Portugal continental (1999-2009), Lisboa: [s.n.], 2010, p. 75-85. Dissertação de mestrado. [LINK](#)
- (7) World Health Organization. Leishmaniasis [Em linha]. Geneva: WHO, 2014. (Fact sheet n°375). [consult. 2/6/2014]. [LINK](#)
- (8) Campino L. Leishmanioses em Portugal: características emergentes da epidemiologia e do diagnóstico. Lisboa: [s.n.], 1998. Tese de doutoramento.
- (9) Ravel C, Cortes S, Pratlong F, et al. First report of genetic hybrids between two very divergent *Leishmania* species: *Leishmania infantum* and *Leishmania major*. *Int J Parasitol*. 2006 Nov;36(13):1383-8.
- (10) Abranches P, Pires CA, Conceição-Silva FM, et al. O kala-azar em Portugal: VI Inquérito epidemiológico realizado na região metropolitana de Lisboa: interpretação da estrutura e dinâmica do foco endémico. *J Soc Cienc Med Lisb*. 1987;151:364-79.