

Vigilância da leishmaniose cutânea em amostras clínicas: distribuição da *Leishmania guyanensis* no estado do Amapá, 2018*

doi: 10.5123/S1679-49742020000100007

Surveillance of cutaneous leishmaniasis in clinical samples: distribution of *Leishmania guyanensis* in the state of Amapá, Brazil, 2018

Vigilancia de la leishmaniasis cutánea en muestras clínicas: distribución de la *Leishmania guyanensis* en el estado de Amapá, Brasil, 2018

Ariely Nunes Ferreira de Almeida¹ –  orcid.org/0000-0001-5788-6920
Luciana de Cássia Silva do Nascimento² –  orcid.org/0000-0002-0783-1814
Edith Sílvia Moura de Moura Sousa³ –  orcid.org/0000-0003-1229-1995
Afonso José Diger de Oliveira³ –  orcid.org/0000-0003-1429-9579
Maria Gorete de Sena³ –  orcid.org/0000-0003-3986-4204
Breno Maués de Resende² –  orcid.org/0000-0003-1232-032X
Raimunda Cleide Gonçalves Chaves⁴ –  orcid.org/0000-0002-1563-7149
Lourdes Maria Garcez² –  orcid.org/0000-0003-2231-3561

¹Universidade Federal do Amapá, Departamento de Ciências Biológicas e da Saúde, Macapá, AP, Brasil

²Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Instituto Evandro Chagas, Ananindeua, PA, Brasil

³Secretaria de Estado da Saúde, Centro de Referência em Doenças Tropicais, Macapá, AP, Brasil

⁴Superintendência de Vigilância em Saúde, Unidade de Controle de Zoonoses, Macapá, AP, Brasil

Resumo

Objetivo: investigar as espécies de *Leishmania* em uma série de casos de leishmaniose cutânea (LC) autóctones do estado do Amapá, Amazônia brasileira. **Métodos:** estudo descritivo realizado em centro de referência para o diagnóstico da LC no Amapá, de janeiro a outubro/2018; foram recrutados indivíduos com LC atendidos de janeiro a maio/2018; obtiveram-se dados clínicos e biópsias de pele; do DNA extraído (fenol-clorofórmio), amplificou-se a região gênica hsp70-234 (PCR) para sequenciamento nucleotídico (Applied Biosystems: ABI3500XL). **Resultados:** entrevistados, examinados e diagnosticados 38 indivíduos, predominaram homens (28/38; idade média=32,5±11,3); lesões (ulceradas: 37/38), medindo 0,4-10mm (34/38) e ≥11mm (4/38), eram múltiplas em 20/38 indivíduos; diagnóstico de *L. braziliensis* (1), *L. naiiffi* (1), *L. infantum* (1), *L. (Viannia) sp.* (1), *L. amazonensis* (2) e *L. guyanensis* (32); indivíduos infectados com *L. guyanensis* (32/38) viviam em 9/10 municípios considerados na casuística, e destes, 17/32 apresentavam múltiplas lesões. **Conclusão:** predominância de *Leishmania guyanensis*, frequentemente associada a múltiplas lesões.

Palavras-chave: Leishmaniose Cutânea; *Leishmania guyanensis*; Epidemiologia Molecular; Ecossistema Amazônico; Epidemiologia Descritiva.

*A pesquisa contou com o apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Amapá (FAPEAP) – Processo nº 250.203.039/2016 – e com uma bolsa de doutorado da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Pará (FAPESPA) – Processo nº 003/2014.

Endereço para correspondência:

Lourdes Maria Garcez – Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Instituto Evandro Chagas, BR 316, km 7, Ananindeua, PA, Brasil. CEP: 67030-000

E-mail: lourdesgarcez@iec.gov.br



Introdução

As leishmanioses, doenças tropicais negligenciadas, são causadas por protozoários do gênero *Leishmania* e apresentam duas formas clínicas principais: leishmaniose tegumentar (LT), cutânea e/ou mucosa; e leishmaniose visceral (LV).¹

De 2007 a 2015, foram registrados 6.801 casos de leishmaniose cutânea (LC) no estado do Amapá.² A LC pode evoluir para formas graves, embora não fatais. Contudo, entre 2017 e 2018, a Superintendência de Vigilância em Saúde do Amapá registrou três óbitos de pacientes com LC em tratamento com o medicamento Glucantime®³ e 19 casos de LV canina.⁴ Ainda em 2018, confirmou-se o primeiro caso de LV humana autóctone no estado: indivíduo ribeirinho, com 82 anos de idade, infectado no município de Mazagão, ido a óbito por complicações de cirrose hepática.⁴

A vigilância da LV, causada pelo agente etiológico *Leishmania infantum*, favorece o diagnóstico e o tratamento precoces, reduzindo o risco de morte.

A vigilância da LV, causada pelo agente etiológico *Leishmania infantum*, favorece o diagnóstico e o tratamento precoces, reduzindo o risco de morte. Entretanto, o óbito em portador de LC é incomum e, normalmente, decorre de comorbidades agravadas pela toxicidade do Glucantime®.⁵ Entre os agentes da LC, *Leishmania braziliensis* e, principalmente, *Leishmania guyanensis*, exibem resistência ao Glucantime®, cujo uso prolongado eleva o risco de eventos adversos.⁶ A *L. guyanensis* ocorre no Norte do Brasil,^{1,7,8} mas sua frequência e distribuição no Amapá são desconhecidas.

O objetivo desse estudo foi investigar as espécies de *Leishmania* em uma série de casos autóctones de leishmaniose cutânea no Amapá, em 2018.

Métodos

Realizou-se estudo descritivo em série de casos de LC. O Amapá possui 670 mil habitantes, distribuídos em 16 municípios.⁹ Banhado pelo oceano Atlântico, o estado faz fronteira com o Suriname e a Guiana

Francesa ao norte, e com o estado do Pará ao sul. Em 2018, o coeficiente de detecção da LC no Amapá foi de 68,7/100 mil habitantes, com casos autóctones em 14 dos 16 municípios do estado.³ Insetos flebotomíneos, potenciais vetores de LC, são abundantes nessa sub-região amazônica,^{8,10,11} endêmica para LC.^{2,3}

Para a coleta de dados, foram recrutados indivíduos atendidos no Centro de Referência em Doenças Tropicais do Amapá no período de janeiro a maio de 2018. Foram critérios de inclusão no estudo: homens e mulheres maiores de 12 anos de idade, com lesão primária sugestiva de LC há pelo menos duas semanas. Aqueles com contraindicação médica para anestesia e/ou biópsia ou com outro diagnóstico laboratorial foram excluídos.

As espécies de *Leishmania* identificadas na pesquisa foram avaliadas em relação às seguintes variáveis:

- a) sociodemográficas
 - sexo;
 - município de infecção;
 - idade média; e
 - faixas etárias;
- b) clínicas
 - número de casos;
 - tipo de lesão (úlceras; verrucosa);
 - diâmetro da lesão;
 - localização das lesões no corpo; e
 - manifestações clínicas predominantes (crosta, infecção secundária, lesões-satélites etc.).

A mensuração das variáveis e o diagnóstico de *Leishmania* basearam-se em critérios de vigilância das leishmanioses definidos na publicação de manual técnico pelo Ministério da Saúde,¹ e em técnicas moleculares.^{12,13}

Para confirmar a infecção, usou-se o exsudato da lesão, obtido por raspagem, para esfregaço em lâmina, corado pelo Giemsa, na pesquisa microscópica de amastigotas.¹ A caracterização de *Leishmania* realizou-se com DNA extraído da pele (fenol-clorofórmio). Para a coleta de pele, procedeu-se a biópsia em lesão com anestesia local (lidocaína a 2%). Manteve-se a amostra em frasco contendo 0,5mL de NET (NaCl 0,15mM; EDTA 50mM; Tris-HCl 0,1M/pH 7,5). Para assegurar a qualidade das amostras de pele/DNA extraído, manteve-se controle diário de temperatura (2-8°C) em geladeira. Realizou-se a reação em cadeia da polimerase (*polymerase chain reaction* [PCR]) e posterior sequenciamento do alvo de 234 pares de

base, região gênica codificadora da proteína 70 de choque térmico no DNA de *Leishmania* (*hsp70-234*).¹²

Os ensaios realizados foram:

a) Reação em cadeia de polimerase – PCR

A PCR baseou-se em *hsp70-234* de *Leishmania*, altamente sensível para detecção de DNA do protozoário e discriminação de espécies.¹² Condições do ensaio: Mix 50mL (Taq DNA polimerase 0,03U/μL; MgCl₂ 1,5mM; tampão KCl buffer Invitrogen®; dNTPs 0,25mM; iniciadores F- 5' GGA CGA GAT CGA GCG CAT GGT 3' e R- 5' TCC TTC GAC GCC TCC TGG TTG 3', 0,2pM cada; DNA 3,0μL); desnaturação, anelamento e extensão (1x 94°C/5'; 32x 94°C/0,5', 61°C/1' e 72°C/1'); e extensão final (72°C/10'). O resultado positivo confirma presença de DNA de *Leishmania* na lesão, pois significa amplificação do fragmento gênico *hsp70-234*.¹²

b) Sequenciamento de DNA

Este procedimento identifica a sequência de bases nucleotídicas da região gênica *hsp70-234*, confirmando a distinção entre espécies de *Leishmania* ao compará-la com sequências bem caracterizadas, disponíveis no *GenBank*. Para tanto, os produtos da PCR-*hsp70-234* foram purificados (*illustra ExoProStar*; *GE Healthcare Life Science*) e sequenciados (*forward e reverse*) no analisador automático de DNA ABI3500XL, com o *BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit* (*Applied Biosystems*). Na análise de sequências, utilizou-se o programa BioEdit e o aplicativo Basic Local Alignment Search Tool (BLAST).¹³ Amostras-controle foram DNA de *L. braziliensis* (MHOM/BR/1975/M2904), *L. guyanensis* (MHOM/BR/1975/M4147), *L. lainsoni* (MHOM/BR1881/M6426), *L. sbawi* (MCEB/BR/1984/M8408), *L. naiffi* (MDAS/BR/1979/M533) e *L. amazonensis* (IFLA/BR/1968/PH8).

Para tabelas de frequências e cálculos da média e desvio-padrão, utilizou-se o *software* BioStat 5.0 (disponível em: www.mamiraua.org.br).

O projeto do estudo teve aprovação dos Comitês de Ética da Universidade Federal do Amapá (Certificado de Apresentação para Apreciação Ética [CAAE] nº 57036716.0.0000.0003, aprovado em

22/08/2016) e do Instituto Evandro Chagas (CAAE nº 57036716.0.3001.0019, aprovado em 03/10/2016).

Resultados

Foram incluídos 38 indivíduos com LC, sendo 28 homens e 10 mulheres com idades de 13 a 81 anos e média de 34,4 anos (desvio-padrão: 14,2), residentes em dez municípios do Amapá. Destes municípios, Mazagão referiu o maior número de casos (n=13). O agente etiológico mais frequente entre os participantes foi a *Leishmania guyanensis* (32/38). Aspectos clínico-demográficos e etiologia dos casos de LC são apresentados na Tabela 1.

Quanto ao número de lesões, 20 indivíduos apresentaram lesões múltiplas e 18 lesão única. Em 37/38 casos, as lesões foram do tipo úlcera, a maioria com diâmetro de 5 a 6cm, localizadas, predominantemente, em membros superiores (n=9) e inferiores (n=11). As manifestações clínicas predominantes foram crosta, infecção secundária e lesões-satélite. As características das lesões dos indivíduos com LC e os respectivos agentes etiológicos identificados após sequenciamento e análise da região gênica *Hsp70-234* de *Leishmania* são descritos na Tabela 2.

O presente estudo contém o primeiro relato de *L. infantum* associada a LC no Amapá: mulher, 35 anos de idade, infectada no município de Porto Grande, com múltiplas lesões cutâneas verrucosas pelo corpo, de tamanhos variados, inclusive em coxas e pernas, sem doença visceral.

Discussão

O agente etiológico mais frequente, entre as cinco espécies identificadas em indivíduos com LC no Amapá, foi a *L. guyanensis*: 32 dos 38 casos analisados. O marcador *hsp70-234* de *Leishmania* discrimina seis patógenos na Amazônia.^{12,14} A especificidade da *hsp70-234* não foi previamente avaliada para *L. lindenbergi*, o sétimo patógeno causador de LC humana na Amazônia.⁸ Certas espécies de *Leishmania* identificadas neste estudo merecem destaque: (i) *Leishmania amazonensis*, que além da LC localizada, pode provocar leishmaniose difusa anérgica, raramente curável; e (ii) *Leishmania guyanensis* e *L. braziliensis*, as quais induzem lesões cutâneas/mucosas de difícil resolução,^{1,15} com alto grau de

Tabela 1 – Aspectos sociodemográficos e etiologia da leishmaniose cutânea em homens e mulheres de uma série de casos da doença no estado do Amapá, 2018

Variáveis	Sexo		Total n=38
	Masculino n=28	Feminino n=10	
Faixa etária (em anos)			
12 —20	3	3	6
20 —30	9	1	10
30 —40	9	1	10
40 —50	5	3	8
50 —60	2	1	3
60 —81	–	1	1
Média de idade (desvio-padrão)	32,5 (11,3)	39,9 (19,9)	34,4 (14,2)
Município de infecção			
Mazagão	10	3	13
Porto Grande	3	4	7
Serra do Navio	5	–	5
Tartarugalzinho	3	–	3
Laranjal do Jari	3	–	3
Santana	–	2	2
Oiapoque	2	–	2
Ferreira Gomes	1	–	1
Pedra Branca do Amapari	1	–	1
Calçoene	–	1	1
Diagnóstico molecular (espécie <i>Leishmania</i>)^a			
<i>Leishmania (Viannia) guyanensis</i>	23	9	32
<i>Leishmania (Leishmania) amazonensis</i>	2	–	2
<i>Leishmania (Viannia) braziliensis</i>	1	–	1
<i>Leishmania (Viannia) naiffi</i>	1	–	1
<i>Leishmania (Leishmania) infantum</i>	–	1	1
<i>Leishmania (Viannia) sp</i>	1	–	1

a) Diagnóstico molecular baseou-se na reação em cadeia de polimerase (PCR) e no sequenciamento da região gênica *hsp70-234* de *Leishmania*.

Tabela 2 – Características das lesões observadas em indivíduos com leishmaniose cutânea (n=38) e respectivos agentes etiológicos, identificados após sequenciamento e análise da região gênica *hsp70-234* de *Leishmania*, Amapá, 2018

Variáveis	Espécies de <i>Leishmania</i>						Total (n)
	<i>Leishmania guyanensis</i>	<i>Leishmania amazonensis</i>	<i>Leishmania braziliensis</i>	<i>Leishmania naiffi</i>	<i>Leishmania infantum</i>	<i>Leishmania (Viannia)sp</i>	
Número							
Única	15	1	1	1	–	–	18
Múltiplas	17	1	–	–	1	1	20
Tipo							
Úlcera	32	2	1	1	–	1	37
Verrucosa	–	–	–	–	1	–	1
Diâmetro (em cm)							
0,4 —2	5	1	–	1	–	1	8
2 —4	4	–	1	–	–	–	5
4 —6	9	1	–	–	–	–	10
6 —8	5	–	–	–	1	–	6
8 —10	5	–	–	–	–	–	5
10 —	4	–	–	–	–	–	4
Localização							
Cabeça/face	–	–	–	1	–	–	1
Tronco	2	–	–	–	–	–	2
Membros superiores	7	1	1	–	–	–	9
Membros inferiores	11	–	–	–	–	–	11
Cabeça e tronco	1	–	–	–	–	–	1
Cabeça, membros superiores e inferiores	2	–	–	–	–	–	2
Cabeça, tronco e membros inferiores	1	–	–	–	–	–	1
Tronco e membros superiores	1	–	–	–	–	–	1
Tronco e membros inferiores	4	–	–	–	–	–	4
Membros superiores e inferiores	3	1	–	–	1	1	6
Manifestações clínicas predominantes (tipos)^a							
Crosta	16	–	–	1	–	1	18
Infecção secundária	9	–	–	–	–	1	10
Lesões-satélite	5	1	–	–	–	–	6
Linfangite	5	–	–	–	–	–	5
Linfadenopatia	2	–	–	–	–	–	2
Fibrose	1	–	–	–	–	–	1
Cefaleia	1	–	–	–	–	–	1
Erisipela	1	–	–	–	–	–	1

a) Um ou mais tipos de manifestações associadas ocorreu, eventualmente, no mesmo indivíduo portador de LC.

hipersensibilidade, inclusive surgidas meses ou anos após a cura clínica da lesão primária.¹ Somente um longo acompanhamento médico garantiria eficácia no diagnóstico e tratamento de recidivas.¹⁵ Mesmo na ausência de envolvimento mucoso, conhecer o patógeno permite definir um prognóstico.

Indivíduos com LC por *L. braziliensis* e *L. naiffi* tinham úlcera única. A *Leishmania braziliensis* é amplamente distribuída no Brasil.¹ A infecção por *L. naiffi* em humanos se limitava aos estados do Amazonas, Acre, Pará, Rondônia e Mato Grosso,¹⁶ sem complicações relatadas, até o presente estudo revelar o primeiro caso de LC por *L. naiffi* no Amapá.

L. infantum é filogeneticamente próximo à *Leishmania donovani*, agente de IV e leishmaniose dérmica pós-calazar no Velho Mundo;¹⁷ a ocorrência de lesões cutâneas por *L. infantum* em imunocompetentes é incomum nas Américas, sobretudo no Brasil.^{14,18}

Em africanos com LC, isolou-se *L. infantum* da pele, com lesão histologicamente distinta da provocada por *Leishmania major*.¹⁹ Desde 2015, casos de LC por *L. infantum* são registrados em diferentes estados brasileiros.^{14,18} Na África ou nas Américas, as características clínicas da LC variam segundo o agente etiológico.^{1,19} Este estudo destaca o pleomorfismo da LC por *L. infantum*, alertando sobre a necessária atenção ao diagnóstico precoce²⁰ e, nesse sentido, a importância da vigilância para a prevenção também da IV humana no Amapá.

Focos da LC no Amapá são identificados principalmente em áreas de assentamento agrícola, extrativismo vegetal e garimpo,² onde são mais atingidos pela infecção homens em idade produtiva. A maioria dos indivíduos analisados apresentava múltiplas lesões primárias, sugerindo diversas picadas do vetor, um comportamento reconhecido do *Nyssomyia umbratilis*, agente transmissor da *L. guyanensis*.^{1,8} Nesses casos, tratamentos prolongados com Glucantime® seriam necessários; entretanto, há expressiva morbidade e inclusive óbitos associados à toxicidade deste quimioterápico.^{3,5,21,22}

Embora o Glucantime® seja a primeira opção de fármaco para LC no Brasil, recomenda-se Isotionato de Pentamidina® onde houver predomínio de *L. guyanensis*.¹ Os doentes infectados com *L. guyanensis* provinham de nove dos dez municípios considerados na casuística, sugerindo ampla distribuição da espécie no Amapá, onde a fauna de vetores é exuberante.^{8,10,11}

A infecção de *L. braziliensis* e *L. guyanensis* pelo vírus de RNA de *Leishmania* subtipo 1, observada no Peru, Bolívia, Guiana Francesa, Suriname e Brasil, explicaria a alta virulência e resistência dessas espécies à droga.²³ O monitoramento de fatores biológicos da LC faz-se necessário, sobretudo nas regiões de fronteiras.

Em relação ao tratamento, em 2017, o Isotionato de Pentamidina® foi considerado preferencial em relação ao Glucantime® para tratamento sistêmico da LC em áreas onde predomina a *L. guyanensis* no Brasil. Na presença de (i) insuficiência renal, cardíaca e hepática, (ii) transplantados renais, cardíacos e hepáticos, (iii) gestantes e pessoas acima de 50 anos de idade, recomenda-se o uso da Anfotericina B® lipossomal. O Glucantime® seria primeira opção apenas para uso intralesional nessas áreas.¹ Os resultados encontrados por este trabalho fundamentam as novas orientações terapêuticas para tratamento da LC no Amapá, adotadas a partir de 2018.²⁴

Conclui-se haver predominância de infecção por *L. guyanensis* no Amapá, frequentemente associada a múltiplas lesões, adicionalmente aos primeiros relatos da presença de *Leishmania naiffi* e de *L. infantum* em amostras clínicas de LC no estado do Amapá.

Agradecimentos

À Dra. Inês Celeste Ribeiro Martins, diretora do Centro de Referência em Doenças Tropicais do Amapá (CRDT-AP), e ao Dr. Aldo Aparecido Proietti Júnior, Coordenador do Laboratório Especial de Microbiologia Aplicada da Universidade Federal do Amapá (UNIFAP), pelo apoio à pesquisa, disponibilidade de espaços e condições necessárias para a realização do trabalho no CRDT/AP e para a adequada estocagem de amostras na UNIFAP.

Contribuição dos autores

Almeida ANF, LCS Nascimento LCS, Sousa ESMM, Oliveira AJD, Sena MG, Resende BM, Chaves RCG e Garcez LM contribuíram substancialmente, em todas as etapas do estudo: concepção, captação de recursos, coleta, análise e interpretação dos resultados, elaboração e revisão crítica do conteúdo intelectual do manuscrito. Todos os autores aprovaram a versão final e são responsáveis por todos os aspectos do trabalho, garantindo sua precisão e integridade.

Referências

1. Ministério da Saúde (BR). Secretaria de Vigilância das Doenças Transmissíveis. Manual de vigilância da leishmaniose tegumentar [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2017 [citado 2018 nov 21]. 190 p. Disponível em: http://bvsm.s.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_leishmaniose_tegumentar.pdf
2. Almeida ANE, Garcez LM, Araújo OCL. Leishmaniose tegumentar americana no estado do Amapá, Brasil: 2007 a 2015 [Internet]. In: Anais do 53º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical. 2017 ago 27-30; Campinas: Galoá; 2018 [citado 2018 nov 21]. Disponível em: <https://proceedings.science/medtrop/papers/leishmaniose-tegumentar-americana-no-estado-do-amapa%2C-brasil%3A-2007-a-2015>
3. Superintendência de Vigilância em Saúde (AP). Situação epidemiológica da leishmaniose tegumentar no estado do Amapá: período de 2017 a novembro de 2018. Bol Epidemiol [Internet]. 2018 [citado 2019 mar 12];2:1-5. Disponível em: https://editor.amapa.gov.br/arquivos_portais/publicacoes/SVS_4d77b443923909a984f01e74bf38240f.pdf
4. Superintendência de Vigilância em Saúde (AP). Diretoria Executiva de Vigilância em Saúde. Nota informativa: confirmado primeiro caso autóctone de leishmaniose visceral humana no estado do Amapá [Internet]. Amapá: Superintendência de Vigilância em Saúde; 2018 [citado 2019 mar 12]. Disponível em: <https://drive.google.com/file/d/1DA51roHaaHUQpKj003RveD06nPbgJB7/view>
5. Sundar S, Chakravarty J. Leishmaniasis: an update of current pharmacotherapy. Expert Opin Pharmacother [Internet]. 2013 Jan [cited 2019 Jul 16];14(1):53-63. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14656566.2013.755515>. doi: 10.1517/14656566.2013.755515
6. Romero GA, Guerra MV, Paes MG, Macêdo VO. Comparison of cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania (Viannia) braziliensis* and *L. (V.) guyanensis* in Brazil: therapeutic response to meglumine antimoniate. Am J Trop Med Hyg [Internet]. 2001 Nov [cited 2019 Jul 16];65(5):456-65. Available from: <http://www.ajtmh.org/docserver/fulltext/14761645/65/5/11716098.pdf?expires=1563806586&id=id&accname=guest&checksum=521DD0993B0869A3D5A44A65ECE28098>
7. Araujo-Pereira T, Pita-Pereira D, Moreira RB, Silva-Galdino T, Duarte MPO, Brazil RP, et al. Molecular diagnosis of cutaneous leishmaniasis in an endemic area of Acre State in the Amazonian Region of Brazil. Rev Soc Bras Med Trop [Internet]. 2018 May-Jun [cited 2019 Jul 16];51(3):376-81. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v51n3/1678-9849-rsbmt-51-03-376.pdf>. doi: 10.1590/0037-8682-0232-2017
8. Lainson R. Espécies neotropicais de *Leishmania*: uma breve revisão histórica sobre sua descoberta, ecologia e taxonomia. Rev Pan-Amaz Saude [Internet]. 2010 jun [citado 2019 jul 16];1(2):13-32. Disponível em: http://scielo.iec.gov.br/pdf/rpas/v1n2/pt_v1n2a02.pdf. doi: 10.5123/S2176-62232010000200002
9. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo demográfico 2010. Panorama Amapá. População no último censo [Internet]. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística; 2010 [citado 2018 nov 21]. Disponível em: <https://cidades.ibge.gov.br/brasil/ap/panorama>
10. Saraiva JF, Souto RNP, Ferreira RMA. Flebotomíneos (diptera: psychodidae) coletados em um assentamento rural no estado do Amapá, Brasil. Biota Amazônia [Internet]. 2011 [citado 2019 jul 16];1(1):58-62. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/view/145/v1n1p58-62.pdf>. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v1n1p58-62
11. Galardo AKR, Galardo CD, Santana AA, Mendes JCC, Souza FRA, Duarte JP, et al. Primeira ocorrência de *Lutzomyia (Lutzomyia) longipalpis* LUTZ & NEIVA, 1912 (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae) no estado do Amapá, Brasil. Biota Amazônia [Internet]. 2013 [citado 2019 jul 16];3(2):179-83. Disponível em: <https://periodicos.unifap.br/index.php/biota/article/view/688/v3n2p179-183.pdf>. doi: 10.18561/2179-5746/biotaamazonia.v3n2p179-183
12. Graça GC, Volpini AC, Romero GAS, Oliveira Neto MP, Hueb M, Porrozzi R, et al. Development and validation of PCR-based assays for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis and identification of the parasite species. Mem Inst Oswaldo Cruz [Internet]. 2012 Aug [cited 2019 Jul 16];107(5):664-74. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/mioc/v107n5/14.pdf>. doi: 10.1590/S0074-02762012000500014
13. Altschul SE, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. Basic local alignment search tool. J Mol Biol [Internet].

- 1990 Oct [cited 2019 Jul 16];215(3):403-10. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0022283605803602?via%3Dihub>. doi: 10.1016/S0022-2836(05)80360-2
14. Garcez LM, Hueb M, Cordies N, Sanchez L, Nascimento L, Santos R, et al. utaneous Leishmaniasis in Brazil: undeniable diversity of species is still poorly known [Internet]. In: Abstracts book: proceedings of the 6th World Congress on Leishmaniasis; 2017 16-20 may; Toledo, Spain; 2017 [citado 2018 nov 24]. p. 175. Available from: http://worldleish2017.org/documentos/Abstracts_Book_WL6_2017.pdf
 15. Burza S, Croft SL, Boelaert M. Leishmaniasis. *Lancet* [Internet]. 2018 Sep [cited 2019 Jul 16];392(10151):951-70. Available from: [https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736\(18\)31204-2/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/lancet/article/PIIS0140-6736(18)31204-2/fulltext). doi: 10.1016/S0140-6736(18)31204-2
 16. Figueira LP, Soares FV, Naiff Junior RD, Vinhote Silva AC, Silva SS, Epir TT, et al. New human case reports of cutaneous leishmaniasis by *Leishmania* (Viannia) naiffi in the Amazon region, Brazil. *Acta Amaz* [Internet]. 2017 Jan-Mar [cited 2019 Jul 16];47(1):47-52. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/aa/v47n1/1809-4392-aa-47-01-00047.pdf>. doi: 10.1590/1809-4392201601484
 17. Zijlstra EE, Alves F, Rijal S, Arana B, Alvar J. Post-kala-azar dermal leishmaniasis in the Indian subcontinent: a threat to the South-East Asia Region Kala-azar Elimination Programme. *PLoS Negl Trop Dis* [Internet]. 2017 Nov [cited 2019 Jul 16];11(11):e0005877. Available from: <https://journals.plos.org/plosntds/article?id=10.1371/journal.pntd.0005877>. doi: 10.1371/journal.pntd.0005877
 18. Lyra MR, Pimentel MIF, Madeira MF, Antonio LF, Lyra JPM, Fagundes A, et al. First report of cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania* (*Leishmania*) *infantum* chagasi in an urban area of Rio de Janeiro, Brazil. *Rev Inst Med Trop S. Paulo* [Internet]. 2015 Sep-Oct [cited 2019 Jul 16];57(5):451-4. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v57n5/0036-4665-rimtsp-57-05-00451.pdf>. doi: 10.1590/S0036-46652015000500016
 19. Boussoffara T, Boubaker MS, Ben Ahmed M, Mokni M, Guizani I, Salah AB, et al. Histological and immunological differences between zoonotic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania major* and sporadic cutaneous leishmaniasis due to *Leishmania infantum*. *Parasite* [Internet]. 2019 Feb [cited 2019 Jul 16];26:9. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6391896/>. doi: 10.1051/parasite/2019007
 20. Meireles CB, Maia LC, Soares GC, Teodoro IPP, Gadelha MDSV, Silva CGL, et al. Atypical presentations of cutaneous leishmaniasis: a systematic review. *Acta Trop* [Internet]. 2017 Aug [cited 2019 Jul 16];172:240-54. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0001706X17303406?via%3Dihub>. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.05.022
 21. Oliveira MC, Amorim RFB, Freitas RA, Costa ALL. A fatal case of mucocutaneous leishmaniasis after pentavalent antimonial use. *Rev Soc Bras Med Trop* [Internet]. 2005 May-Jun [cited 2019 Jul 16];38(3):258-60. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v38n3/24006.pdf>. doi: 10.1590/S0037-86822005000300011
 22. Lima MVN, Oliveira RZ, Lima AP, Cerino DA, Silveira TGV. Leishmaniose cutânea com desfecho fatal durante tratamento com antimonial pentavalente. *An Bras Dermatol* [Internet]. 2007 May-Jun [cited 2019 Jul 16];82(3):269-71. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/abd/v82n3/v82n03a10.pdf>. doi: 10.1590/S0365-05962007000300010
 23. Cantanhêde LM, Fernandes FG, Ferreira GEM, Porrozzi R, Ferreira RGM, Cupolillo E. New insights into the genetic diversity of *Leishmania* RNA Virus 1 and its species-specific relationship with *Leishmania* parasites. *PLoS One* [Internet]. 2018 Jun [cited 2019 Jul 16];13(6):e0198727. Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0198727>. doi: 10.1371/journal.pone.0198727
 24. Superintendência de Vigilância em Saúde (AP). Nota informativa nº 02/2018: atualização do protocolo terapêutico de pacientes de leishmaniose tegumentar (LT) no estado do Amapá, com a substituição da droga de primeira escolha para o Isotionato de Pentamidina [Internet]. Amapá: Superintendência de Vigilância em Saúde; 2018 [citado 2019 mar 12]. 6 p. Disponível em: https://editor.amapa.gov.br/arquivos_portais/publicacoes/SVS_4cb5d682eda3b9611eef9ebccdf63e4a.pdf

Abstract

Objective: to investigate *Leishmania* species in a series of autochthonous cutaneous leishmaniasis (CL) cases in Amapá State, Brazilian Amazon. **Methods:** this was a descriptive study carried out from January-October/2018 at a reference center for CL diagnosis in Amapá; individuals with CL receiving care from January-May/2018 were recruited; clinical data and skin biopsies were obtained; from extracted DNA (phenol-chloroform) we amplified the hsp70-234 gene region (PCR) for nucleotide sequencing (Applied Biosystems: ABI3500XL). **Results:** 38 individuals were interviewed, examined and diagnosed; men predominated (28/38; mean age=32.5±11.3); lesions (mostly ulcers: 37/38) measuring 0.4-10mm (34/38) and ≥11mm (4/38) were multiple in 20/38 individuals; diagnosis of *L. braziliensis* (1), *L. naiffi* (1), *L. infantum* (1), *L. (Viannia) sp.* (1), *L. amazonensis* (2) and *L. guyanensis* (32); individuals infected with *L. guyanensis* (32/38) lived in 9/10 municipalities represented in the sample, and 17/32 of these had multiple lesions. **Conclusion:** presence of *Leishmania guyanensis* predominated and was frequently associated with multiple lesions.

Keywords: *Leishmaniasis*, Cutaneous; *Leishmania guyanensis*; Molecular Epidemiology; Amazonian Ecosystem; Descriptive, Epidemiology.

Resumen

Objetivo: investigar las especies de *Leishmania* en una serie de casos de leishmaniasis cutánea (LC) autóctonas del estado de Amapá, Amazonia brasileña. **Métodos:** estudio descriptivo realizado en un centro de referencia para el diagnóstico de la LC en Amapá, en enero-octubre/2018; fueron seleccionados individuos con LC asistidos en enero-mayo/2018; se obtuvieron datos clínicos y biopsias de piel; del ADN extraído (fenol-cloroformo), se amplificó la región génica hsp70-234 (PCR) para secuenciación nucleotídica (Applied Biosystems: ABI3500XL). **Resultados:** fueron entrevistados, examinados y diagnosticados 38 individuos; predominaron hombres (28/38; edad promedio=32,5±11,3); lesiones (principalmente úlceras: 37/38) midiendo 0,4-10mm (34/38) y ≥11mm (4/38) eran múltiples en 20/38 individuos; diagnóstico de *L. braziliensis* (1), *L. naiffi* (1), *L. infantum* (1), *L. (Viannia) sp.* (1), *L. amazonensis* (2) y *L. guyanensis* (32); los individuos infectados con *L. guyanensis* (32/38) vivían en 9/10 municipios considerados en la casuística, y de estos, 17/32 presentaban múltiples lesiones 17/32. **Conclusión:** predominio de *Leishmania guyanensis*, frecuentemente asociada a múltiples lesiones.

Palabras clave: *Leishmaniasis Cutánea*; *Leishmania guyanensis*; Epidemiología Molecular; Ecosistema Amazónico; Epidemiología Descriptiva.

Recebido em 09/02/2019

Aprovado em 29/06/2019

Editora associada: Maryane Oliveira Campos –  orcid.org/0000-0002-7481-7465