

LVII REUNIÓN REGIONAL APMUR



SANTA MARÍA DEL ROSELL
HOSPITAL GENERAL UNIVERSITARIO

“UN CASO MUY OPORTUNO
CADA VEZ MÁS INCIDENTE”

Alfonso Agüera Sánchez

R1 Anatomía Patológica HGURS

Matías Martínez Pérez

R4 Anatomía Patológica HGURS

Luciana Antonella Collantes Chavez

R1 Anatomía Patológica HGURS

Cistina Godoy Alba

F.E.A Anatomía Patológica HGURS

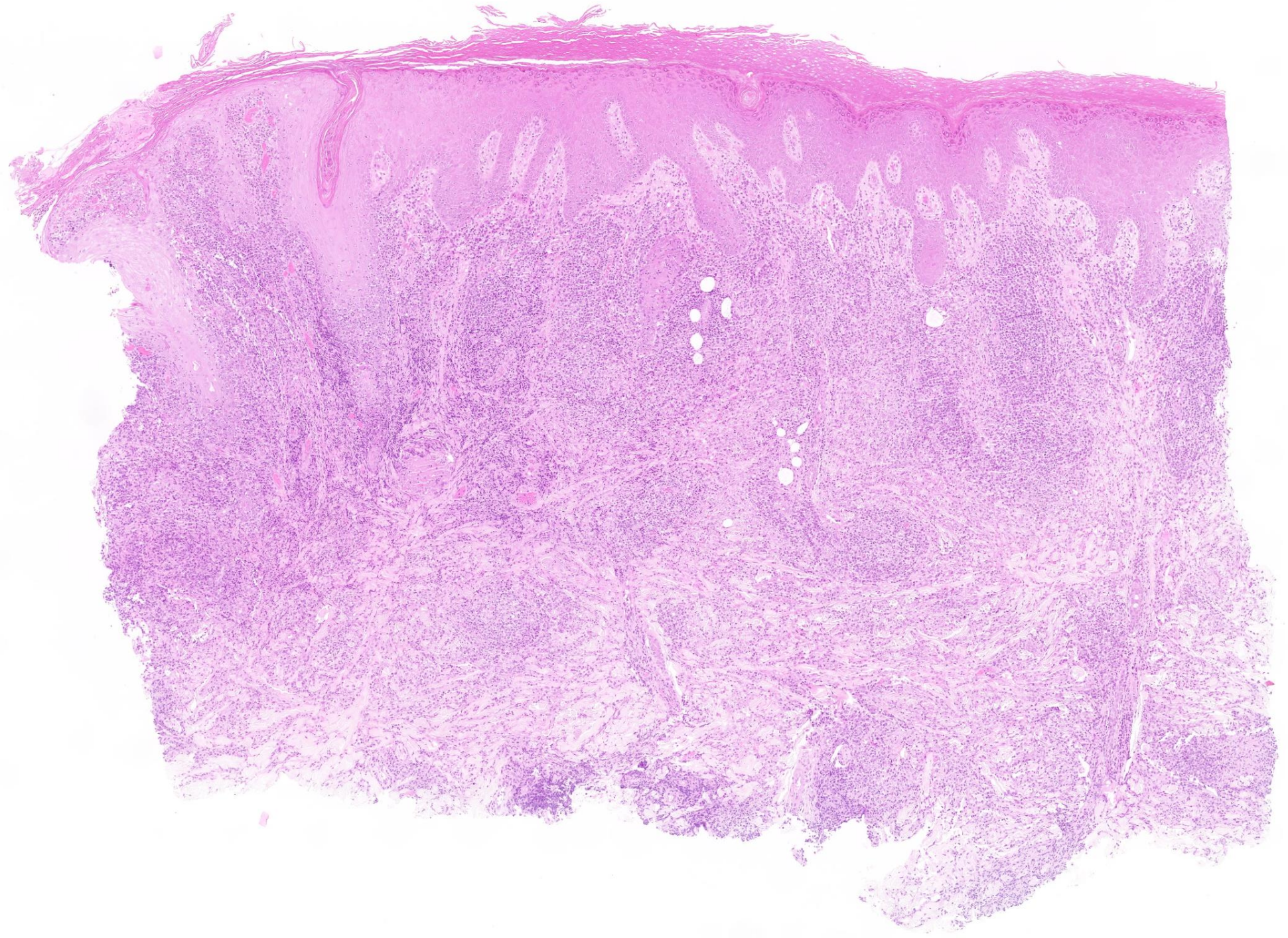
Inmaculada Pagán Muñoz

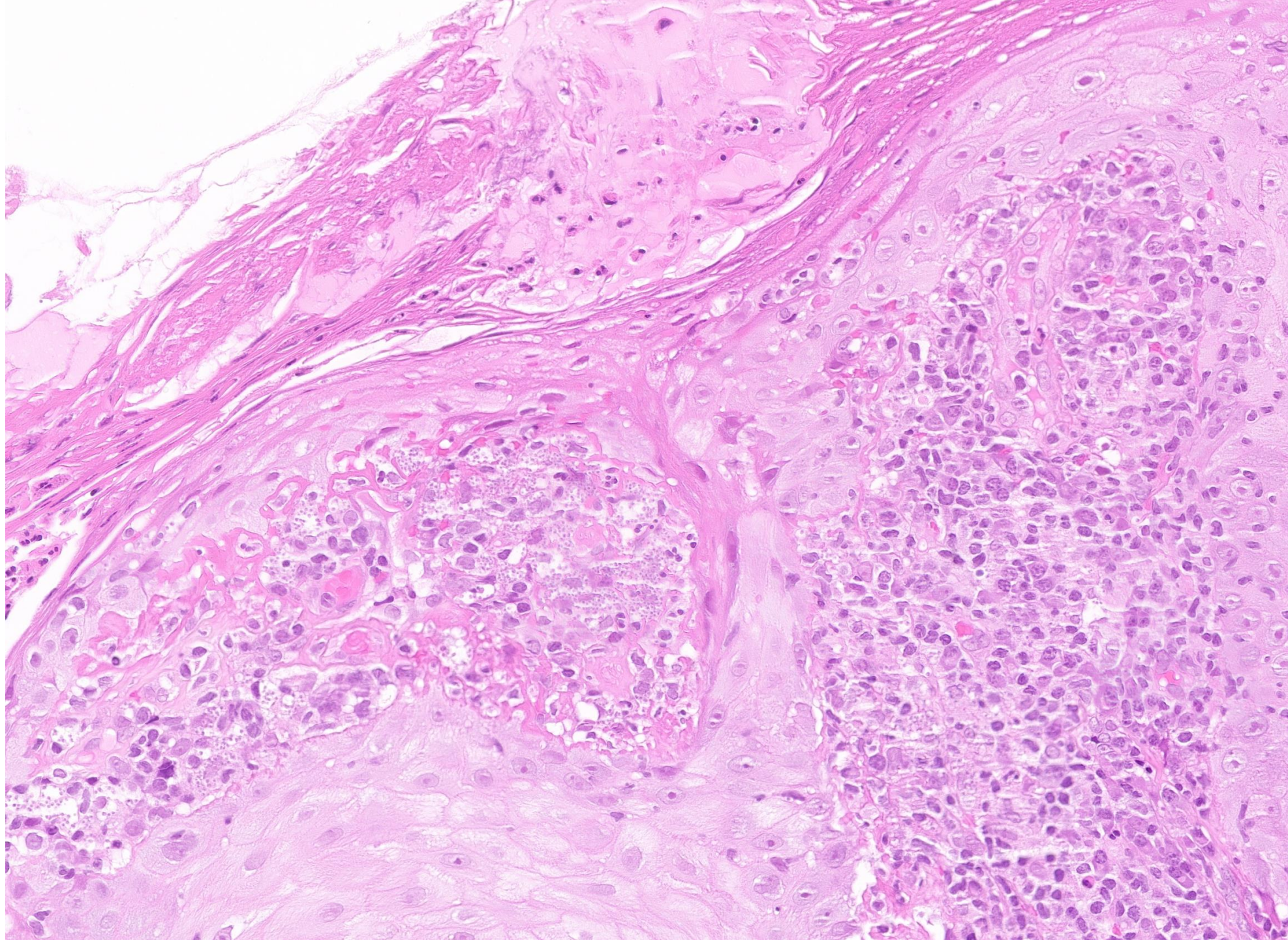
F.E.A. Anatomía Patológica HGURS

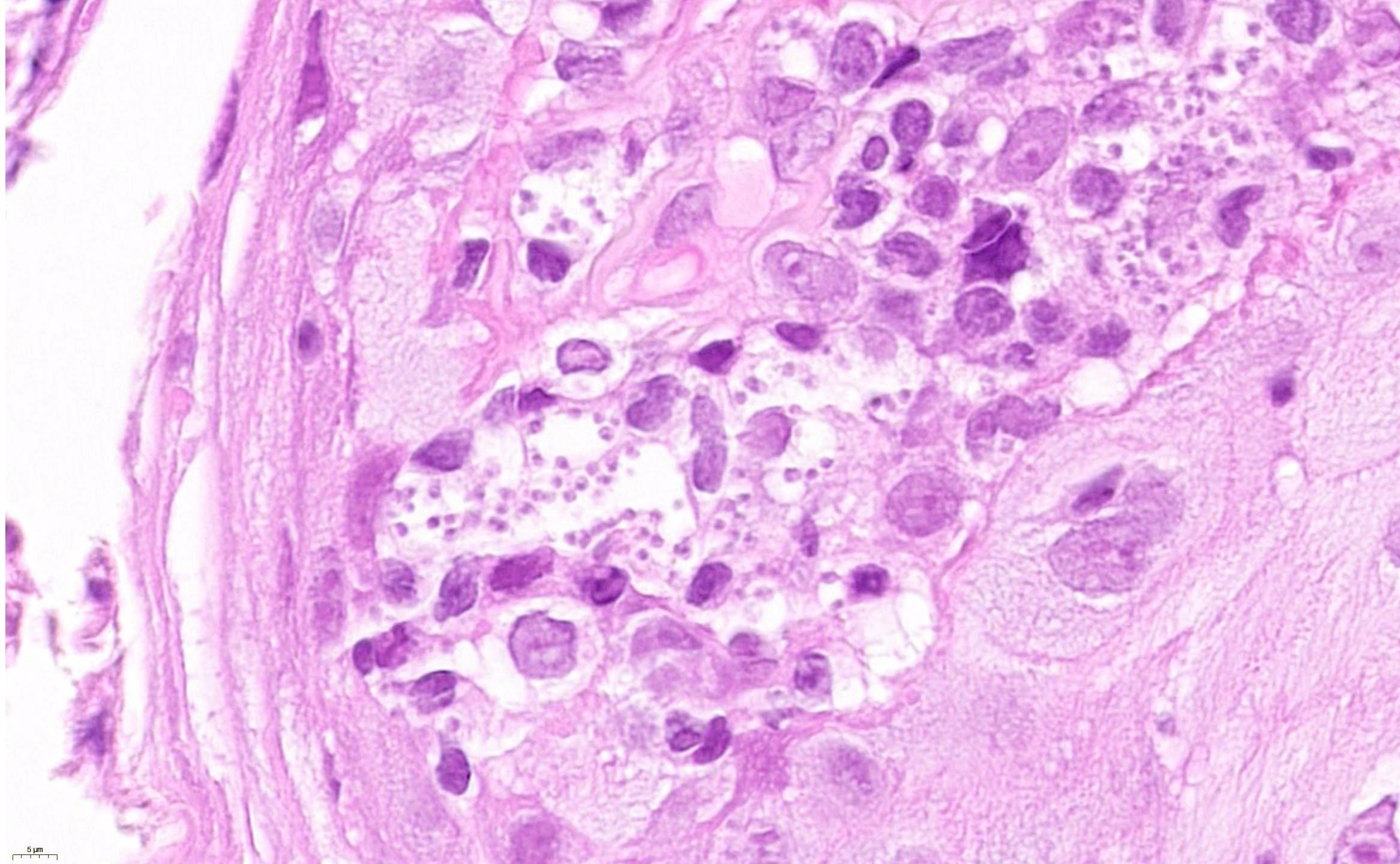
RESUMEN DE LA Hª CLÍNICA

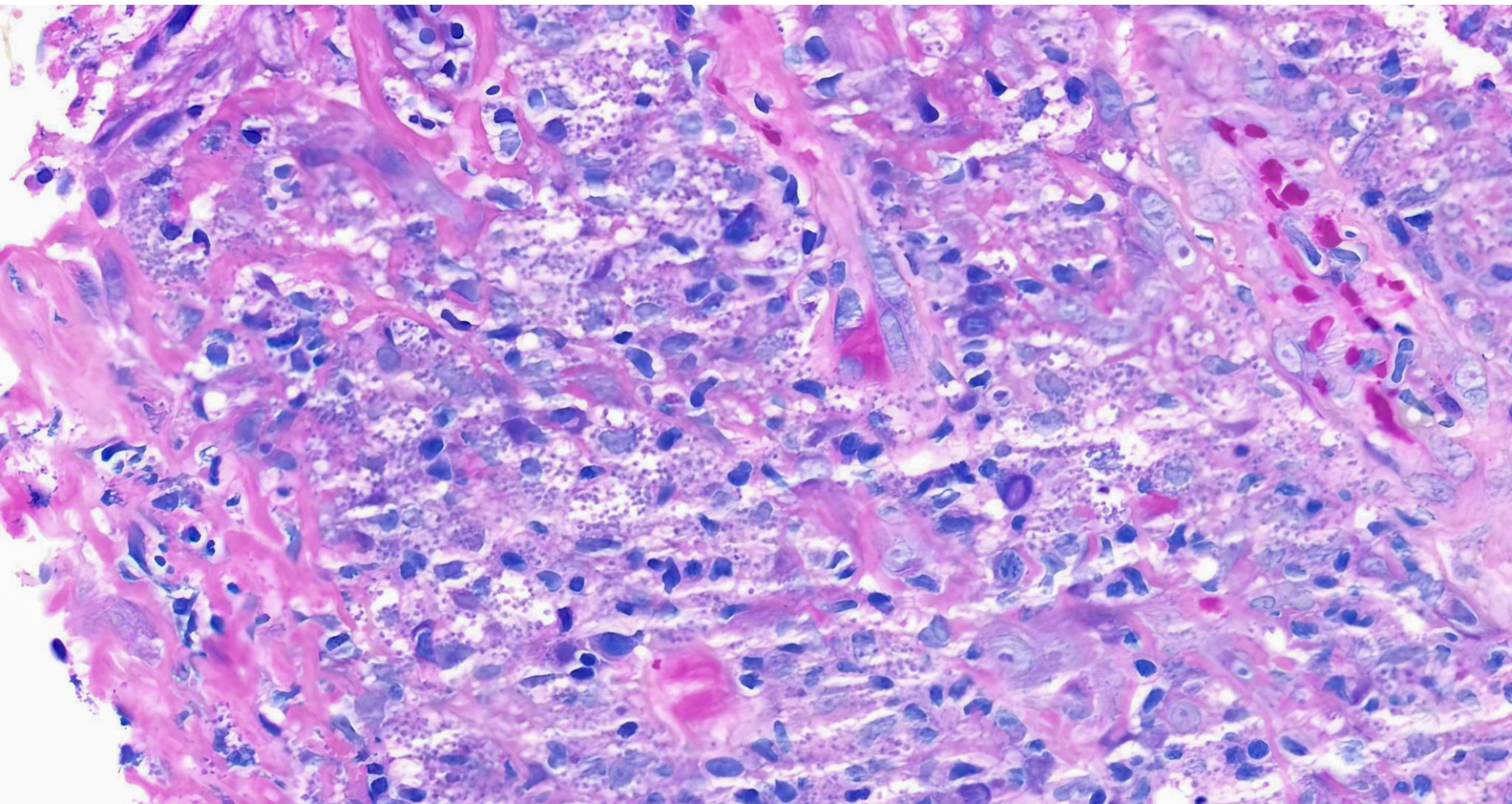


- ♂ 62 años.
- Placa eritematodescamativa de 2,5 cm de diámetro cubierta por una costra central necrótica de 2 meses de evolución que se biopsia. **Asintomática.**
- Seguimiento en Reumatología por una artritis reumatoide de larga evolución en **tratamiento con Adalimumab.**
- Frecuenta con relativa asiduidad **zonas rurales.**







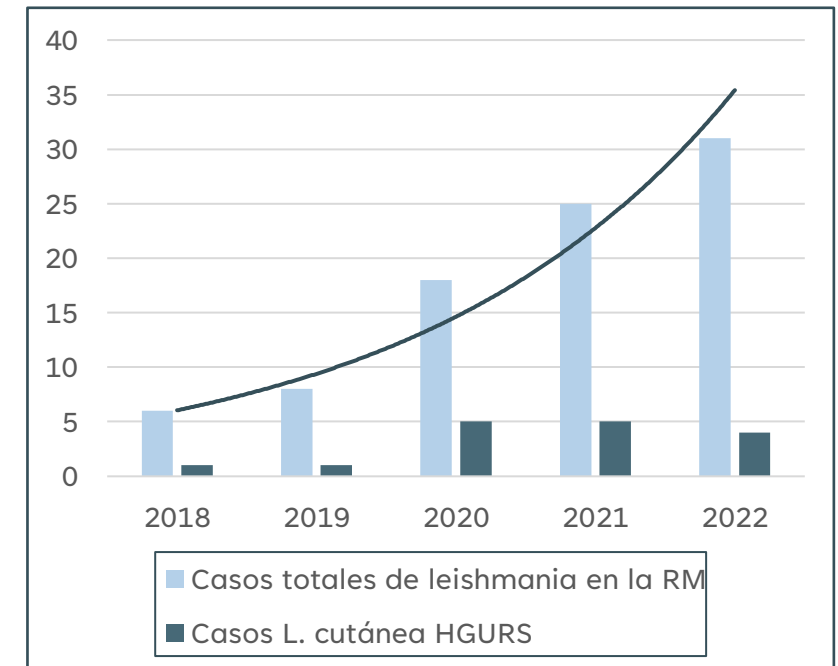
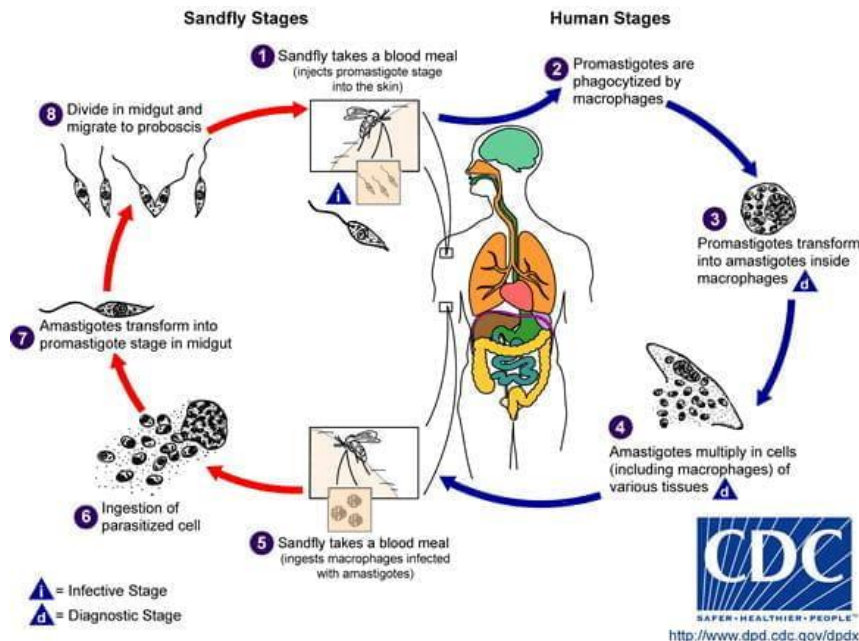


A landscape photograph showing a field with a path leading towards a horizon under a dramatic, cloudy sky. The foreground is filled with tall, green grass. The path is a narrow, dark line cutting through the field. In the distance, there are some trees and a line of hills. The sky is filled with dark, heavy clouds, with a bright patch of light breaking through near the horizon.

LEISHMANIASIS CUTÁNEA

EPIDEMIOLOGÍA y ETIOLOGÍA

- Se trata de una **Enfermedad de Declaración Obligatoria (EDO)** producida por un **protozoo flagelado** (phylum Sarcomastigophora, subphylum Mastigophora) de la familia **Trypanosomatidae**.
- Hay **>30 especies** del género **Leishmania** **descritas hasta el momento**, de las cuales **unas 20 son capaces de infectar a los humanos**. Cada una es endémica en una zona concreta (***L. infantum*** es la especie propia de la cuenca mediterránea).
- Tienen su **reservorio natural** en diversos **mamíferos (roedores, cánidos y humanos)** y desde ahí son transmitidos de unos a otros por **mosquitos hembra de los géneros *Phlebotomus*** (“Viejo Mundo”: Europa, Asia y Africa) y ***Lutzomyia*** (“Nuevo Mundo”: Caribe, América Central y Sudamérica).



PATOGENIA Y CLÍNICA

Para erradicar *Leishmania* es decisiva la **respuesta celular adquirida**. La producción de **IFN-gamma e IL-12** por los linfocitos T CD4+ (concretamente la **subpoblación Th1**) activa a los **macrófagos** mediante la vía clásica y los polariza hacia la **forma M1**, que son los principales encargados de destruir los amastigotes ubicados dentro de sus fagolisosomas mediante la producción de óxido nítrico; además, la producción de **TNF- α** activa a los neutrófilos y contribuye al reclutamiento de más leucocitos (todos ellos presentes en los granulomas que produce este microorganismo).

La localización cutánea o visceral de la infección depende tanto de la especie como del estado inmunológico del hospedador:

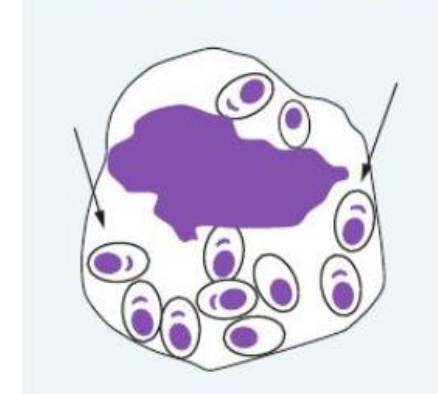
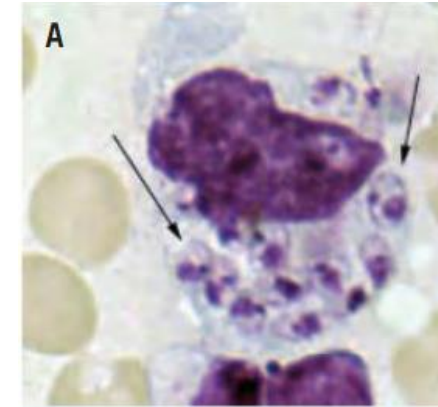
- **L. cutánea (forma + frecuente)**: nódulo o pápula indolente tras varias semanas de la picadura que puede ulcerarse (**Botón de Oriente**). **En la mayoría de sujetos inmunocompetentes el cuadro es autolimitado y desaparece a los 2 meses aprox.**
- **L. mucocutánea**: úlceras deformantes de la piel y las mucosas en la región nasofaríngea y perioral denominadas **espundia**, que pueden extenderse a la faringe e incluso la laringe. A diferencia del botón de Oriente, estas lesiones **NO SE AUTOLIMITAN y pueden sobreinfectarse**.
- **L. visceral (Kala-azar)**: cuadro sistémico caracterizado por **fiebre + MEG + adenohepatoesplenomegalia + pancitopenia e hipergammaglobulinemia**, que ocurre cuando la *Leishmania* inoculada por la piel difunde a órganos ricos en tejido reticuloendotelial. **Resulta fatal sin tratamiento y suele recidivar**.



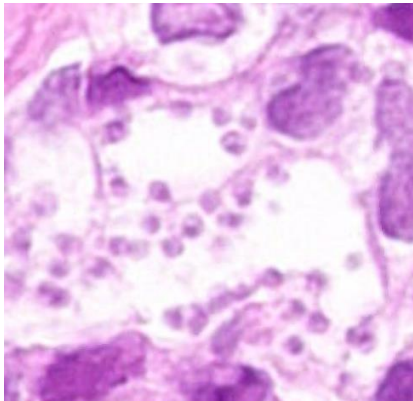
DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO

Las leishmanias y los tripanosomas presentan varias formas según su localización intra- o extracelular:

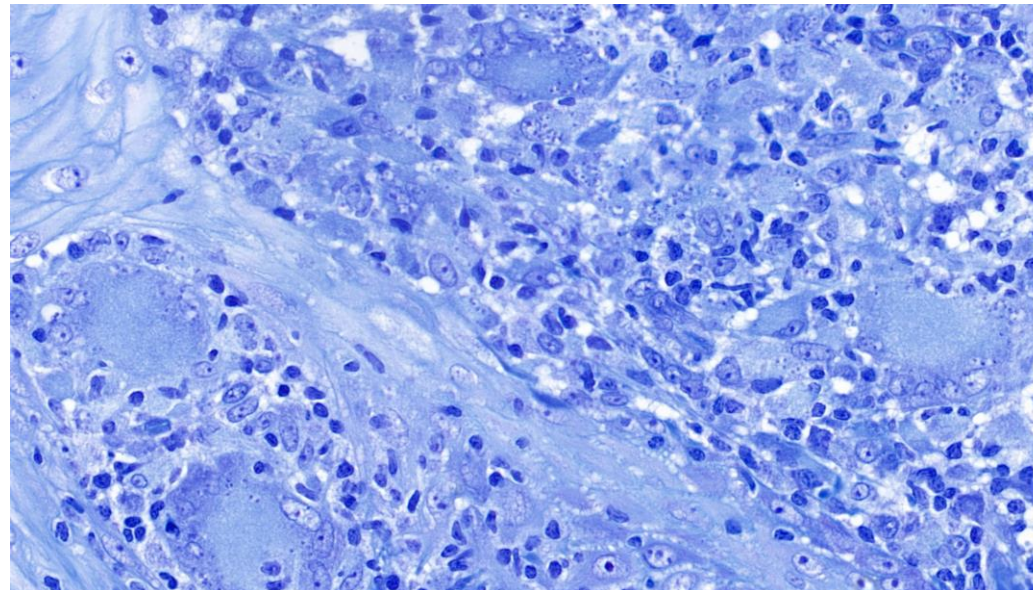
- Localización intracelular (amastigote): **forma redondeada u ovalada sin flagelo, de unos 2-5 μ m de diámetro, con un núcleo excéntrico y un paranúcleo correspondiente al ADN mitocondrial del kinetoplasto.**
- Localización extracelular (tubo digestivo del flebótomo): **aspecto fusiforme con un flagelo libre que emerge por la zona apical (promastigote) o aspecto fusiforme con un flagelo que forma una membrana ondulante unida a la superficie celular (epimastigote o tripomastigote) de unos 12 μ m de longitud.**



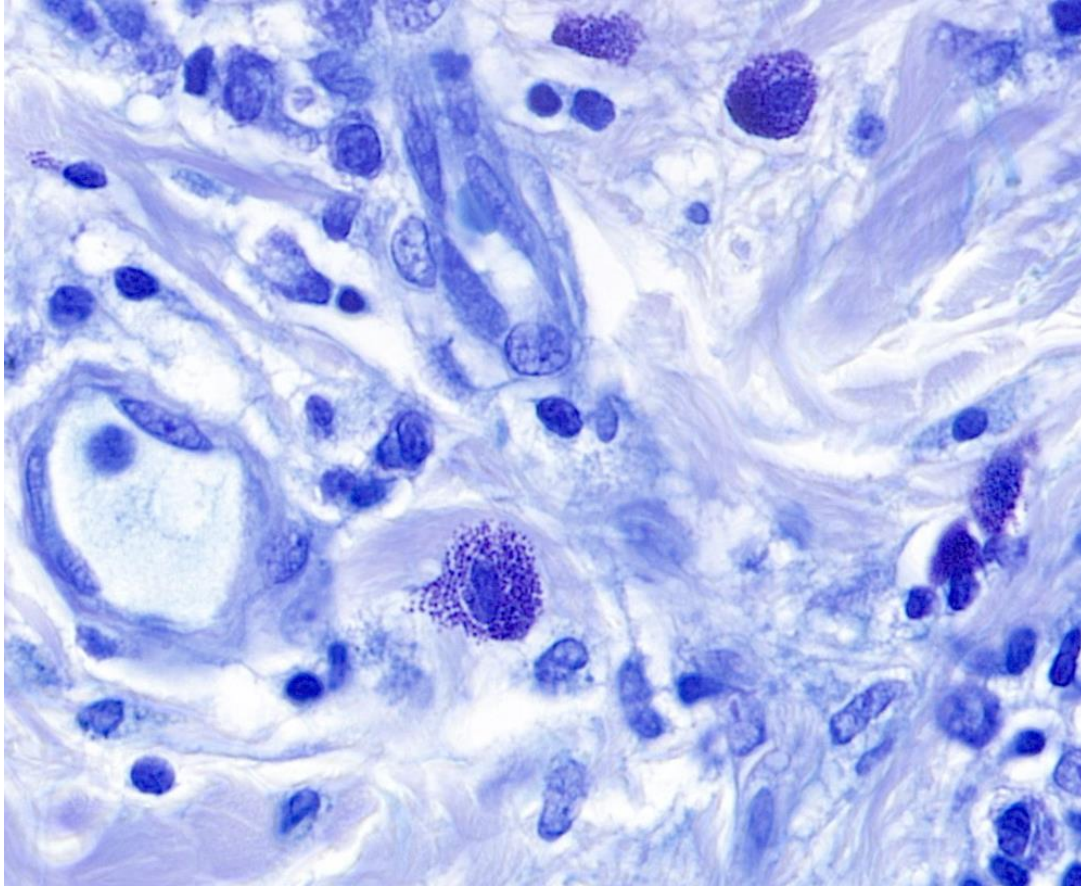
Signo de la Marquesina



Células Gigantes Multinucleadas

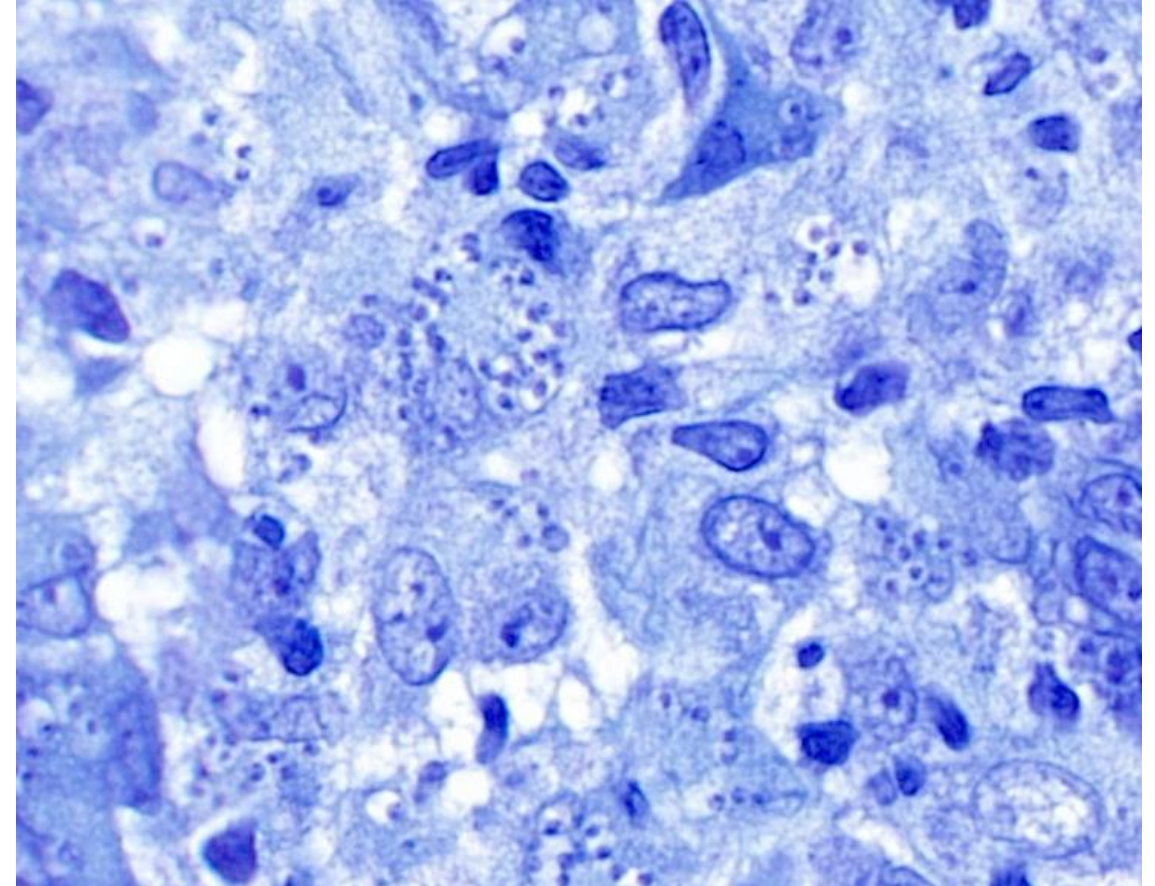


GRÁNULOS MASTOCITOS



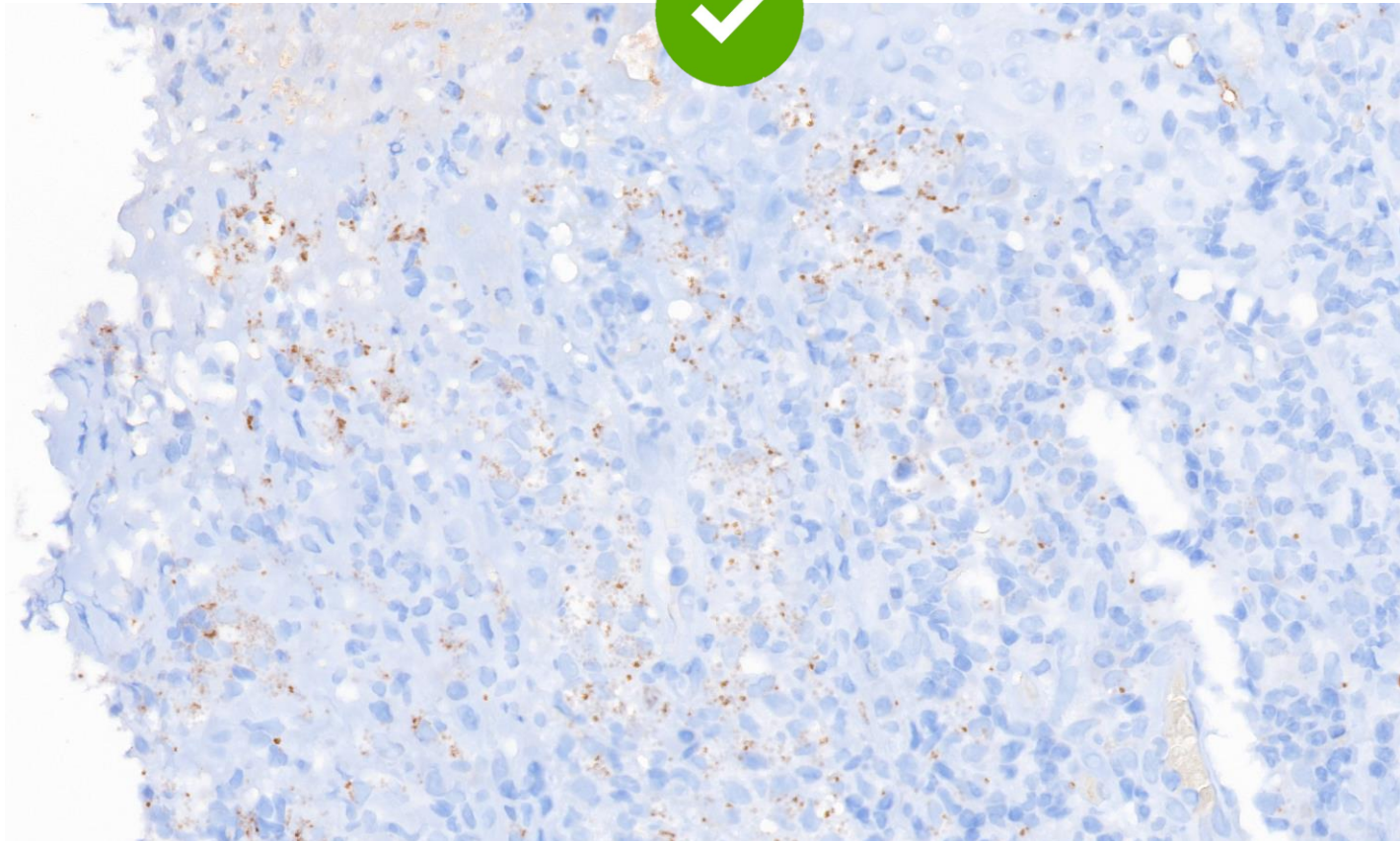
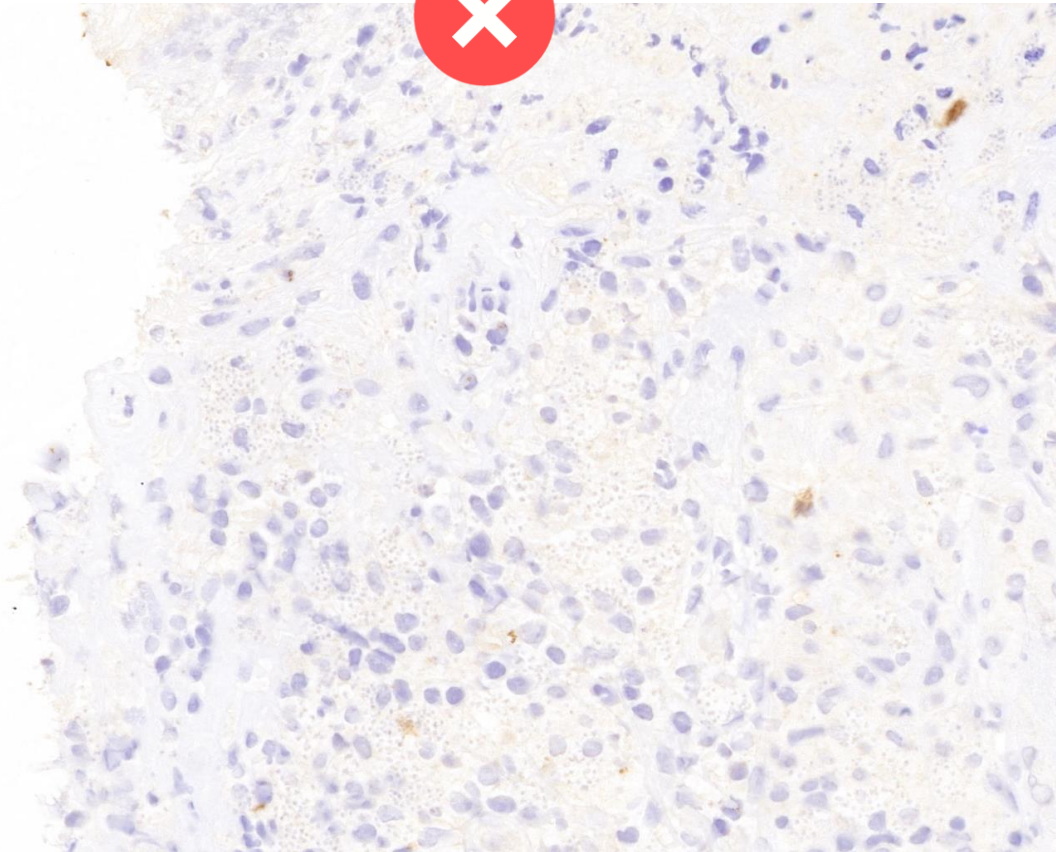
VS

AMASTIGOTES



DIAGNÓSTICO ANATOMOPATOLÓGICO. TÉCNICAS AUXILIARES

Además del Giemsa, disponemos del **CD1a** que es un marcador mucho más sensible que la H&E y por tanto nos puede ayudar a identificar estos microorganismos cuando se encuentran en poca cantidad; sin embargo, el clon O10 ha demostrado no ser útil en este sentido y por tanto debemos utilizar el MTB1.



Diagnostic usefulness of immunohistochemical evaluation of CD1a antigen and polyclonal anti-*Leishmania* antibodies in cutaneous Leishmaniasis

Emilio Lopez-Trujillo¹, Mònica González-Farré², Ramon M. Pujol¹, Beatriz Bellosillo², Roser Fisa³, Cristina Riera³, Magdalena Alcover³, Carlos Barranco² and Gemma Martín-Ezquerro¹

¹Department of Dermatology, ²Department of Pathology, Hospital del Mar, Parc de Salut Mar and ³Department of Biology, Healthcare and the Environment, Faculty of Pharmacy and Food Science, Universitat de Barcelona, Barcelona, Spain

Summary. Background. Different immunohistochemical markers to detect amastigotes in cutaneous Leishmaniasis have been proposed with variable diagnostic usefulness.

Objectives. To evaluate the diagnostic usefulness of immunohistochemical amastigotes identification by specific polyclonal anti-*Leishmania* antibodies and CD1a expression (clone EP3622) in a series of PCR confirmed cutaneous Leishmaniasis.

Materials and methods. Thirty-three skin samples corresponding to PCR confirmed cutaneous Leishmaniasis were included in the study. All samples were stained with Hematoxylin-eosin and Giemsa. Moreover, immunohistochemical studies with anti-CD1a and anti-*Leishmania* antibodies were performed. The patients clinical features and the observed histopathological features were also recorded.

Results. From the selected 33 biopsies, *Leishmania* spp. amastigotes were detected in 48.4% of cases with conventional Hematoxylin-eosin stain and in 57.5% of cases by Giemsa staining. In 31/33 cases, anti-CD1a allowed us to identify parasitic structures, and in 33/33 cases amastigotes were detected with anti-*Leishmania* antibodies. Concordance between both techniques, anti-CD1a and anti-*Leishmania*, was 94% [CI 95%: (79.8%-99.3%)]; p value <0.05. The sensitivity of anti-CD1a in comparison with the PCR was 94%, with a positive predictive value of 100%. Two cases of low parasitic index were negative for CD1a immunostaining. In cases with high parasitic index, anti-CD1a stained amastigotes in superficial and deep dermis. Only a few cases were originally diagnosed with the available histological techniques, needing PCR for *Leishmania* spp.

identification.

Conclusions. Anti-CD1a antibody seems to be a useful technique to identify amastigotes when PCR and anti-*Leishmania* antibodies are not available. The sensitivity to detect amastigotes is increased when the CD1a immunostaining is added to the classical Haematoxylin – eosin and Giemsa staining.

Key words: Amastigote, CD1a, Immunohistochemistry, Leishmania, Leishmaniasis

Introduction

The diagnosis of cutaneous leishmaniasis (CL) has been classically established on the basis of the causative agent's identification. For this purpose, classic microscopic examination of samples stained with hematoxylin-eosin (H-E) or Giemsa stains, specific cultures and DNA-*Leishmania* PCR amplification have been used. Amastigotes can be seen as round to oval basophilic intracytoplasmic inclusions of approximately 4 µm in size in varying number within dermal histiocytes (Taxy et al., 2019). However, in advanced lesions, a dense tuberculoid or even sarcoid granulomatous infiltrate is observed along with a reduction of the parasitological load. In such advanced lesions, skin biopsies may show very low numbers or even an almost complete absence of amastigotes, and additional techniques may be helpful to highlight the presence of parasites (Martín-Ezquerro et al., 2009).

Immunohistochemical (IHC) staining with a polyclonal anti-*Leishmania* rabbit antibody (obtained in the Parasitology Laboratory) (Pujol et al., 2012) represents a useful technique that permits identification

Abbreviations. CL, cutaneous leishmaniasis; PCR, polymerase chain reaction; H-E, hematoxylin-eosin; IHC, immunohistochemical

Corresponding Author: Emilio Lopez Trujillo, Department of Dermatology, Hospital del Mar, Passeig Marítim 25-29, 08003 Barcelona, Spain. e-mail: emilio08tr@gmail.com
DOI: 10.14670/HH-18-324



BIBLIOGRAFÍA

- ❖ Portal Estadístico de la Región de Murcia - CREM [Internet]. Carm.es. [citado el 17 de septiembre de 2023]. Disponible en: <https://econet.carm.es/inicio/-/crem/sicrem/PU257/sec2.html>
- ❖ Guillem Prats Pastor, Tomás Pumarola Suñé, Beatriz Mirelies. Microbiología y Parasitología Médicas (+e-book). 2a edición. Bogota DC, Colombia: Panamericana Editorial Ltda; 2023.
- ❖ Saunders EC, McConville MJ. Immunometabolism of Leishmania granulomas. Immunol Cell Biol [Internet]. 2020;98(10):832–44. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1111/imcb.12394>
- ❖ Fernandez-Flores A, Rodriguez-Peralto JL. Morphological and immunohistochemical clues for the diagnosis of cutaneous leishmaniasis and the interpretation of CD1a status. J Am Acad Dermatol [Internet]. 2016;74(3):536–43. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2015.09.038>
- ❖ Abadías-Granado I, Diago A, Cerro PA, Palma-Ruiz AM, Gilaberte Y. Leishmaniasis cutánea y mucocutánea. Actas Dermosifiliogr [Internet]. 2021;112(7):601–18. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ad.2021.02.008>
- ❖ García-Almagro D. Leishmaniasis cutánea. Actas Dermosifiliogr [Internet]. 2005;96(1):1–24. Disponible en: [http://dx.doi.org/10.1016/s0001-7310\(05\)73027-1](http://dx.doi.org/10.1016/s0001-7310(05)73027-1)
- ❖ Patterson JW. Weedon's skin pathology. 5a ed. Londres, Inglaterra: Elsevier Health Sciences; 2020.



An aerial photograph of a coastal scene. In the foreground, a lighthouse with a white body and a red top sits on a small, circular concrete island. The island is part of a larger coastal structure with stone walls. In the middle ground, a large submarine is visible on the water, moving from left to right. Several smaller boats are scattered in the background. The water is a deep blue, and the sky is clear.

MUCHAS GRACIAS POR VUESTRA ATENCIÓN