



AVALIAÇÃO DA CO-POSITIVIDADE DE TESTES LABORATORIAIS PARA DIAGNOSTICO DE LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA HUMANA(LTA)

Ana Paula Desiree de Oliveira (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Camila Alves Mota, Maria Valdrinez Campana Lonardoní(Orientador), Thaís_Gomes Verzignassi Silveira (Co-orientador) e-mail mvclonardoní@gmail.com

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: 4.06.00.00-9: Saúde Coletiva; 4.06.01.00-5: Epidemiologia.

Palavras-chave: Diagnóstico, PCR, leishmaniose.

Resumo:

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença endêmica no Brasil. Seu agente, *Leishmania (V.) braziliensis*, é um parasita intracelular obrigatório, de células do sistema fagocitário mononuclear. O Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas (Lepac) é o centro de referência para o diagnóstico de LTA na 15ª Regional de Saúde do estado do Paraná. O intuito deste estudo foi diagnosticar e comparar três técnicas rotineiramente utilizadas em laboratório clínico para o diagnóstico de LTA, comparando-as à técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Assim, foram estudadas as técnicas de Imunofluorescência indireta (IFI), Intradermoreação de Montenegro e a Pesquisa direta (PD) correlacionando-as com a PCR. A PCR foi executada concomitantemente ao diagnóstico de rotina do laboratório. O estudo contemplou 121 pacientes encaminhados ao Lepac-UEM advindos da 15ª Regional de Saúde, e todos foram testados para IFI, IDMR PD e PCR. A técnica de PCR embora tenha custo mais elevado, quando se torna positiva confirma o caso de LTA, indicando também a espécie infectante. Conclui-se, portanto que a técnica de PCR poderia ser utilizada como técnica “Padrão ouro” para LTA.





Introdução

A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma doença endêmica no Brasil e no Estado do Paraná já foi registrada em todos os municípios, especialmente no Norte e Noroeste. Segundo o Ministério da Saúde o Paraná é responsável por 98% dos casos de LTA na região Sul do país. A escassez de recursos financeiros e laboratoriais, além da falta de pessoal treinado representa obstáculos importantes para o diagnóstico e tratamento precoces, elevando o risco do aparecimento das formas mucosas e graves da doença.

A LTA é causada por protozoários do gênero *Leishmania*, parasitas intracelulares obrigatórios de células do sistema fagocitário mononuclear. É uma doença não contagiosa, transmitida pela picada de insetos flebotômíneos e se apresenta como *leishmaniose visceral* (órgãos e vísceras) e *leishmaniose cutânea* (pele e mucosa).

O diagnóstico de LTA abrange aspectos epidemiológicos, clínicos e laboratoriais. A otimização do diagnóstico laboratorial precoce de LTA advém de fatores como o aumento de sensibilidade e especificidade das técnicas. A definição de uma técnica “padrão ouro” é importante para orientar os estudos e nortear o diagnóstico. O objetivo deste estudo foi comparar três técnicas rotineiramente utilizadas em laboratório clínico para o diagnóstico de LTA, comparando-as à técnica de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Assim, foram estudadas as técnicas de Imunofluorescência indireta (IFI), Intradermorreação de Montenegro e a Pesquisa direta (PD) correlacionando-as com a PCR.

Materiais e métodos

Diagnóstico padrão ou de rotina: o estudo contemplou 121 pacientes encaminhados ao Laboratório de Ensino e Pesquisa em Análises Clínicas da Universidade Estadual de Maringá (Lepac/UEM), oriundos da 15ª Regional de Saúde. Foi aplicado um questionário no momento da coleta, abordando aspectos clínicos como número de lesões e tempo de evolução e dados epidemiológicos como idade, sexo, local de infecção, entre outros. Os métodos utilizados foram a IFI, IDRM e PD. Todos os pacientes foram submetidos a pelo menos um dos métodos para o diagnóstico.





Diagnostico por PCR: foram usadas células leucocitárias do sangue periférico. A coleta de sangue para a obtenção de leucócitos foi realizada em um tubo contendo DEXTRAN/EDTA. A técnica PCR foi realizada em todos os 121 pacientes, com os iniciadores MP3H/MP1L.

Resultados e Discussão

O diagnóstico inicial mostrou 53 (43,8%) pacientes com resultados positivos para LTA. A imunofluorescência indireta (IFI) foi realizada em 117 e foi positiva em 43 pacientes (36,8%), 91 realizaram a Microscopia Direta (PD), positiva em 34 (37,4%) e 105 realizaram a *Intradermorreação de Montenegro* (IDRM), positiva em 50 (47,6%). A maioria dos pacientes apresentava a forma cutânea da LTA (109 ou 90,1%) e 68 (56,2%) tinham apenas uma lesão. Dezesete pacientes apresentaram positividade em três testes. Quarenta e cinco (37,2%) pacientes adquiriram a infecção em atividade de lazer e destes, 41 (33,9%) residiam em áreas urbanas (Tab. 1).

Tabela 1- Resultados obtidos nos testes de diagnóstico laboratorial em 121pacientes suspeitos de LTA

Exames	IFI	IDMR	PD	Diagnostico final	PCR
Positivo	43	50	34	53	53
Negativo	74	55	57	68	68
NR	3	15	31	-	-

NR: Não realizado; IFI: Imunofluorescência indireta; IDRM: intradermorreação de Montenegro; PD: microscopia direta.

A pesquisa direta define o diagnostico positivo, pela presença do parasita na lesão. Mas esse método, embora confirme o diagnóstico de LTA, não permite identificar a espécie do parasita. Observa-se também que chance de detecção do parasito é inversamente proporcional ao tempo de duração da lesão, reduzindo-se a sensibilidade desse método com tempo.

Os métodos convencionais apresentam baixa especificidade, no caso da IFI podem ocorrer reações cruzadas, especialmente com o *Trypanosoma cruzi*, agente da doença de Chagas, e com a *L. chagasi*, agente da leishmaniose visceral. A IDMR é um método muito utilizado por seu baixo custo, porém





somente indica infecção presente ou passada, além de apresentar baixa especificidade. A técnica de PCR embora com custos mais elevados, tem alta positividade, contribuindo para o diagnóstico devido a sua sensibilidade e especificidade.

Conclusões

A técnica de PCR atende os requisitos necessários para ser utilizada como teste “Padrão Ouro” para o diagnóstico de LTA.

Agradecimentos

Ao Laboratório de Imunologia clínica, ao Lepac e à Fundação Araucária pelo suporte em todas as etapas deste projeto. À profª Maria Valdrinez pela paciência na orientação e incentivo, que tornaram possível a conclusão deste projeto.

Referências

1. ANDRADE, B. B.; Boaventura, V.; Barral-Neto, M.; Barral, A. Métodos Diagnósticos da leishmaniose tegumentar: fatos, falácias e perspectivas. **Gaz Méd Bahia**. 2005;75:75–82.
2. BASANO, A. S.; Camargo, L. M. A. Leishmaniose tegumentar Americana: histórico, epidemiologia e perspectivas de controle. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, v. 7, p. 328–337, 2004.
3. CHIARI, A. C.; Mayrink, W.; Magalhães, P. A. Reação de imunofluorescência no controle do tratamento da leishmaniose tegumentar americana. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 15, p. 298–303, 1973.
4. MEDEIROS, A. C.; Rodrigues, S. S.; Roselino, A. M. Comparison of the specificity of PCR and the histopathological detection of *Leishmania* for the diagnosis of American cutaneous leishmaniasis. **Brazilian Journal of Medicine and Biological Research**, v. 35, p. 421–424, 2002.

