

CONIC-SEMESP 13º Congresso Nacional de Iniciação Científica

Anais do Conic-Semesp. Volume 1, 2013 - Faculdade Anhanguera de Campinas - Unidade 3. ISSN 2357-8904

TÍTULO: OCORRÊNCIA DE LEISHMANIA SP DETECTADA POR PCR EM LABORATÓRIO DE PATOLOGIA CLÍNICA PARTICULAR DE SP

CATEGORIA: CONCLUÍDO

ÁREA: CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E SAÚDE

SUBÁREA: MEDICINA VETERINÁRIA

INSTITUIÇÃO: CENTRO UNIVERSITÁRIO DAS FACULDADES METROPOLITANAS UNIDAS

AUTOR(ES): ANA LUIZA SARDINHA E MARCHESE

ORIENTADOR(ES): ARNALDO ROCHA

Realização:



Apoio:



1. RESUMO

Toda informação sobre epidemiologia de doenças parasitárias tem importância e pode acabar influenciando as atitudes dos profissionais médicos veterinários no exercício da profissão. Informações de epidemiologia devem sempre ser reavaliadas e atualizadas para colaborar na conduta clínica, na formulação de hipóteses diagnósticas, tratamentos e profilaxias. Os sistemas de vigilância sanitária elaboram programas e colaboram para o controle das endemias, mas alguns pacientes podem ter seus exames realizados em laboratórios não credenciados como sendo de referência, ficando a comunicação do caso exclusivamente de responsabilidade do médico veterinário responsável pelo envio das amostras. Testes realizados por técnicas de biologia molecular do tipo reação em cadeia de polimerase (PCR), tem sido propostos e se demonstrado cada vez mais sensíveis e específicos, porém, como ainda são recentes e pouco estudados, não têm sido reconhecidos pelos órgãos governamentais de vigilância sanitária, que tem seus próprios laboratórios de referência e consideram para inquérito epidemiológico os testes de RIFI e ELISA. Este trabalho tem como objetivo divulgar resultados de testes recebidos para PCR de *Leishmania* em um laboratório privado de São Paulo, no período de 2011 a 2013. Das 431(100%) amostras recebidas, 116(26,9%) se revelaram PCR positivas para leishmaniose. O exame de PCR para Leishmaniose tem-se mostrado promissor no reconhecimento de animais infectados, especialmente naqueles com baixa parasitemia, desde que o material examinado, linfonodos, medula óssea, etc, contenham alguns parasitas. Ficam recomendados estudos comparativos entre as sensibilidades e especificidades do PCR e outras metodologias como RIFI E ELISA empregados para o diagnóstico de Leishmaniose, assim como as possíveis melhorias nos primers utilizados, que poderão elevar a metodologia PCR a padrão ouro no diagnóstico de Leishmaniose.

Palavras-Chave: *Leishmania*; epidemiologia; biologia molecular; doenças parasitárias; diagnóstico veterinário.

2. INTRODUÇÃO

A leishmaniose é uma antropozoonose de distribuição cosmopolita, que pode afetar a pele, causar doenças mucocutâneas e viscerais em mamíferos. De um ponto de entrada no organismo, pode se espalhar via linfática ou sanguínea atingindo também outros tecidos, como medula óssea, baço, fígado, linfonodos e todos os órgãos ricos em células do Sistema Fagocítico Mononuclear (SFM) (CARLTON, et al.; 1998).

A *Leishmania* sp. é um protozoário parasita com um ciclo de vida heteroxênico, passando alternadamente em vertebrados, hospedeiros susceptíveis, e nos vetores invertebrados igualmente susceptíveis, no Brasil, os dípteros *Lutzomyia longipalpis*, a transmissão ocorre através da picada das fêmeas, popularmente conhecidos por mosquito-palha, birigui, asa dura, cangalhinha e asa branca (TRAVI, et al.; 1996).

Na área urbana, o cão (*Canis familiaris*) é considerado o principal reservatório e fonte de infecção para o mosquito, que por sua vez, pode transmitir para outros mamíferos, inclusive para os homens. A enzootia canina tem precedido a ocorrência de casos em humanos. No ambiente silvestre os reservatórios mais comuns são as raposas e marsupiais, entre outros mamíferos.

A leishmaniose tem manifestações clínicas variadas possuindo as formas assintomáticas, oligossintomáticas e sintomáticas.

Doenças importantes do ponto de vista da saúde pública, ou da medicina veterinária, na sanidade dos rebanhos, algumas zoonoses e também do ponto de vista financeiro, quando causam muitas perdas econômicas aos criadores, devem ser controladas com auxílio governamental, de forma a centralizar informações e recomendações, para que na junção de esforços de todos, todos se beneficiem. Existem vigilâncias e controles mais rigorosos nas comunicações de doenças mais perigosas ou mais impactantes. A leishmaniose é uma dessas doenças de comunicação compulsória para o Centro de Controle de Endemias regionais (SUCEN), que comunica os casos confirmados para instâncias superiores, como o Sistema de Informação de Agravos de Notificação (Sinan) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005).

3. OBJETIVO

O objetivo deste trabalho é relatar a ocorrência de PCR positivos para leishmaniose, técnica mais recentemente empregada para avaliação desta doença, em laboratório particular do município de São Paulo, capital, especializado em diagnóstico por técnicas moleculares.

4. METODOLOGIA

As informações sobre os animais e os resultados dos exames foram obtidos em arquivos de um laboratório privado de São Paulo, especializado em técnicas moleculares de diagnóstico veterinário.

A identificação, histórico e resultados dos exames foram consultados, abrangendo o período janeiro de 2011 a janeiro de 2013.

O sigilo de todas as informações que pudessem identificar proprietários, veterinários ou animais foram suprimidos em todas as etapas do trabalho.

As informações foram compiladas e analisadas, gerando dados sobre a ocorrência de PCR positivos para leishmaniose em diversas espécies animais diferentes, por local de origem e tipo de material biológico analisado.

O tipo de teste empregado foi RT-PCR ou PCR em Tempo real; a detecção e amplificação de DNA foram feitas pelo NESTED-PCR ou PCR Convencional, sendo que a leitura foi feita em gel de agarose 2%.

Os primers utilizados foram desenvolvidos pelo próprio laboratório participante, sendo considerado segredo profissional.

5. DESENVOLVIMENTO

O trabalho foi desenvolvido como iniciação científica no primeiro semestre de 2013, compilando-se os resultados dos exames de PCR para leishmaniose em um laboratório particular de São Paulo, capital.

As informações foram compiladas e organizadas para apresentação e divulgação à comunidade científica.

6. RESULTADOS

No laboratório abordado em nossa pesquisa, a maioria das amostras eram do Estado São Paulo com 43 amostras positivas e 176 negativas. No Estado de Minas Gerais, 39 positivos e 63 negativos, em Brasília 31 positivos e 64

negativos, Rio de Janeiro 2 amostras positivas e duas negativas, Bahia 1 positiva e outra negativa, Rio Grande do Sul apenas com amostras negativas em número de 5, Paraná e Santa Catarina, ambos com apenas duas amostras testadas negativas, Espírito Santo com uma única amostra e negativa (tabela 1).

Tabela 1- Número de casos positivos e negativos de PCR para *Leishmania* em testes realizados em laboratório privado de São Paulo capital entre os anos de 2011 e 2013, por unidade Federativa.

Unidade Federativa	Positivo	Negativo
São Paulo	43	176
Minas Gerais	39	63
Brasília	31	64
Rio de Janeiro	2	2
Bahia	1	1
Rio Grande do Sul	0	5
Paraná	0	2
Santa Catarina	0	2
Espírito Santo	0	1
Total	116	315

Em relação aos pacientes, podemos notar que as amostras provenientes de caninos são as que mais são processadas pelo laboratório, sem predileção sexual (tabela 2).

Tabela 2 - Resultados de Leishmaniose por PCR por espécie animal

Espécies	Positivo	Negativo
Canina	112	310

Mosquito Palha	3	3
Macaco	1	0
Felina	0	1
Rato	0	1

Nota-se também que as amostras processadas pelo laboratório são na maioria de sangue total (tabela 3). Porém, as amostras preferenciais para PCR são de aspirado de medula óssea e punção de linfonodos, pois a amostra de sangue total é muito influenciada pela parasitemia. Desse modo, se o animal estiver na fase assintomática ou oligossintomática, pode ocorrer do parasita não ser detectado no exame, devido sua baixa quantidade no sangue circulante.

Tabela 3 – Tipos de tecidos das amostras utilizadas para diagnóstico por PCR

Amostras	Total
Sangue total	401
Sangue total, Medula óssea	4
Medula óssea	10
Mosquito Palha	6
Punção de linfonodo	5
Sangue total, Punção de Linfonodo	3
Sangue total, Medula óssea, Punção de linfonodo	1
Medula óssea, Punção de linfonodo	1

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A técnica molecular de reação em cadeia de polimerase para diagnóstico de leishmaniose tem se revelado como sendo mais uma opção diagnóstica. Várias amostras recebidas para análise em laboratório especializado em técnicas moleculares se apresentaram positivas para *Leishmania* servindo para alertar sobre a doença na região e também em outras regiões do Brasil, já que amostras de outros Estados também foram testadas. Os resultados desta

pesquisa sugerem a necessidade de mais estudos para comparação da sensibilidade da técnica ora empregada com as consideradas “padrão ouro” pelos laboratórios de referência credenciados pelas autoridades governamentais e, talvez, melhorias nos primers para que superem as outras metodologias disponíveis hoje para o diagnóstico confirmatório da leishmaniose.

8. FONTES CONSULTADAS

GONTIJO, C.M., MELO, M.N. Visceral Leishmaniasis in Brazil: current status, challenges and prospects. Rev. Bras. Epidemiol. v. 7, n. 3, p. 338-49, Set. 2004.

Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Guia de Vigilância Epidemiológica – 6ª edição (2005) – 2ª reimpressão (2007). Série A. Normas e Manuais Técnicos. Brasília / DF – 2007. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/Guia_Vig_Epid_novo2.pdf

CARLTON, W.W; McGAVIN, M.D. Patologia Veterinária especial de Thomson; traduzido por Claudio Severo Lombardo de Barros. 2 edição, Porto Alegre: Artmed, 323-324 p. 1998.

TRAVI, B.L.; MONTOYA, J.; GALLEGO, J.; JARAMELLO, C.; LLANO, R.; VELEZ, I.D. Binomics of *Lutzomya evansi* (Diptera: Psychodidae) vector of visceral *Leishmaniasis* in northern Columbia. J. Méd. Entomol., v.33, p.278-285, 1996.