

# DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE VISCERAL HUMANA EM ÁREAS RURAIS, ENDÊMICAS E NÃO ENDÊMICAS, UTILIZANDO UM TESTE IMUNOCROMATOGRÁFICO rK39<sup>1</sup>

Zilma Ferreira Dourado e Sousa

Este trabalho é composto por três segmentos: 1) revisão bibliográfica sobre as diversas formas de diagnóstico laboratorial da Leishmaniose visceral (LV) humana, enfocando principalmente os testes imunocromatográficos de detecção rápida para anticorpos contra *Leishmania* spp; 2) cronologia da evolução do Programa de Saúde da Família no estado de Goiás; 3) trabalho original com os seguintes objetivos: *avaliar*, comparativamente, a sensibilidade e a especificidade do teste imunocromatográfico mediante a utilização do antígeno rk39 (Teste Rápido para *Leishmania* spp – TRL), quando realizado por profissionais do Programa de Saúde da Família/Sistema Único de Saúde (PSF/SUS), e pelo exame Parasitológico Direto, por meio de Punção Aspirativa de Medula Óssea (PD/PMO) e da Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI); *verificar* a relação custo-benefício e a estabilidade do TRL e, finalmente, *avaliar* conhecimento, atitudes e práticas dos profissionais do PSF/SUS na realização do TRL em indivíduos de áreas rurais endêmicas e não endêmicas de LV. Foram selecionados três municípios endêmicos do estado do Tocantins, os quais apresentaram, em 2004, as maiores incidências de LV (Paraíso do Tocantins, Porto Nacional e Palmas) e dois municípios do estado de Goiás, nos quais não foram detectados casos autóctones da doença (Caldazinha e Goiânia). O TRL foi realizado por 24 profissionais, em hospitais credenciados pelo SUS e PSF no estado do Tocantins, e por 7 profissionais do PSF/SUS, no município de Caldazinha (GO), sob treinamento e supervisão das equipes do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP) e do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Goiás. Foram testadas amostras de sangue total, obtidas por punção digital, de 355 indivíduos distribuídos em seis grupos: 1) virgens de terapia anti-leishmaniótica; 2) em fase de tratamento 3) pós-tratamento de LV; 4) aparentemente saudáveis e expostos; 5) aparentemente saudáveis e não expostos; 6) portadores de outras doenças infecto-parasitárias (doença de Chagas, hanseníase, leishmaniose tegumentar, malária, aids, toxoplasmose e tuberculose respiratória), neste caso a finalidade era avaliar o potencial de reação cruzada do TRL. Os resultados do TRL foram comparados com os do PD/PMO pela equipe médica nos indivíduos

---

1 Resumo de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina Tropical do Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública (IPTSP), da Universidade Federal de Goiás (UFG), sob a orientação do prof. Marco Túlio A. García-Zapata e co-orientação da profa. Elisângela de Paula Silveira Lacerda, para a obtenção do título de Mestre em Medicina Tropical. Área de concentração: Parasitologia. Goiânia-GO, Brasil, 2007.

Endereço para correspondência: Zilma Dourado. E-mail: zilmadourado@uol.com.br

dos grupos 1, 2 e 3. Nos grupos 4 e 5, os resultados do TRL foram comparados com a RIFI em papel filtro. No grupo 6 foi realizado apenas o TRL. A Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foi executada no sangue total dos indivíduos que apresentaram resultados discordantes. Na avaliação geral, foram determinadas a sensibilidade e a especificidade do TRL, comparando-as com PD/PMO e a RIFI em papel filtro. Também foram observadas as atitudes comportamentais dos profissionais PSF/SUS durante a execução do TRL, avaliadas as despesas geradas por cada uma das metodologias utilizadas no diagnóstico de LV e verificadas as adversidades do meio ambiente (temperatura e umidade relativa do ar). Nos grupos 1 e 2, a sensibilidade e a especificidade do TRL foram respectivamente de 95,5% e 99,7%; a sensibilidade e a especificidade do PD/PMO foram de 91,3% e 100%, respectivamente. No grupo 3, 37% dos indivíduos continuaram com os anticorpos anti-rK39. No grupo 4, a especificidade do TRL foi de 100% e da RIFI em papel filtro foi de 98,8%. No grupo 5, o TRL foi não-reagente em 100% e a RIFI em 99,3%. No grupo 6, o TRL foi não-reagente em 100% dos casos. As maiores dificuldades encontradas pelos profissionais do PSF/SUS, após o treinamento, foram a abertura da embalagem do TRL (51,6%) e a aspiração do sangue na pipeta capilar (41,9%). A temperatura, em condições de campo e no laboratório, variou entre 23°C e 30°C e a umidade relativa do ar, entre 22% e 84%. O custo unitário das técnicas de diagnóstico utilizadas foi de: TRL- US\$ 2,71, RIFI- US\$ 8,56 e PD/PMO- US\$ 72,1. Nos grupos 1 e 2, a sensibilidade e a especificidade do TRL foram relativamente elevadas. O achado de um indivíduo com LV assintomática confirma que o TRL pode detectar infecções clínicas e subclínicas. O TRL não apresentou reação cruzada com os anticorpos de outras doenças infecciosas e parasitárias, dado valioso para o diagnóstico da LV em comparação com as outras metodologias sorológicas, como RIFI e Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), que geralmente apresentam reações cruzadas com doenças simpáticas. Ficou claro que o prévio treinamento dos profissionais do PSF/SUS aprimorou a execução do TRL. Os valores agregados do TRL na área de campo se mostraram inferiores aos valores agregados da RIFI e do PD/PMO. As variações de temperatura e umidade relativa do ar, em condições de laboratório e de campo, não interferiram na estabilidade dos reagentes utilizados no TRL. Assim, foi possível concluir que o TRL pode: ser utilizado na rotina do PSF, já que é um método de diagnóstico simples e rápido; constituir importante teste no controle da LV em áreas endêmicas; propiciar visão mais realista da situação epidemiológica do calazar em nível nacional e tornar possível a implantação de metodologias de diagnósticos mais precoces e eficientes em áreas endêmicas onde há carência de recursos humanos e técnicos, especialmente de médicos qualificados para a execução de exames invasivos como a PMO, considerada o “padrão ouro” na confirmação deste agravo.

## HUMAN VISCERAL LEISHMANIASIS DIAGNOSIS IN ENDEMIC AND NON-ENDEMIC RURAL AREAS USING AN IMMUNE CHROMATOGRAPHIC TEST rK39

This study was composed of three segments: 1) Literature review about several different forms of laboratory diagnosis of human visceral leishmaniasis (VL) focusing mainly on immune chromatographic tests for quick detection of anti-*Leishmania* spp antibodies; 2) Chronology of historical evolution of the Family Health Program in the State of Goiás; 3) Original research aiming to: evaluate sensibility and specificity of the immune chromatographic test using rk39 antigen (Test for Quick detection of *Leishmania* spp – TQL), when carried out by the professionals of the Family Health Program/National Public Health Care System (FHP/NPHCS), compared to Direct Parasitological exam through Bone-Marrow Aspiration Puncture (DP/BMAP) and Indirect Immunofluorescence Reaction (IFR); verify the cost-benefit and stability ratio of TQL; evaluate knowledge, attitudes, and practice of FHP/NPHCS professionals while performing TQL in individuals living in VL endemic and non-endemic rural areas. For this study the following areas were selected: three endemic cities in the state of Tocantins (Northern Region of Brazil), which presented the highest VL incidences in 2004 (Paraíso do Tocantins, Porto Nacional, and Palmas); two cities in the state of Goiás (Midwestern Region of Brazil), where no autochthonous cases of the disease were detected (Caldazinha and Goiânia). TQL was carried out by 24 professionals in hospitals belonging to FHP/NPHCS in the state of Tocantins and by seven professionals of FHP/NPHCS in Caldazinha, all of whom were trained and supervised by teams from the Institute of Tropical Pathology and Public Health and the Biological Sciences Institute of the Federal University of Goiás. Total blood samples, collected through digital puncture from 355 individuals, distributed in six groups, were tested: 1) anti-leishmaniasis-therapy-virgin individuals; 2) individuals during VL treatment; 3) post-VL treatment individuals; 4) apparently healthy individuals exposed to VL; 5) apparently healthy individuals non-exposed to VL; 6) carriers of other infectious and parasitological diseases (Chagas disease, Hansen disease, tegumentar leishmaniasis, malaria, Aids, toxoplasmosis, and respiratory tuberculosis), this last one aiming to evaluate the potential of TQL crossed reaction. The results of TQL were compared to those obtained for DP/BMAP by the medical team for individuals belonging to groups 1, 2, and 3. In groups 4 and 5, the results of TQL were compared to IFR in filter paper. In group 6, just TQL was performed. Polymerase Chain Reaction (PCR) was carried out in total blood of individuals presenting discordant results. In the general evaluation, sensibility and specificity of TQL were determined compared to DP/BMAP and IFR in filter paper. All the behavioral attitudes of the FHP/NPHCS professionals were observed during TQL procedures. The expenses with each of the methodologies used to diagnose VL were evaluated, and the weather conditions (temperature and relative humidity) were verified. In groups 1 and 2, TQL sensibility

and specificity were respectively 95.5% and 99.7%, and DP/BMAP sensibility and specificity were 91.3% and 100%, respectively. In group 3, 37% of the individuals continued with anti-rK39 antibodies. In group 4, TQL specificity was 100% and IFR in filter paper was 98.8%. In group 5, TQL was non-reactive in 100% of the samples and IFR was 99.3%. In group 6, TQL was non-reactive in 100% of the samples. The greatest difficulties found by FHP/NPHCS professionals after training were opening TQL package (51.6%) and using capillary pipette for blood aspiration (41.9%). Field and laboratory temperature ranged from 23°C to 30°C, and relative humidity between 22% and 84%; however, these variations did not interfere in TQL results. The unit cost of these diagnosis techniques used was: TQL - US\$ 2.71; IFR - US\$ 8.56; and DP/BMAP - US\$ 72.10. In groups 1 and 2, TQL sensibility and specificity were relatively high. Finding one individual with asymptomatic VL confirms that TQL can detect clinical and subclinical infections. TQL did not show crossed reaction with antibodies of other infectious and parasitological diseases, which is valuable for VL diagnosis compared to other serological methods, such as IFR or Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA), which generally present crossed reaction with sympatric diseases. It was clear that the previous training of FHP/NPHCS professionals to perform TQL improved the test execution. Aggregated values of TQL in the field area are inferior to those of IFR and DP/BMAP. Temperature and relative humidity variations, under field and laboratory conditions, did not interfere in stability of reagents used in TQL. It was possible to conclude that: TQL can be used routinely in FHP/NPHCS, because it is a simple and quick diagnosis method; it can constitute an important tool to control VL in endemic areas; it can give a more realistic view of the epidemiological situation of kala-azar in the national panorama; this makes possible the implantation of more precocious and efficient diagnosis methods in endemic areas where there is lack of human and technical resources, especially doctors qualified to carry out invasive exams such as DP/BMAP, considered the gold standard to confirm this disease.