

# Avaliação / validação de teste rápido (“rk39dipstick test”) para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) no Estado de São Paulo

J. Eduardo TOLEZANO<sup>1</sup>; Helena H. TANIGUCHI<sup>1</sup>; J. Augusto R. BARBOSA<sup>1</sup>; J. Eduardo R. BARBOSA<sup>1</sup>; M. Fátima L. ARAÚJO<sup>1</sup>; Elaine A. CUNHA<sup>1</sup>; Márcia C. BISUGO<sup>1</sup>; Fábio A. COLOMBO<sup>1</sup>; Andréa S. GARCIA<sup>1</sup>; Rui LAROSA<sup>1</sup>; Carlos Roberto ELIAS<sup>1</sup>; Oscar LA ROSA<sup>1</sup>; Eleane L. GARCIA<sup>1</sup>; Rosângela GARCIA<sup>1</sup>; Andréia M. ANDRADE<sup>2</sup>; Silvana R. ALVES<sup>2</sup>; Milton A. SAITO<sup>3</sup>; Nilton M. GONÇALVES<sup>4</sup>; Aziz ABDONUR<sup>5</sup>; Massami OKAGIMA<sup>6</sup>

<sup>1</sup>. Instituto Adolfo Lutz – Divisão de Biologia Médica – Seção de Parasitoses Sistêmicas – São Paulo/SP;

<sup>2</sup>. Secretaria Municipal de Saúde de Araçatuba/SP;

<sup>3</sup>. Secretaria Municipal de Saúde de Guararapes/SP;

<sup>4</sup>. Secretaria Municipal de Saúde de Mirandópolis/SP;

<sup>5</sup>. Secretaria Municipal de Saúde de Andradina/SP;

<sup>6</sup>. Secretaria Municipal de Saúde de Pereira Barreto/SP.

Até março de 2003, focos de transmissão de Leishmaniose Visceral Canina eram reconhecidos em mais de 20 (vinte) diferentes municípios da região oeste do Estado de São Paulo. Nos últimos cinco anos, milhares de cães dessa região foram identificados, em inquéritos sorológicos, como infectados por *Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi*, tendo sido apreendidos e eutanasiados.

Foram diagnosticados mais de 140 (cento e quarenta) casos humanos de Leishmaniose Visceral Americana, em diferentes municípios dessa região (Andradina, Araçatuba, Birigui, Castilho, Guaraçaí, Guararapes, Lavínia, Mirandópolis, Penápolis, Promissão e Valparaíso), segundo dados da Vigilância Epidemiológica da Divisão Regional de Saúde VI da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo.

A necessidade de encontrar alternativas que viabilizem o controle da Leishmaniose Visceral Canina levou-nos a estruturação de um ambicioso projeto de pesquisa temático interinstitucional sobre procedimentos laboratoriais para o diagnóstico da endemia no Estado de São Paulo.

A presente comunicação tem o objetivo de apresentar os resultados obtidos até o momento (março de 2003), quando estamos desenvolvendo atividades relativas à avaliação / validação de teste rápido para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina, em condições de trabalho de campo, com a utilização de antígeno recombinante rK39.

O estudo vem sendo conduzido na região do oeste paulista, área endêmica para a Leishmaniose Visceral

Canina e, em áreas com transmissão de Leishmaniose Tegumentar. Os cães incluídos nas avaliações já realizadas, estão assim classificados:

1. Cães recolhidos nos Centros de Zoonoses dos municípios de Araçatuba, Andradina, Guararapes, Mirandópolis e Pereira Barreto, com ou sem diagnóstico prévio para Leishmaniose Visceral Canina; 2. Cães incluídos no estudo a partir de sorteio de áreas desses diferentes municípios (amostras aleatórias); 3. Cães com Leishmaniose Tegumentar; 4. Cães incluídos no estudo a partir de inquéritos realizados nos municípios de Itupeva e Caraguatatuba, indenes para Leishmaniose Visceral mas, com focos de transmissão para Leishmaniose Tegumentar; 5. Cães com outras patologias (erliquiose, babesiose, toxoplasmose, filariose, doença de Chagas).

Para todos os animais estão sendo realizadas:

- Avaliação clínica e/ou achados de necrópsia;
- Anticorpos anti-*Leishmania* – rK39 dipstick test (Inbios International-USA) em sangue total, soro sanguíneo e papel de filtro e Reação de imunofluorescência indireta (BioManguinhos- Fiocruz-Brasil) em soro sanguíneo e papel de filtro;
- Demonstração da presença de *Leishmania* – Esfregaços de punção de linfonodo e/ou aspirados de fígado e/ou baço; Culturas para isolamento do parasita; Inoculações em hamsters para isolamento do parasita; Coleta de biópsia de lesões cutâneas ou baço ou linfonodo para extração e purificação de DNA para posterior realização de PCR espécie-específico.

---

Na fase atual de desenvolvimento do estudo o protocolo acima descrito foi realizado com 1.071 cães recolhidos nos Centros de Zoonoses municipais. Para o teste rápido “rK39 dipstick” temos encontrado sensibilidade ao redor de 90%, qualquer que tenha sido a amostra examinada (sangue total, soro sangüíneo ou eluato de sangue em papel de filtro).

Para a reação de imunofluorescência indireta, tradicionalmente empregada nos inquéritos caninos previstos no Programa de Controle da Leishmaniose Visceral no Brasil, a sensibilidade varia em 83% e 81% em soro sangüíneo e em papel de filtro, respectivamente.

Quanto à especificidade, para o teste rápido com antígeno rK39, tanto para os cães com Leishmaniose Tegumentar, quanto para os animais clinicamente sadios incluídos em inquéritos caninos nos municípios de Itupeva e Caraguatatuba, com focos de transmissão de LTA, 100% dos exames realizados resultaram negativos para anticorpos anti-rK39.

Deve ser ressaltado que a concordância entre resultados obtidos em um mesmo teste diagnóstico (teste

rápido ou reação de imunofluorescência) com diferentes tipo de amostra (sangue total ou soro sangüíneo ou papel de filtro) foi:

- a. Teste rápido “rK39 dipstick”: sangue total x soro sangüíneo – 98,5%; papel de filtro x soro sangüíneo – 98,3%;
- b. Reação de imunofluorescência: papel de filtro x soro sangüíneo – 88,2%.

Várias reações, tanto no teste rápido quanto na reação de imunofluorescência indireta tem sido observadas inespecificidades do tipo “fracamente positivo”;

Não descartamos a possibilidade de alguns “falsos negativos” serem devidos a agente etiológico diferente de *Leishmania (Leishmania) chagasi* uma vez que dos 315 isolados de *Leishmania* conseguidos até o momento a maioria ainda está em processo de identificação específica.

Com todas as ressalvas aqui registradas julgamos oportuno comentar que os resultados obtidos até aqui são animadores servindo de estímulo para a busca de uma alternativa viável para o diagnóstico, em condições de trabalho de campo, para a Leishmaniose Visceral Canina.