
Estudo comparativo entre os métodos ELISA e Imunofluorescência Indireta na análise de amostras de sangue de cães provenientes de municípios endêmicos e enzoóticos para leishmaniose visceral americana

Silva, R. M. da. **ELISA and Indirect Immunofluorescence tests: Comparative study in the analyses of blood samples of dogs from endemic and enzootic municipalities for American visceral leishmaniasis** São Paulo, SP, 2005. [Tese de Doutorado —Área: Epidemiologia. Faculdade de Saúde Pública —USP]. Orientador: Prof. Dr. Almério de Castro Gomes.

O presente estudo avaliou 2002 amostras de sangue de cães provenientes de áreas endêmicas (região oeste do Estado de São Paulo) e áreas não endêmicas (município de São Paulo) para leishmaniose visceral americana (LVA), com o objetivo de otimizar os testes sorológicos preconizados pelo Programa de Controle nos inquéritos sorológicos caninos, preconizados no Programa de Controle de LVA e produzidos por Biomanguinhos (Reação de Imunofluorescência Indireta / RIFI-BM e Ensaio Imunoenzimático ELISA / ELISA-BM. Para tal as amostras de sangue foram agrupadas em três bancos de dados: Banco (A) constituído por 97 amostras de sangue assim caracterizadas: 51 amostras com exame parasitológico, sorológico e sintomatologia definida como assintomática (2); oligossintomática (18) e sintomática (31); além destas, 46 amostras de sangue sorologicamente negativas das quais 26 tinham exames parasitológico e sorológico negativos e 20 somente exames sorológico negativos; Banco (B) composto por 174 amostras pareadas de soro e sangue colhidos em papel filtro com diagnóstico clínico, sorológico e parasitológico; Banco (C) constituído de 1831 amostras de sangue colhidas em papel-filtro, provenientes de 3 inquéritos sorológicos caninos realizados nos municípios de Rubiácea (504 amostras), Piacatú (607 amostras) e Luiziana (720 amostras). A RIFI foi realizada quantitativamente nas diluições 1/20, 1/40, 1/80 e 1/160 e a leitura foi expressa por critério de cruzes sendo atribuído porcentagens para cada leitura assim definidos: A) zero (0%), B) + (25%), C) ++ (50%), D) +++ (75%) e E) ++++ (100%). Os resultados dos dois testes RIFI-BM e ELISA-BM foram comparados com os resultados obtidos nos mesmos testes mas utilizando antígeno específico de *L.chagasi* e permitiram concluir que a RIFI com antígeno específico (RIFI-CH) foi capaz de separar todos os verdadeiros negativos dos verdadeiros positivos. Foi possível ainda observar que a eficiência da RIFI-BM variou de 60% a 76%. Quando se compararam os resultados da RIFI-BM com soro e com papel-filtro, na diluição 1/40, como preconiza o PCLVA, observou-se que para a RIFI com papel-filtro o melhor ponto de corte ficou definido como 30%, ou seja acima de 1+ (25%) e para o soro o ponto de corte ficou estabelecido em 45%. Portanto o novo parâmetro para o ponto de corte da RIFI-BM deve ser a diluição 1/40 com leituras de 2+ (50%), ou então 1/80 o que seguramente diminuiria o número de falsos positivos. Da comparação resultados da RIFI-BM com os do ELISA-BM observou-se uma discordância de 23% entre os dois testes, ou seja o ELISA-BM deixou de diagnosticar 23% dos resultados positivos em relação aos observados com a RIFI-BM. O ELISA BioManguinhos forneceu mais resultados falsos positivos com o ponto de corte estabelecido pelo Kit, quando comparado com o novo ponto de corte proposto neste estudo, que foi calculado a partir de controles negativos de eluatos. Quando o ELISA foi avaliado com o novo ponto de corte nas 3 populações caninas dos inquéritos sorológicos (Rubiácea, Piacatú e Luiziana) a soroprevalência diminuiu em quase 50% quando comparado com o mesmo teste com ponto de corte preconizado pelo BioManguinhos. Os resultados do estudo demonstraram a urgência de se implementar iniciativas para o aprimoramento de novos testes sorológicos com antígenos específicos que sejam capazes de identificar e separar as diferentes fases da doença.

Tese disponível na Biblioteca da Faculdade de Saúde Pública da USP
e na Biblioteca do Instituto Adolfo Lutz (São Paulo —SP
E-mail: ritsilva@terra.com.br