

# Patologia das Doenças 3

Yvanna Carla de Souza Salgado  
(Organizadora)



 **Atena**  
Editora

Ano 2018

2018 by Atena Editora

Copyright © da Atena Editora

**Editora Chefe:** Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

**Diagramação e Edição de Arte:** Geraldo Alves e Natália Sandrini

**Revisão:** Os autores

#### Conselho Editorial

- Prof. Dr. Alan Mario Zuffo – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas  
Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília  
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa  
Prof. Dr. Constantino Ribeiro de Oliveira Junior – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná  
Prof. Dr. Darllan Collins da Cunha e Silva – Universidade Estadual Paulista  
Profª Drª Deusilene Souza Vieira Dall’Acqua – Universidade Federal de Rondônia  
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul  
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria  
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia  
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice  
Profª Drª Juliane Sant’Ana Bento – Universidade Federal do Rio Grande do Sul  
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense  
Prof. Dr. Jorge González Aguilera – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul  
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins  
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte  
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão  
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará  
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista  
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará  
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas  
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande  
Profª Drª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa  
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

#### Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) (eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)

P312 Patologia das doenças 3 [recurso eletrônico] / Organizadora Yvanna Carla de Souza Salgado. – Ponta Grossa (PR): Atena Editora, 2018. – (Patologia das Doenças; v. 3)

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-85-85107-86-4

DOI 10.22533/at.ed.864181411

1. Doenças transmissíveis. 2. Patologia. I. Salgado, Yvanna Carla de Souza. II. Série.

CDD 616.9

**Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422**

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores.

2018

Permitido o download da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

[www.atenaeditora.com.br](http://www.atenaeditora.com.br)

**Yvanna Carla de Souza Salgado**

(Organizadora)

# **Patologia das Doenças**

## **3**

Atena Editora  
2018

## APRESENTAÇÃO

As obras “Aspectos das Doenças Tropicais II e III” abordam uma série de livros de publicação da Atena Editora. Em seu volume II e III, apresentam em seus capítulos, aspectos gerais e epidemiológicos das doenças tropicais analisados em algumas regiões brasileiras.

As doenças tropicais são assim designadas por se tratarem de um conjunto de doenças infecciosas que ocorrem nas regiões tropicais e subtropicais. Em uma ação que objetiva a avaliação dos indicadores globais e o combate e controle dessas doenças, a Organização Mundial da Saúde lançou uma classificação de “doenças tropicais negligenciadas” para agrupar as doenças tropicais endêmicas, causadas por agentes infecciosos ou parasitas principalmente entre a população mais carente e, cuja prevenção e controle são dificultados pela escassez de investimentos.

Essas doenças afetam especialmente as populações pobres da África, Ásia e América Latina. Juntas, causando aproximadamente entre 500 mil a um milhão de óbitos anualmente, segundo dados da Organização Mundial da Saúde. Segundo o relatório da Organização Mundial da Saúde de 2017, na América Latina e no Caribe, estima-se que 46 milhões de crianças vivem em áreas de alto risco de infecção ou reinfecção com helmintos transmitidos pelo solo e 70,2 milhões estão em risco de doença de Chagas. Mais de 33 mil novos casos de hanseníase e mais de 51 mil casos de leishmaniose cutânea são relatados nas Américas a cada ano. Além disso, 70 milhões de pessoas na região estão em risco de doença de Chagas e 25 milhões sofrem de esquistossomose.

Neste volume III, dedicado às Doenças Tropicais, reunimos um compilado de artigos com estudos dirigidos sobre Doença de Chagas, Leishmaniose, Esquistossomose, Enteroparasitoses, Hanseníase e Raiva em regiões brasileiras, com o intuito de ampliar o conhecimento dos dados epidemiológicos, contribuindo assim para a formulação de políticas públicas de apoio dirigidas às diferentes características regionais deste país continental.

A obra é fruto do esforço e dedicação das pesquisas dos autores e colaboradores de cada capítulo e da Atena Editora em elaborar este projeto de disseminação de conhecimento e da pesquisa brasileira. Espero que este livro possa permitir uma visão geral e regional das doenças tropicais e inspirar os leitores a contribuírem com pesquisas para a promoção de saúde e bem estar social.

Yvanna Carla de Souza Salgado

## SUMÁRIO

<b>CAPÍTULO 1</b> .....	<b>1</b>
DOENÇA DE CHAGAS NO BRASIL: NOTIFICAÇÕES DE CASOS AGUDOS NO PERÍODO DE 2000 A 2013	
<i>Tiago Ferreira Dantas</i>	
<i>Thaiane do Carmo Wanderley</i>	
<i>Ririslâyne Barbosa da Silva</i>	
<i>Maria Eduarda Guimarães Barros Suruagy do Amaral</i>	
<i>Erika Priscilla Lopes Cordeiro</i>	
<i>Francisca Maria Nunes da Silva</i>	
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	<b>7</b>
VIGILÂNCIA EPIDEMIOLÓGICA DA DOENÇA DE CHAGAS EM ALAGOAS	
<i>Layanna Bezerra Nascimento</i>	
<i>Lucas Roberto da Silva Barbosa</i>	
<i>Rafaella Lima dos Santos</i>	
<i>Rodrigo Daudt Tenório</i>	
<i>Thalita Ferreira Torres</i>	
<i>Marina Valdez Santos</i>	
<b>CAPÍTULO 3</b> .....	<b>15</b>
SÍNTESE E AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-T.CRUIZI DE TIAZÓIS	
<i>Lucianna Rabêlo Pessoa de Siqueira</i>	
<i>Miria de Oliveira Barbosa</i>	
<i>Arsênio Rodrigues Oliveira</i>	
<i>Gevanio Bezerra de Oliveira Filho</i>	
<i>Marcos Victor Gregório Oliveira</i>	
<i>Thiago André Ramos dos Santos</i>	
<i>Valéria Rêgo Alves Pereira</i>	
<i>Ana Cristina Lima Leite</i>	
<b>CAPÍTULO 4</b> .....	<b>25</b>
IDENTIFICAÇÃO DE FÁRMACOS CONTRA TRYPANOSOMA CRUIZI ATRAVÉS DE ESTRATÉGIA DE QUIMIOTERAPÊUTICA POR REPOSICIONAMENTO	
<i>Wanessa Moreira Goes</i>	
<i>Juliana Rodrigues</i>	
<i>Renato Beilner Machado</i>	
<i>Taízy Leda Tavares</i>	
<i>Francesca Guaracyaba Garcia Chapadense</i>	
<i>Moisés Moraes Inácio</i>	
<i>Pedro Vitor Lemos Cravo</i>	
<b>CAPÍTULO 5</b> .....	<b>35</b>
INCIDÊNCIA DE DOENÇAS PARASITÁRIAS DE NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA EM ALAGOAS: TRIPANOSSOMÍASE AMERICANA	
<i>Rafael dos Santos Nascimento</i>	
<i>Amanda Cavalcante de Macêdo</i>	
<b>CAPÍTULO 6</b> .....	<b>41</b>
A IMPORTÂNCIA DA EQUIPE MULTIDISCIPLINAR DA SAÚDE NO ACOMPANHAMENTO DO PACIENTE CHAGÁSICO	
<i>Gabriela Correia de Araújo Novais</i>	
<i>Bárbara Tenório de Almeida</i>	
<i>Caroline Montenegro Silva</i>	
<i>Laís Virgínia de Lima Silva</i>	
<i>Gabriela Castro Guimarães</i>	
<i>Rodrigo Daudt Tenório</i>	
<i>Gabriela Souto Vieira de Mello</i>	

**CAPÍTULO 7 ..... 48**

ASPECTOS SOCIOECONÔMICOS E EPIDEMIOLÓGICOS DA LEISHMANIOSE VISCERAL NO ESTADO DO MATO GROSSO – 2012 A 2016

*Rafaela Freitas*  
*Andressa Quadros Alba*  
*Paulo Sérgio de Souza Leite Segura*

**CAPÍTULO 8 ..... 56**

LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA: CARACTERIZAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA E MOLECULAR DAS ESPÉCIES DE LEISHMANIA PREVALENTES NA REGIÃO DE SAÚDE DE PORTO NACIONAL - TOCANTINS, BRASIL, 2011-2015

*Joandson dos Santos Souza*  
*Danilo Carvalho Guimarães*  
*Bruna Silva Resende*  
*Cálita Pollyanna Marques*  
*Miriam Leandro Dorta*  
*Carina Scolari Gosch*

**CAPÍTULO 9 ..... 70**

AValiação DA OCORRÊNCIA DE LEISHMANIOSE VISCERAL EM RELAÇÃO A LOCALIZAÇÃO GEOGRÁFICA EM MONTES CLAROS-MG

*Jefferson Oliveira Silva*  
*Anna Clara A. Silveira*  
*Fernando Fialho Pires*  
*Amanda Evellyn Macedo Silva*  
*Fernanda Santana da Silva*  
*Fabiana da Silva Vieira Matrangolo*

**CAPÍTULO 10 ..... 72**

AValiação DA IMUNOGENICIDADE DE CÉLULAS DENDRÍTICAS ESTIMULADAS COM PEPTÍDEOS RECOMBINANTES DE LEISHMANIA VIANNIA BRAZILIENSES

*Ailton Alvaro da Silva*  
*Rafael de Freitas e Silva*  
*Beatriz Coutinho de Oliveira*  
*Maria Carolina Accioly Brelaz-de-Castro*  
*Luiz Felipe Gomes Rebello Ferreira*  
*Marcelo Zaldini Hernandez*  
*Oswaldo Pompílio de Melo Neto*  
*Antônio Mauro Rezende*  
*Valéria Rêgo Alves Pereira*

**CAPÍTULO 11 ..... 88**

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DAS LEISHMANIOSES: COMPARAÇÃO ENTRE A CITOMETRIA DE FLUXO E MÉTODOS CONVENCIONAIS

*Beatriz Coutinho de Oliveira*  
*Andresa Pereira de Oliveira Mendes*  
*Elis Dionísio da Silva*  
*Allana Maria de Souza Pereira*  
*Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro*  
*Maria Edileuza Felinto de Brito*  
*Valéria Rêgo Alves Pereira*

**CAPÍTULO 12 ..... 103**

UTILIZAÇÃO DO SWAB NO SERVIÇO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES,

PARA O DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

*Angélica Olivino da Silva*  
*Maria Edileuza Felinto de Brito*  
*Sinval Pinto Brandão-Filho*  
*Roberto Pereira Werkhäuser*  
*Eduardo Henrique Gomes Rodrigues*

**CAPÍTULO 13..... 113**

ALTERAÇÕES DO EQUILÍBRIO HIDROELETROLÍTICO NO TRATAMENTO DA COINFECÇÃO LEISHMANIA – HIV

*Ray Almeida da Silva Rocha*  
*Iran Roger Alkimin de Oliveira Júnior*  
*Paula Silva Aragão*  
*Bruna Silva Resende*  
*Alexandre Janotti*  
*Carina Scolari Gosch*

**CAPÍTULO 14..... 123**

AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DOS INQUÉRITOS SOROLÓGICOS CANINOS COMO AÇÃO DE VIGILÂNCIA E CONTROLE DA LEISHMANIOSE VISCERAL NA REGIÃO DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO

*Denise Maria Bussoni Bertollo*  
*Jose Eduardo Tolezano*

**CAPÍTULO 15..... 134**

PANORAMA EPIDEMIOLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE NO NORDESTE BRASILEIRO

*Alexandre Wendell Araujo Moura*  
*Everly Santos Menezes*  
*Jean Moisés Ferreira*  
*Adriely Ferreira da Silva*  
*Ana Caroline Melo dos Santos*  
*Willian Miguel*  
*Denise Macêdo da Silva*  
*Edilson Leite de Moura*  
*Karol Fireman de Farias*  
*Elaine Virgínea Martins de Souza Figueiredo*

**CAPÍTULO 16..... 148**

MECANISMO DE AGRESSÃO E DEFESA DA ESQUISTOSSOMOSE: UMA VISÃO DIRECIONADA A REGULAÇÃO DA THO E A EOSINOFILIA

*Gabriela Castro Guimarães*  
*Laís Virgínia de Lima Silva*  
*Caroline Montenegro Silva*  
*Bárbara Tenório de Almeida*  
*Gabriela Correia de Araújo Novais*  
*Rodrigo Daudt Tenório*  
*Cristiane Monteiro da Cruz*

**CAPÍTULO 17 ..... 155**

SUSCETIBILIDADE DE MOLUSCOS *B. GLABRATA* A INFECÇÃO POR *SCHISTOSOMA MANSONI*, EM ÁREA PERIURBANA DE SÃO LUÍS, MA: UMA REVISÃO

*Iramar Borba de Carvalho*  
*Renato Mendes Miranda*  
*Clícia Rosane Costa França Nino*  
*Dorlam's da Silva Oliveira*  
*Renato Juvino de Aragão Mendes*  
*Adalberto Alves Pereira Filho*  
*Inaldo de Castro Garros*  
*Ivone Garros Rosa*

<b>CAPÍTULO 18</b> .....	<b>161</b>
TECNOLOGIAS EDUCATIVAS COMO INSTRUMENTOS PARA O CONHECIMENTO E COMBATE DE AGENTES DE DOENÇAS INFECCIOSAS E PARASITÁRIAS	
<i>Edemilton Ribeiro Santos Junior</i>	
<i>Ligia Maffei Carnevalli</i>	
<i>Luiz Henrique Silva Mota</i>	
<i>Raíssa da Silva Santos</i>	
<i>Rebeca Correa Rossi</i>	
<i>João Victor Vieira Alves</i>	
<i>Ana Lúcia Moreno Amor</i>	
<b>CAPÍTULO 19</b> .....	<b>174</b>
LEVANTAMENTO DOS PRINCIPAIS ENTEROPARASITAS EM ESCOLARES QUILOMBOLA NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ, AMAPÁ	
<i>Rubens Alex de Oliveira Menezes</i>	
<i>Margarete do Socorro Mendonça Gomes</i>	
<b>CAPÍTULO 20</b> .....	<b>187</b>
FREQUÊNCIA DE PARASITÓSES INTESTINAIS: UM ESTUDO COM CRIANÇAS DE UMA CRECHE PÚBLICA E PARTICULAR NO MUNICÍPIO DE MACAPÁ, AMAPÁ, BRASIL	
<i>Rubens Alex de Oliveira Menezes</i>	
<i>Margarete do Socorro Mendonça Gomes</i>	
<b>CAPÍTULO 21</b> .....	<b>204</b>
HEMODIALISADOS E INFECÇÃO POR ENTEROPARASITÓSES	
<i>Bianca Teshima de Alencar</i>	
<i>Noely Machado Vieira</i>	
<i>Antonio Francisco Malheiros</i>	
<b>CAPÍTULO 22</b> .....	<b>211</b>
ALTERAÇÕES LABORATORIAIS NA FASCIOLÍASE	
<i>Yuho Matsumoto</i>	
<i>Valeria Paes Lima Fernandes</i>	
<i>Walcyamar Pereira Santiago</i>	
<i>Shiguero Ofugi</i>	
<i>Cleudson Nery de Castro</i>	
<b>CAPÍTULO 23</b> .....	<b>213</b>
ASPECTOS GERAIS DA HANSENÍASE	
<i>Luana Nepomuceno Gondim Costa Lima</i>	
<i>Everaldina Cordeiro dos Santos</i>	
<i>Jasna Leticia Pinto Paz</i>	
<i>Karla Valéria Batista Lima</i>	
<b>CAPÍTULO 24</b> .....	<b>236</b>
PERFIL EPIDEMIOLÓGICO E CLÍNICO DA HANSENÍASE NO NORDESTE BRASILEIRO	
<i>Layanne Almeida Cezário</i>	
<i>Carla Bomfim Silva</i>	
<i>Margé Rufino Nascimento da Silva</i>	
<i>Lealdo Rodrigues de Andrade Filho</i>	
<i>Givânia Bezerra de Melo</i>	
<i>Maria Anilda dos Santos Araújo</i>	
<b>CAPÍTULO 25</b> .....	<b>249</b>
HANSENÍASE EM MATO GROSSO, AMAZÔNIA LEGAL, BRASIL, 2005-2016	
<i>Tony José de Souza</i>	

*Hélio Campos de Jesus*  
*Júlia Maria Vicente de Assis*  
*Marina Atanaka*

**CAPÍTULO 26 ..... 263**

SITUAÇÃO EPIDEMIOLÓGICA DA HANSENÍASE EM SÃO MATEUS, ESPÍRITO SANTO ENTRE 2010 A 2015

*Murilo S. Costa*  
*Blenda de O. Gongô*  
*Lorrane de O. Guerra*

**CAPÍTULO 27 ..... 264**

AÇÃO DE INTERVENÇÃO PARA IDENTIFICAÇÃO PRECOCE DE CASOS E CONTATOS DE HANSENÍASE EM UNIDADE DE SAÚDE DA FAMÍLIA DO MUNICÍPIO DE OLINDA - PERNAMBUCO

*Janaína Mariana de Araújo Miranda Brito Marques*

**CAPÍTULO 28 ..... 276**

GRUPO DE AUTOCUIDADO E PROMOÇÃO DA SAÚDE: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA JUNTO A UM GRUPO DE PACIENTES COM HANSENÍASE DE CACOAL-RO

*Jessíca Reco Cruz*  
*Cristiano Rodrigue de Souza*  
*Priscilla Cristina dos Santos*  
*Thayanne Pastro Loth*  
*Thereza Christina Torres Pinheiro*  
*Teresinha Cícera Teodora Viana*

**CAPÍTULO 29 ..... 292**

NEUROPATIA HANSÊNICA: ACOMETIMENTO DE NERVOS PERIFÉRICOS E O IMPACTO PSICOSSOCIAL

*Rodrigo Daudt Tenório*  
*Layanna Bezerra Nascimento*  
*Lucas Roberto da Silva Barbosa*  
*Marina Valdez dos Santos*

**CAPÍTULO 30 ..... 296**

LEVANTAMENTO SOBRE A COBERTURA VACINAL ANTIRRÁBICA DE CÃES E GATOS NO PERÍODO DE 2012 A 2014 E SUA ASSOCIAÇÃO COM OS CASOS DE AGRESSÕES A HUMANOS, NO ESTADO DO PIAUÍ

*Raissa Paula Araújo Alves*  
*Tibério Barbosa Nunes Neto*  
*Dayane Francisca Higino Miranda*  
*Júlio Cezar da Silva Barros*  
*Inácio Pereira Lima*  
*Nádia Rossi de Almeida*  
*Flaviane Alves de Pinho*

**SOBRE A ORGANIZADORA ..... 307**

## DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DAS LEISHMANIOSES: COMPARAÇÃO ENTRE A CITOMETRIA DE FLUXO E MÉTODOS CONVENCIONAIS

### **Beatriz Coutinho de Oliveira**

Programa de Pós-Graduação Inovação Terapêutica. Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil.

### **Andresa Pereira de Oliveira Mendes**

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, Recife, PE, Brasil

### **Elis Dionísio da Silva**

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, Recife, PE, Brasil

### **Allana Maria de Souza Pereira**

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, Recife, PE, Brasil

### **Maria Carolina Accioly Brelaz de Castro**

Centro Acadêmico de Vitória, Núcleo de Enfermagem, Universidade Federal de Pernambuco, Vitória, PE, Brasil.

### **Maria Edileuza Felinto de Brito**

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, Recife, PE, Brasil

### **Valéria Rêgo Alves Pereira**

Instituto Aggeu Magalhães/Fiocruz-PE, Recife, PE, Brasil

**RESUMO:** As Leishmanioses compreendem um grupo de doenças negligenciadas causadas por protozoários do gênero *Leishmania*. O diagnóstico preliminar dessas doenças é baseado nos sintomas e sinais clínicos, amparado por exames laboratoriais. Os testes sorológicos convencionais não permitem de

forma precisa a diferenciação de infecções recentes e tardias, o que não possibilita a utilização como critério de cura, além disso, podem apresentar reações cruzadas com outros tripanossomatídeos, limitando assim a especificidade. Nesse contexto, este capítulo fez uma descrição da literatura das ferramentas que são utilizadas no diagnóstico das leishmanioses e comparou experimentalmente o desempenho da citometria de fluxo, ELISA e IFI em diagnosticar pacientes com LTA antes, 1, 2 e 5 anos após o tratamento com Glucantime®. A partir do que foi observado acredita-se que a citometria de fluxo seja uma ferramenta promissora para o diagnóstico das Leishmanioses, uma vez que foi positiva na presença da doença e que diante dos dados apresentados, este teste pode contribuir como uma técnica mais sensível e específica.

**PALAVRAS-CHAVE:** Leishmanioses, Citometria de Fluxo, Diagnóstico Sorológico.

**ABSTRACT:** Leishmaniasis comprises a group of neglected diseases caused by protozoans of the genus *Leishmania*. The preliminary diagnosis of these diseases is based on symptoms and clinical signs, supported by laboratory tests. Conventional serological tests are not able to accurately differentiate recent from late infections, which does not allow their use as a cure criterion. In addition, they may cross-react

with other trypanosomatids, thus limiting specificity. In this context, the present chapter described the tools which are used in the diagnosis of leishmaniasis and compared the performances of flow cytometry, ELISA and IFA in diagnosing patients with ACL before, 1, 2 and 5 years after treatment with Glucantime<sup>®</sup>. Thus, it is believed that flow cytometry is a promising tool for the diagnosis of Leishmaniasis, since it was positive in the presence of the disease and that based on the presented data, this test can contribute as a more sensitive and specific tool.

**KEYWORDS:** Leishmaniasis; flow cytometry; serological diagnosis

## 1 | INTRODUÇÃO

As Leishmanioses compreendem um grupo de doenças negligenciadas endêmicas em 98 países, transmitidas por vetores dos gêneros *Lutzomyia* e *Phlebotomus* (ALVAR et al, 2012). As Leishmanioses apresentam uma variedade de manifestações clínicas, incluindo: as Leishmanioses Cutânea (LC), Mucocutânea (LMC) e Visceral (LV). Nas Américas, o conjunto LC e LMC é denominado Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) (WHO, 2010).

Estima-se que de 0,7 a 1,2 milhões e 0,2 a 0,4 milhões de novos casos ocorram anualmente no mundo pela leishmaniose tegumentar (LT) e leishmaniose visceral (LV), respectivamente. Mais de 90% dos casos de LV ocorrem em seis países: Índia, Bangladesh, Sudão, Sudão do Sul, Etiópia e Brasil. A leishmaniose tegumentar apresenta cerca de um terço dos casos de Leishmanioses nas Américas, na bacia do Mediterrâneo, na Ásia ocidental e Ásia Central (ALVAR et al., 2012; DE VRIES; REEDIJK; SCHALLIG, 2015).

No Brasil, a leishmaniose visceral (LV) é causada pelo protozoário *Leishmania (Leishmania) infantum* (LAINSON; SHAW, 1987). As formas tegumentares são causadas pelas espécies: *Leishmania (Viannia) braziliensis*, *Leishmania (V.) guyanensis*, *Leishmania (L.) amazonensis* e as espécies *L. (V.) lainsoni*, *L. (V.) naiffi*, *L.(V.) lindenberg* e *shawi*, foram identificadas posteriormente em estados das regiões Norte e Nordeste (MARZOCHI, 1992; YOUNG; DUNCAN, 1994).

Em relação aos métodos de diagnóstico utilizados atualmente para as Leishmanioses, uma das grandes dificuldades enfrentadas pelos pesquisadores tem sido a escolha da preparação antigênica ideal para análise sorológica, tanto no que se refere ao estudo dos mecanismos moduladores e/ou indutores de doença, bem como para o diagnóstico, prognóstico e monitoração da infecção (ROCHA et al., 2002; ROCHA et al., 2006; SAKKAS et al., 2016). Devido a essas limitações, sobretudo das técnicas de Imunofluorescência Indireta e ELISA, abordagens imunológicas alternativas vêm sendo desenvolvidas. Uma delas é a citometria de fluxo, tecnologia que promove a análise quantitativa de anticorpos e que vem sendo utilizada no diagnóstico sorológico das Leishmanioses (GOMES et al., 2010; OLIVEIRA et al., 2013; TEIXEIRA-CARALHO

et al, 2015). Nesse contexto, o presente trabalho fez uma descrição da literatura das ferramentas que são utilizadas no diagnóstico e comparou experimentalmente o desempenho da citometria de fluxo, ELISA e IFI em diagnosticar pacientes com LTA antes e após tratamento.

## 2 | DIAGNÓSTICO CLÍNICO DAS LEISHMANIOSES

A LTA apresenta dificuldades no seu diagnóstico devido ao aspecto das lesões se assemelharem ao de outras doenças, como: tuberculose cutânea, hanseníase virchowiana, infecções micóticas, úlcera tropical, sífilis, neoplasmas, e até mesmo alguns tipos de carcinomas e linfomas (PISSINATE et al., 2008). Ela pode se apresentar de 4 formas: A forma cutânea localizada, que possui lesões únicas ou em pequeno número, com bordas elevadas, sendo indolor e podendo assumir formas arredondadas ou ovais (REITHINGER et al., 2007); a forma disseminada, que apresenta lesões em partes do corpo que variam de dezenas a centenas, difere da forma anérgica, a cutânea difusa (LCD), onde lesões nodulares não ulceradas são encontradas por todo o corpo (BRASIL, 2007); por fim, a forma mucocutânea ocorre como resultado do desenvolvimento secundário da forma cutânea localizada através da cura espontânea ou de um tratamento inadequado. Ela é caracterizada pela destruição da cavidade oronasal, da faringe e laringe, podendo também atingir as conjuntivas oculares e as mucosas dos órgãos genitais e ânus, resultando de uma reação imunológica exacerbada. (BRASIL, 2007).

As lesões cutâneas da LTA podem se apresentar morfológicamente como: impetigóide, liquenóide, tuberculosa/lupóide, nodular, vegetante e ectimatóide, o que dificulta ainda mais o diagnóstico clínico. Nas lesões mucocutâneas, podem ser observadas úlceras infiltrantes ou úlceras vegetantes (ANDRADE, 2005). Devido a essa grande diversidade de manifestações clínicas, o diagnóstico da LTA deve ser realizado através da associação de aspectos clínicos, epidemiológicos e laboratoriais (GONTIJO; CARVALHO, 2003). O diagnóstico clínico pode ser feito com base na característica da lesão associada à anamnese, bem como através da avaliação dos dados epidemiológicos. Este diagnóstico pode ser complementado pela Intradermoreação de Montenegro (IDRM) positiva e eventualmente pela resposta terapêutica. Todavia, os métodos laboratoriais são fundamentais para o diagnóstico diferencial de outras doenças (BRASIL, 2007).

O diagnóstico da LV é complexo pois a maioria de suas características clínicas é compartilhada com outras doenças febris hepatoesplênicas que podem ser endêmicas na região. A apresentação clínica da LV envolve tipicamente febre a longo prazo, perda de peso, aumento do baço e fígado, pancitopenia e hipergamaglobulinemia policlonal (IgG e IgM). Além disso, a perda de leucócitos eventualmente torna os pacientes de LV imunossuprimidos e as infecções bacterianas são uma causa comum de morte

(KUMAR et al., 2012). A hipoalbuminemia observada na LV pode estar associada ao edema e a outras características de desnutrição. A função hepática pode ser normal ou alterada e em fases posteriores da doença, a produção de protrombina diminui. Com o tempo, a LV não tratada pode causar caquexia grave e hemorragia devido a trombocitopenia (WHO, 2010; BRASIL, 2014).

### 3 | DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DAS LEISHMANIOSES

#### 3.1 . Diagnóstico parasitológico

Para a LTA, a pesquisa direta do parasito pode ser realizada em material obtido da lesão por escarificação, aspiração ou biópsia da borda da lesão. Essa técnica tem sensibilidade que varia entre 50 e 70% e depende do número de parasitos presentes na lâmina (GOTO; LINDOSO, 2010). No caso de LTA, a positividade do teste é inversamente proporcional ao tempo de evolução da lesão cutânea, sendo rara após um ano.

Na LV, a sensibilidade varia de acordo com o local onde é realizada a coleta, sendo de 53% a 86% na medula óssea. Em locais como o baço, a sensibilidade é maior, variando entre 93% a 99% (WHO, 2010; GRIENSVEN; DIRO, 2012). Por serem procedimentos invasivos que podem causar complicações sérias, exigindo ambiente apropriado e profissionais treinados para a coleta e identificação do parasita, esse método torna-se de difícil implementação na rotina diagnóstica (FABER et al., 2003; MARQUES et al., 2006).

A visualização em microscópio óptico da forma amastigota de *Leishmania* é possível após coloração pelo método de *Giemsa* ou *Leishman* (GENARO; NEVES, 1998). O isolamento do parasita pode ser feito através da cultura em meios apropriados, a partir de material obtido por punção aspirativa ou biópsia das lesões dos pacientes. A sensibilidade do isolamento em cultura é geralmente baixa, em torno de 20 a 40%. Essa baixa sensibilidade está relacionada, em muitos casos, à escassez do parasita nas lesões, principalmente quando se trata da *L. (V.) braziliensis* (REITHINGER et al., 2007).

Para cultivo *in vivo* em animais susceptíveis, utiliza-se principalmente o hamster (*Mesocricetus auratus*). Devido ao longo período de acompanhamento até o desenvolvimento da doença e aos elevados custos para manutenção dos animais, o método se restringe às instituições de pesquisa científica (BENSOUSSAN, 2006; BRASIL, 2017).

#### 3.2 . Diagnóstico molecular

A reação em cadeia de polimerase (*Polymerase Chain Reaction* – PCR) é uma

técnica que permite a amplificação de segmentos específicos de DNA a partir de oligonucleotídeos iniciadores (*primers*), pareados especificamente nas margens da região alvo, permitindo o seu uso como instrumento específico para o diagnóstico de diversas doenças infecciosas (RODRIGUES et al., 2002). Diferentes sequências-alvo são utilizadas, como o espaçador transcrito interno ribossomal (ITS) (SCHÖNIAN et al., 2003), gene mini-exon (HARRIS et al., 1998), sequências repetitivas de DNA nuclear, gene da glucose-6-fosfato desidrogenase (CASTILHO et al., 2003), gene gp63 (MAURICIO et al., 2001), gene Hsp70 (FRAGA et al., 2010), gene do citocromo b (KATO et al., 2005) e sequências de RNA (DEBORGGRAEVE et al., 2008).

O ensaio de PCR baseado na amplificação do kDNA é provavelmente o mais sensível, pois este alvo está presente em cerca de 10.000 a 20.000 cópias por parasita com sequências de 500 a 2.500pb (NUZUM et al., 1995). O diagnóstico baseado em PCR tem como vantagens a rapidez na execução, a isenção de interpretação subjetiva e a capacidade de monitoramento terapêutico (NUNO MARQUES et al., 2007; ASSIS et al., 2008). Além disso, o uso da PCR em tempo real (qPCR) permite a quantificação da carga parasitária num tempo de ensaio reduzido e o acompanhamento pós terapêutico de pacientes para o diagnóstico das recidivas (WHO, 2010; REITHINGER; DUJARDIN, 2007).

Embora a seja uma técnica altamente sensível e específica, há a necessidade de normalização e validação de ensaios de PCR e de diagnóstico para as comparações da sensibilidade e especificidade das diferentes abordagens sob condições de rotina (GRIENSVEN; DIRO, 2012). A PCR também é um teste sofisticado para uso na rotina laboratorial, pois necessita de exigências técnicas e custo elevado, limitando-se a laboratórios de referência e/ou clínica médica. Além disso, seu desempenho depende de algumas variáveis envolvidas como área endêmica, tipo de amostra, alvo utilizado para amplificação, método de extração do DNA, entre outros (RUITER et al., 2014).

### 3.3. Diagnóstico imunológico

O diagnóstico imunológico baseia-se na avaliação da resposta imune celular utilizando a técnica de Intradermoreação de Montenegro (IDRM) para LTA e/ou na avaliação da resposta imune humoral utilizando as técnicas de imunofluorescência indireta (IFI), Ensaio Imunoenzimático (*Enzyme-linked Immunosorbent Assay*-ELISA), teste de aglutinação direta (DAT) e na detecção de antígenos circulantes (KATEX).

#### 3.2.1 .1. Detecção de antígenos

A detecção de antígeno em urina por meio da aglutinação em látex (KAtex) é considerada um método promissor no diagnóstico da LV. Esse antígeno é um carboidrato termoestável de baixo peso molecular (5–20 kD) que foi detectado em pacientes com LV (SARKARI et al., 2002). Esse antígeno pode ser detectado de 1 a 6 meses após o tratamento. Em um estudo realizado na Índia, o teste mostrou uma especificidade que varia de 79,1 a 94,1% e sensibilidade de

60,4 a 71,6% (BOELAERT et al., 2008). Apesar de ser uma técnica promissora, uma das limitações é que não é uma técnica quantitativa e há a necessidade de ajustes para a melhoria da sensibilidade e reprodutibilidade (BOELAERT et al, 2014).

### 3.3.2 Intradermorreação de Montenegro (IDRM)

O principal teste imunológico utilizado para a LTA é a reação de Montenegro que revela a infecção por *Leishmania* mediante a resposta imune celular. O teste consiste na inoculação intradérmica de 0,1 ml do antígeno (*Leishmania*) na face anterior do antebraço. A leitura é realizada após 48 ou 72 horas e a enduração igual ou superior a 5 mm é considerada positiva. Habitualmente, a positividade é detectada após 4 meses do aparecimento das lesões (BRASIL, 2017).

O teste permanece positivo após a cura clínica por se tratar de uma resposta imune duradoura. Além disso, o teste cutâneo pode mostrar resultados falso-positivos entre indivíduos de áreas endêmicas devido à ocorrência de infecções subclínicas, infecções prévias e reação cruzada com outras doenças (ex: doença de Chagas, esporotricose, hanseníase virchowiana, tuberculose, cromomicose, entre outras). Este teste pode ser útil para o diagnóstico de viajantes que vivem em áreas não endêmicas (MASMOUDI et al., 2013). O teste de Montenegro não deve ser utilizado para fins de diagnóstico para LV, pois a doença ativa é caracterizada pela imunossupressão da resposta imune celular; portanto, o resultado é negativo (BRASIL, 2017).

#### 3.3.3 Imunofluorescência indireta (IFI)

A reação de Imunofluorescência Indireta (IFI) tem sido amplamente usada no diagnóstico das Leishmanioses e, atualmente, é disponibilizada pelo Sistema Único de Saúde no Brasil (SUS) (BRASIL, 2017; ASSIS et al., 2012). Porém, podem ser observadas, frequentemente, reações cruzadas com outros organismos da família Trypanosomatidae, gerando resultados falso-positivos (VEXENAT; SANTANA; TEIXEIRA, 1996; BRITO et al., 2009). Há também relatos de reatividade cruzada com soro de pacientes portadores de hanseníase e tuberculose (KAR, 1995). Além disso, ocorre grande variabilidade nos resultados de técnicas sorológicas que dependem da natureza do antígeno, principalmente pela forma como foram produzidos e purificados (TAVARES; FERNANDES; MELO, 2003). A IFI é um procedimento laborioso, apresenta baixa especificidade e exige profissionais bem treinados para sua execução (SUNDAR; RAI, 2002; BRASIL, 2006). A sensibilidade e especificidade são de 88-92% e 81-92%, respectivamente para LV (BRASIL, 2014). A sensibilidade para pacientes com LCD costuma ser negativa, para LC é de 71% e para LM é de 100%. Como consequência dessa variação em relação a sensibilidade e também por causa da sua baixa especificidade, a IFI está sendo menos explorada na rotina do diagnóstico da LTA (DE VRIES; REEDIJK; SCHALLIG, 2015).

### 3.3.4 Ensaio Imunoenzimático (Enzyme-linked Immunosorbent Assay- ELISA)

A técnica de ELISA consiste em uma metodologia de realização simples, bastante utilizada nas investigações científicas, devido sua alta sensibilidade; porém, sua especificidade depende do antígeno utilizado. O antígeno bruto solúvel apresenta sensibilidade de 80 a 100% (PEDRAS et al., 2008; WHO, 2010). Resultados promissores para o diagnóstico de LTA e LV têm sido obtidos com o uso de antígenos recombinantes como k39, histonas (H2A, H2B, H3 e H4) e proteínas de choque térmico (famílias 60, 70 e 83) (OLIVEIRA et al., 2011; SAKKAS et al., 2016).

### 3.3.5 Teste de Aglutinação Direta (DAT)

O Teste de Aglutinação Direta (DAT) é um dos testes mais simples e de baixo custo já desenvolvidos para o diagnóstico da LV. Neste teste, as formas promastigotas são tripsinizadas, fixadas com formalina e coradas com azul brilhante. O soro do paciente após diluições seriadas é incubado com o antígeno e a aglutinação é observada no dia seguinte (SUNDAR; RAI, 2002). Um estudo de meta-análise avaliando o desempenho do DAT em pacientes com LV apresentou estimativas de sensibilidade e especificidade de 94,8% (ROMERO; BOELAERT, 2010).

Ainda assim, o teste apresenta problemas no controle de qualidade do antígeno, além da necessidade de refrigeração, falta de padronização da leitura e dificuldade de obtenção do antígeno comercial (GONTIJO; MELO, 2004; SUNDAR; RAI, 2002; ABASS et al, 2015).

### 3.3.6 Teste rápido imunocromatográfico rK39

A proteína recombinante rK39 é derivada de uma proteína semelhante à cinesina de parasitas pertencentes ao complexo *Leishmania donovani*, e tem sido usada durante as últimas duas décadas para o diagnóstico sorológico da LV. No caso da técnica de Imunocromatografia, o teste rápido, o antígeno rK39 é fixado em papel de nitrocelulose. Utiliza-se uma gota de soro ou de sangue e em cerca de 15 minutos é possível fazer a leitura do teste, portanto, é considerado uma ferramenta simples e aplicável em trabalhos de campo (PASSOS et al., 2005). O desempenho do teste foi avaliado em um estudo prospectivo no Brasil, apresentando cerca de 93% de sensibilidade e entre 89<sup>a</sup> 97% de especificidade (ASSIS et al., 2012). Assim como outros testes sorológicos convencionais para LV, os pacientes podem ter anticorpos presentes por meses após a cura da doença e, também, podem ser detectados anticorpos no soro de pacientes assintomáticos (SRIVASTAVA et al., 2011). Resultados falso-negativos foram relatados e podem variar de acordo com a região geográfica (SUNDAR, RAI, 2002).

## 4 | O USO DA CITOMETRIA DE FLUXO COMO UMA FERRAMENTA SOROLÓGICA ALTERNATIVA AO DIAGNÓSTICO DAS LEISHMANIOSES

A citometria de fluxo (CF) é uma tecnologia que permite análise simultânea e multiparamétrica de células ou partículas em suspensão, avaliando-as individualmente. À medida que o fluxo passa por um ou mais feixes de luz (gerados por um ou mais lasers), o sistema óptico-eletrônico registra a forma como as estruturas dispersam a luz do laser incidente e captando as fluorescências emitidas. Assim, o equipamento obtém informações de diversos parâmetros, como tamanho relativo, complexidade interna e intensidades de fluorescência de cada célula ou partícula avaliada (SHAPIRO, 2003; DU et al., 2015).

Em vista disso, a CF surge como uma tecnologia extremamente versátil, associando funcionalidade e precisão. Desde os anos 80, a CF estendeu-se progressivamente da pesquisa básica aos laboratórios de diagnóstico clínico devido ao desenvolvimento da tecnologia de hibridoma e produção de anticorpos monoclonais, juntamente com a produção de uma ampla variedade de fluorocromos. Assim, ela permitiu a realização de diversas investigações laboratoriais que incluem biologia molecular, patologia e imunologia, com ampla aplicação na medicina, especialmente em transplantes, hematologia, avaliações do sistema imune, imunologia do tumor e quimioterapia (PILLAI; DORFMAN 2016; COZZOLINO et al., 2016). Essa ferramenta revolucionou o diagnóstico, uma vez que proporciona uma avaliação precisa de múltiplos processos biológicos. Em virtude da expansão do uso da CF, em 2006 foi criado um consórcio internacional, visando padronizar procedimentos e protocolos diagnósticos para leucemias e linfomas (KALINA et al., 2012). Além da investigação de doenças hematológicas com características de malignidade, bem como no desenvolvimento de fármacos, essa tecnologia é usada também na rotina dos Laboratórios Centrais (LACENs) de referência nacional, onde o acompanhamento de indivíduos com HIV/AIDS merecem destaque (MOLINARO et al., 2009; DU et al. 2015).

Atualmente, já existem trabalhos utilizando a citometria de fluxo como um método alternativo e auxiliar para o diagnóstico das Leishmanioses, possuindo vantagens sobre os métodos convencionais utilizados (OLIVEIRA et al., 2013; DE PAIVA-CAVALCANTI et al., 2015; TEIXEIRA-CARVALHO et al., 2015). A CF permite a análise quantitativa dos anticorpos anti-*Leishmania* e o procedimento de marcação é simples, através da utilização de anticorpos conjugados diretamente a fluorocromos (OLIVEIRA et al., 2013; PEDRAL-SAMPAIO et al., 2016). As formas promastigotas são identificadas no citometro de fluxo com base em suas propriedades de espalhamento de luz frontal (FSC) e lateral (SSC) específicas. Em uma metodologia desenvolvida originalmente por Martins-Filho et al., (1995) para a Doença de Chagas e aplicada por Rocha et al (2002) para a LTA, os dados são expressos sob a forma de percentual de parasitas fluorescentes positivos (PPFP).

O uso da citometria de fluxo também demonstra ser promissor no diagnóstico

sorológico da Leishmaniose Visceral Canina (LVC) por apresentar elevada especificidade e sensibilidade, redução dos resultados falso-positivos em cães vacinados e menor reatividade cruzada contra outros patógenos caninos, além da distinção em cães assintomáticos e sintomáticos (ANDRADE et al., 2007; KER et al., 2013). Para a LV, CARVALHO NETA et al., (2006) estabeleceu a utilização da citometria de fluxo no diagnóstico pela detecção de anticorpos anti-promastigotas fixadas de *L. (L.) infantum*, garantindo uma alta sensibilidade (99%) e especificidade (100%). Posteriormente, outros estudos aprimoraram a técnica utilizando a ferramenta como um critério de cura pós-terapêutico (LEMOS et al., 2007; GOMES et al., 2010). Também foi demonstrado que a quantificação das subclasses de IgG por ELISA ou citometria de fluxo levou a um aumento na acurácia dos testes para o diagnóstico da LTA. A quantificação de IgG1 e IgG3 parece ser uma boa metodologia para o acompanhamento de pacientes de LTA e LV tratados (SOUZA et al., 2005; GOMES et al. 2010; TEIXEIRA-CARVALHO et al., 2015).

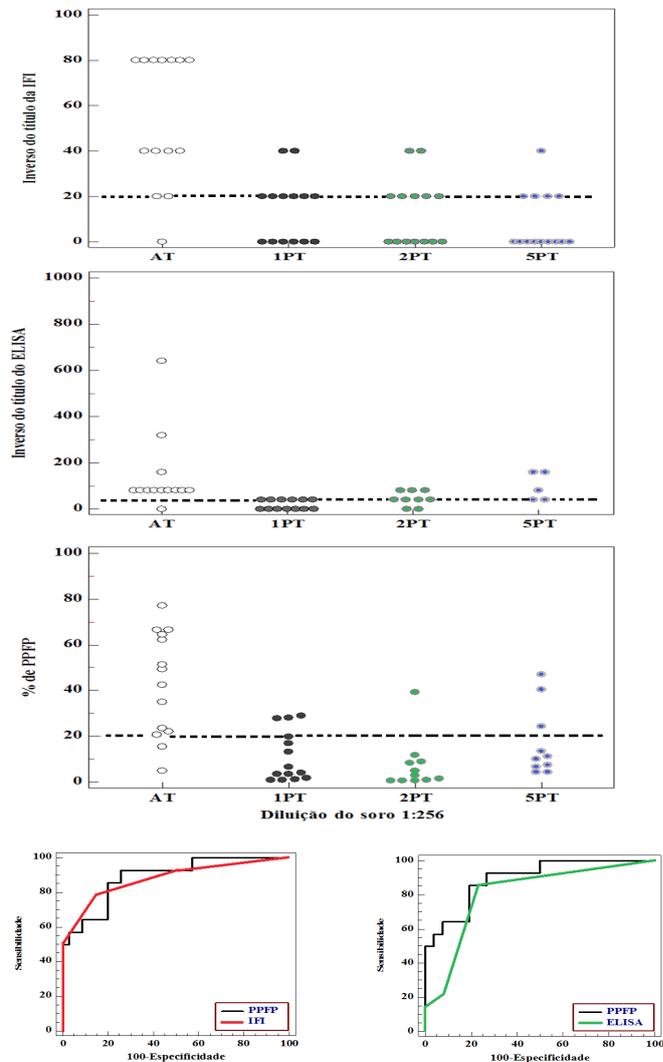
Além disso, quando comparada a outras técnicas, a CF permite a reatividade de anticorpos dirigidos contra antígenos de membrana do parasito, evitando reações com estruturas intracitoplasmáticas que são alvos frequentes de reação cruzada com outros tripanossomatídeos (ROCHA et al., 2006; PEREIRA et al., 2012).

Nas abordagens laboratoriais, a utilização dos parasitas vivos apresenta limitações importantes como alto risco de contaminação na rotina laboratorial e a grande dificuldade no cultivo dos parasitas *in vitro*. Sendo assim, foi demonstrado na CF que a utilização de parasitas fixados garante elevada sensibilidade e especificidade no diagnóstico da LTA (PISSINATE et al., 2008; PEREIRA et al., 2012; OLIVEIRA et al., 2013).

O conhecimento adquirido com o desenvolvimento de ferramentas sorológicas baseadas em citometria de fluxo para os tripanossomatídeos permitiu o desenvolvimento de um TRIPLEX que possibilita a detecção diferencial de Leishmaniose Visceral, Leishmaniose Cutânea localizada e doença de Chagas e é baseado em um algoritmo para análise da reatividade de IgG1 anti-Trypanosomatidae. Essas doenças frequentemente apresentam reatividade cruzada nos testes sorológicos convencionais (TEIXEIRA-CARVALHO, 2015).

Em um ensaio preliminar comparamos os desempenhos da CF, ELISA e IFI em diagnosticar 14 pacientes com LTA antes, 1, 2 e 5 anos após o tratamento com Glucantime®. Para isso, o soro dos pacientes foi inativado e formas promastigotas foram obtidas para realizar os ensaios. Para o ensaio de IFI, os pacientes, que apresentaram títulos a partir da diluição 1:20, foram considerados positivos. Dos soros avaliados, 92,85% (13/14) foram positivos antes do tratamento (AT). Um ano após o tratamento (PT), 61,54% (8/13); dois anos PT, 70% (7/10) e cinco anos PT, 50% (5/10) (Figura 1A). Para o teste de ELISA, os pacientes que apresentaram títulos de soro a partir de 1:40 foram considerados positivos. Dos soros avaliados, 92,8% (13/14) dos pacientes AT foram positivos; pacientes um ano PT, 53,8% (7/13); pacientes dois anos

PT 88,8% (8/9) e pacientes cinco anos PT, 100% (5/5) (Figura 1B). Na CF, foi possível identificar 86% (12/14) de pacientes AT positivos; e 77% (10/13), 80% (8/10) e 70% (7/10) dos indivíduos, respectivamente, um, dois e cinco anos PT, negativos (Figura 1C). Comparando os desempenhos de IFI e CF através da curva ROC, observou-se que área sobre a curva (ASC) da IFI foi 0,879, tendo um desempenho menor que a citometria de fluxo (ASC=0,890), (Figura 1D). Já comparando os resultados de ELISA e CF, a ASC do ELISA, foi de 0,808, diferindo da CF (ASC=0,896), também mostrando um menor desempenho. (Figura 1D).



Diante dos resultados preliminares acredita-se que a citometria de fluxo se aplica ao diagnóstico da LTA, apresentando uma sensibilidade e especificidade superior quando comparada as técnicas de IFI e ELISA.

## 5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

Tendo em vista as dificuldades inerentes das técnicas sorológicas utilizadas na rotina laboratorial para o diagnóstico das Leishmanioses, a utilização da citometria de fluxo na avaliação diagnóstica e pós-terapêutica surge da necessidade de pesquisas que possam dar suporte no diagnóstico, interpretação dos resultados e também auxiliar

na elaboração de um novo esquema terapêutico aplicável a esta situação, visto que decisão da interrupção do tratamento ainda depende de um critério essencialmente clínico. Caso validada essa técnica para o diagnóstico das Leishmanioses, existe a possibilidade de terceirizar os serviços pelo Sistema Único de Saúde (SUS) como já ocorre para o diagnóstico de vários tipos de câncer. Porém, para isso, é necessária qualificação de recursos humanos e investimento de capital para aquisição do equipamento e reagentes para os laboratórios que realizariam o serviço.

## REFERÊNCIAS

ABASS, E. et al. Heterogeneity of *Leishmania donovani* Parasites Complicates Diagnosis of Visceral Leishmaniasis: Comparison of Different Serological Tests in Three Endemic Regions. **Plos One**, v. 10, p. e0116408, 2015.

ALVAR, J. et al. Leishmaniasis worldwide and global estimates of its incidence. **PLoS ONE**, São Francisco, v. 7, p. 1-12, 2012

AMEEN, M. Cutaneous leishmaniasis: advances in disease pathogenesis, diagnostics and therapeutics. **Clinical and experimental dermatology**, v. 35, n. 7, p. 699-705, 2010.

ANDRADE, M. S. B., et al. Leishmaniose tegumentar americana causada por *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, em área de treinamento militar na Zona da Mata de Pernambuco. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 38, n. 3, p. 229-233, 2005.

ANDRADE, R. A. DE et al. Clinical value of anti-*Leishmania* (*Leishmania*) *chagasi* IgG titers detected by flow cytometry to distinguish infected from vaccinated dogs. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, v. 116, n. 1-2, p. 85–97, 2007.

ASSIS, T.S. et al. Validation of the rapid immunochromatographic test it-leish, for the diagnosis of human visceral leishmaniasis. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, Brasília, v. 17, n 2, p. 107-116, 2008.

ASSIS, T.S.M, et al. Latent class analysis of diagnostic tests for visceral leishmaniasis in Brazil. **Tropical Medicine and International Health**, Oxford, v.17(10), p. 1202–1207, 2012.

BOELAERT, M. et al. Diagnostic tests for kala-azar: a multi-centre study of the freeze-dried DAT, rK39 strip test and KAtex in East Africa and the Indian subcontinent. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 102, n. 1, p. 32–40, jan. 2008.

BOELAERT, M. et al. Rapid tests for the diagnosis of visceral leishmaniasis in patients with suspected disease. **The Cochrane database of systematic reviews**, v. 6, n. 6, p. CD009135, 2014.

BRASIL. **Manual de vigilância da Leishmaniose Tegumentar Americana 2.ed.** 2007.

BRASIL. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral.** Brasília, DF, p. 11, 2014.

BRASIL, M. DA SAÚDE. **Manual De Vigilância Da Leishmaniose Tegumentar.** Departamento de Vigilância das Doenças Transmissíveis. – Brasília : Ministério da Saúde, . 189, p.il, 2017

BRITO, M. E. F. et al. Species diversity of *Leishmania* (*Viannia*) parasites circulating in an endemic

area for cutaneous leishmaniasis located in the Atlantic rainforest region of northeastern Brazil. **Tropical Medicine & International Health**, v. 14, n. 10, p. 1278-1286, 2009.

CARVALHO NETA, A.V. et al. Citometria de fluxo no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. **Arquivos Brasileiros de Medicina Veterinária e zootecologia**, v. 58, n. 4, p. 480-488, 2006.

CASTILHO, T. M.; SHAW, J. J.; FLOETER-WINTER, L. M. New PCR assay using glucose-6-phosphate dehydrogenase for identification of Leishmania species. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v 41, p.540–546, 2003.

COZZOLINO I., et al. Lymph Node Fine-Needle Cytology of Non-Hodgkin Lymphoma: Diagnosis and Classification by Flow Cytometry. **Acta Cytologica**, v.60,p.302–314, 2016.

DE PAIVA-CAVALCANTI, M. et al. Leishmaniasis diagnosis: an update on the use of immunological and molecular tools. **Cell & bioscience**, v. 5, n. 1, p. 1, 2015.

DE VRIES, H. J. C.; REEDIJK, S. H.; SCHALLIG, H. D. F. H. Cutaneous Leishmaniasis: Recent Developments in Diagnosis and Management. **Am. J. Clin. Dermatol.**, Auckland, v. 16, n.2, p. 99–109, 2015.

DEBORGGRAEVE, S. et al. A simplified and standardized polymerase chain reaction format for the diagnosis of leishmaniasis. **The Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 198, p 1565-1572, 2008.

DU, L. et al. The evolution of guidelines for the validation of flow cytometric methods. **The Official journal of the International Society for Laboratory Hematology**,v.37, p.3-10, 2015.

FRAGA, J. et al. Phylogeny of Leishmania species based on the heat-shock protein 70 gene. **Infection, Genetics and Evolution**, Amsterdam, v. 10, p.238–245, 2010.

GENARO, O.; NEVES, D. Leishmaniose tegumentar americana. **NEVES, DP Parasitologia Humana**, v. 10, p. 36-53, 1998.

GOMES, I. T. et al. Anti-Leishmania chagasi immunoglobulin G3 detected by flow cytometry for early cure assessment in American visceral leishmaniasis. **Journal of immunological methods**, v. 360, n. 1-2, p. 76–83, 31 ago. 2010.

GONTIJO, B.; CARVALHO, M. D. L. Leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 36, n. 1, p. 71-80, 2003.

GONTIJO, C. M. F.; MELO, M. N. Leishmaniose Visceral no Brasil, quadro atual, desafios e perspectivas. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 7, p.338-49, 2004.

GOTO, H.; LINDOSO, J. A. L. Current diagnosis and treatment of cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis. **Expert review of anti-infective therapy**, v. 8, n. 4, p. 419-433, 2010.

GRIENSVEN, J & DIRO, E. Visceral leishmaniasis. **Infectious Disease Clinics of North America**, Philadelphia, v. 26, n.2, p. 309–322, 2012.

HARRIS, E. et al. Single-step multiplex PCR assay for characterization of new world Leishmania complexes. **Journal Clinical Microbiology**, Washington, v. 36, n.7, p 1989–1995, 1998.

KALINA T., et al. EuroFlow standardization of flow cytometer instrument settings and immunophenotyping protocols. **Leukemia**,v. 26,p. 1986–2010, 2012.

KAR, K. Serodiagnosis of leishmaniasis. **Critical reviews in microbiology**, v. 21, n. 2, p. 123-152,

1995.

KATO, H. et al. Detection and identification of Leishmania species within naturally infected sand flies in the Andean areas of Ecuador by a polymerase chain reaction. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, Baltimore, v 72, p. 87–93, 2005.

KER, H. G. et al. Evaluation of a prototype flow cytometry test for serodiagnosis of canine visceral leishmaniasis. **Clinical and vaccine immunology : CVI**, v. 20, n. 12, p. 1792–8, dez. 2013.

KUMAR R, NYLEN S. Immunobiology of visceral leishmaniasis. **Frontiers in immunology**. v.3, p.251, 2012.

LAINSON, R.; SHAW, J. J. The role of animals in the epidemiology of South American leishmaniasis. In: LUMSDEN, W. H. R.; EVANS, D. A. Biology of the Kinetoplastida. **London: Academic Press**, London, v. 2, p. 1-116, 1979.

LEMOS, E.M; et al. Detection of anti-Leishmania (Leishmania) chagasi immunoglobulin G by flow cytometry for cure assessment following chemotherapeutic treatment of American visceral leishmaniasis. **Clinical and Vaccine Immunology**. 14, 569. 2007.

MARQUES, M. J. et al. Comparison of polymerase chain reaction with other laboratory methods for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis: diagnosis of cutaneous leishmaniasis by polymerase chain reaction. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v. 54, p.37–43, 2006.

MARTINS-FILHO, O. A. et al. Flow cytometry, a new approach to detect anti-live trypomastigote antibodies and monitor the efficacy of specific treatment in human Chagas' disease. **Clinical and diagnostic laboratory immunology**, v. 2, n. 5, p. 569- 573, 1995.

MASMOUDI, A. et al. Old World cutaneous leishmaniasis: Diagnosis and treatment. **Journal of Dermatological Case Reports**, v. 7, n. 2, p. 31–41, 2013.

MAURICIO, I.L. et al. Genetic typing and phylogeny of the Leishmania donovani complex by restriction analysis of PCR amplified gp63 intergenic regions. **Parasitology**, London, v 122, p.393–403, 2001

MOLINARO E. M. Conceitos e métodos para a formação de profissionais em laboratórios de saúde: volume 1 / Organização de Etelcia Moraes Molinaro, Luzia Fátima Gonçalves Caputo e Maria Regina Reis Amendoeira. - Rio de Janeiro: EPSJV; IOC, 2009.

NUNO MARQUES, S, et al. Leishmaniose visceral e infecção por vírus da imunodeficiência humana - Na era da terapêutica anti-retrovirídica de alta eficácia. **Acta Médica Portuguesa**, Lisboa, v. 20, p.291-298, 2007.

NUZUM, E. et al. Diagnosis of symptomatic visceral leishmaniasis by use of the polymerase chain reaction on patient blood. **Journal of Infectious Diseases**, Chicago, v. 171, p.751–754, 1995.

OLIVEIRA, A. P. et al. Comparison of flow cytometry and indirect immunofluorescence assay in the diagnosis and cure criterion after therapy of American tegumentary leishmaniasis by anti-live Leishmania (Viannia) braziliensis immunoglobulin G. **Journal of Immunological Methods**, v. 387, n. 1-2, p. 245-53, Jan 31, 2013.

OLIVEIRA GG., et al. Characterization of novel Leishmania infantum recombinant proteins encoded by genes from five families with distinct capacities for serodiagnosis of canine and human visceral leishmaniasis. **The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene**, v. 85, p.1025–1034, 2011.

PASSOS, S. et al. Recombinant Leishmania antigens for serodiagnosis of visceral leishmaniasis. **Clinical Diagnostic Laboratory and Immunology**, Washington, v.12, p.1164–1167, 2005.

PASSOS, V. et al. American cutaneous leishmaniasis: use of a skin test as a predictor of relapse after treatment. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 78, n. 8, p. 968-974, 2000.

PEDRAL-SAMPAIO G., et al. Detection of IgG Anti-*Leishmania* Antigen by Flow Cytometry as a Diagnostic Test for Cutaneous Leishmaniasis. **PLOSOne**, v.11, n.9, p. e0162793., 2016.

PEDRAS, M.J. et al. Comparative evaluation of direct agglutination test, rK39 and soluble antigen-ELISA and RIFI for the diagnosis of visceral leishmaniasis in Brazil. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v. 102, p. 172–178. 2008.

PEREIRA, V.R.A., et al. Evaluation of anti-lived and anti-fixed- *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* promastigotes IgG antibodies detected by flow cytometry for diagnosis and post-therapeutic cure assessment in localized cutaneous leishmaniasis. **Diagnostic Microbiology and Infectious Disease**, New York, v. 74, p. 292-298, 2012.

PILLAI V ; DORFMAN D. M. Flow Cytometry of Nonhematopoietic Neoplasms. **Acta Cytologica**, v. 60, p.36–343, 2016.

PISSINATE, J. F. et al. Upgrading the flow-cytometric analysis of anti-*Leishmania* immunoglobulins for the diagnosis of American tegumentary leishmaniasis. **Journal of immunological methods**, v. 336, n. 2, p. 193-202, 2008.

REITHINGER R, DUJARDIN JC. Molecular diagnosis of leishmaniasis: current status and future applications. **Journal of Clinical Microbiology**, Washington, v. 45, n.1, p.21–25. 2007.

REITHINGER, R. et al. Cutaneous leishmaniasis. **The Lancet infectious diseases**, v. 7, n. 9, p. 581-596, 2007.

ROCHA, R. D. R. et al. Anticorpos antipromastigotas vivas de *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis*, detectados pela citometria de fluxo, para identificação da infecção ativa na leishmaniose tegumentar americana. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 35, n. 6, p. 551-562, 2002.

ROCHA, R. et al. Clinical value of anti-live *Leishmania* (*Viannia*) *braziliensis* immunoglobulin G subclasses, detected by flow cytometry, for diagnosing active localized cutaneous leishmaniasis. **Tropical Medicine & International Health**, v. 11, n. 2, p. 156-166, 2006.

RODRIGUES, E. H. G. et al. Evaluation of PCR for diagnosis of American cutaneous leishmaniasis in an area of endemicity in northeastern Brazil. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 40, n. 10, p. 3572-3576, 2002.

ROMERO GA, BOELAERT M. Control of visceral leishmaniasis in Latin America- a systematic review. **PLoS Neglected Tropical Diseases**, San Francisco, v. 4, p 584, 2010.

RUITER, C. M. et al. Molecular tools for diagnosis of visceral leishmaniasis: systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy. **Journal of clinical microbiology**, v. 52, n. 9, p.3147-3155., 2014.

SAKKAS, H.; GARTZONIKA, C.; LEVIDIOTOU, S. Laboratory diagnosis of human Visceral. **Journal of Vector Borne Disease**, Delhi, n. 53, p. 8–16, 2016.

SARKARI, B; CHANCE, M; HOMMEL M. Antigenuria in visceral leishmaniasis: detection and partial characterisation of a carbohydrate antigen. **Acta Tropica**, Basel, v. 82, p 339–48, 2002.

SCHÖNIAN, G. et al. PCR diagnosis and characterization of *Leishmania* in local and imported clinical samples. **Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease**, New York, v 47, p.349–358, 2003.

SHAPIRO, H.M.. Practical Flow Cytometry, 4ed. New York, 2003.

SOUZA, M. A. D. et al. Perfil de isotipos de imunoglobulinas e subclasses de IgG na leishmaniose tegumentar americana. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, v. 38, n. 2, p. 137-41, 2005.

SRIVASTAVA, P. et al. Diagnosis of visceral leishmaniasis. **Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene**, London, v.105, p.1-6. 2011.

TAVARES, C. A. P.; FERNANDES, A. P.; MELO, M. N. Molecular diagnosis of leishmaniasis. **Expert review of molecular diagnostics**, v. 3, n. 5, p. 657-667, 2003.

TEIXEIRA-CARVALHO, A. et al. FC-TRIPLEX Chagas/Leish IgG1: a multiplexed flow cytometry method for differential serological diagnosis of chagas disease and leishmaniasis. **PloS one**, v. 10, n. 4, p. e0122938, 2015.

VEXENAT, A. D. C.; SANTANA, J. M.; TEIXEIRA, A. R. Cross-reactivity of antibodies in human infections by the kinetoplastid protozoa *Trypanosoma cruzi*, *Leishmania chagasi* and *Leishmania (Viannia) braziliensis*. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 38, n. 3, p. 177-185, 1996.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Control of the leishmaniasis. **World Health Organ Tech [S.I.] Rep Ser**, Geneva, v. 949, p. 186, 2010.

YOUNG, D., DUNCAN, M. Guide to the identification and geographic distribution of *Lutzomyia* sand flies in México, the West Indies, Central and South America (Diptera: Psychodidae). **Memories of American Entomological Institute [S.I.]**, n. 54, p. 1-88, 1994.

## **SOBRE A ORGANIZADORA**

**Yvanna Carla de Souza Salgado** Possui graduação em Farmácia pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2004), Habilitação em Análises Clínicas (2005), Especialização em Farmacologia (UNOPAR/IBRAS - 2011), Mestrado em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa (2013) e Doutorado em Biologia Celular e Molecular pela Universidade Federal do Paraná (2017). Possui experiência técnica como farmacêutica e bioquímica e atualmente trabalha com os temas: farmacologia, biologia celular e molecular e toxicologia.

Agência Brasileira do ISBN  
ISBN 978-85-85107-86-4



9 788585 107864