

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

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

CAPÍTULO 1	1
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>	
CAPÍTULO 2	7
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>	
CAPÍTULO 3	15
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>	
CAPÍTULO 4	25
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>	
CAPÍTULO 5	35
INCIDÊNCIA DE DOENÇAS PARASITÁRIAS DE NOTIFICAÇÃO COMPULSÓRIA EM ALAGOAS: TRIPANOSSOMÍASE AMERICANA	
<i>Rafael dos Santos Nascimento</i>	
<i>Amanda Cavalcante de Macêdo</i>	
CAPÍTULO 6	41
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

CAPÍTULO 18	161
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>	
CAPÍTULO 19	174
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>	
CAPÍTULO 20	187
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>	
CAPÍTULO 21	204
HEMODIALISADOS E INFECÇÃO POR ENTEROPARASITÓSES	
<i>Bianca Teshima de Alencar</i>	
<i>Noely Machado Vieira</i>	
<i>Antonio Francisco Malheiros</i>	
CAPÍTULO 22	211
ALTERAÇÕES LABORATORIAIS NA FASCIOLÍASE	
<i>Yuho Matsumoto</i>	
<i>Valeria Paes Lima Fernandes</i>	
<i>Walcymer Pereira Santiago</i>	
<i>Shiguero Ofugi</i>	
<i>Cleudson Nery de Castro</i>	
CAPÍTULO 23	213
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>	
CAPÍTULO 24	236
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>	
CAPÍTULO 25	249
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

UTILIZAÇÃO DO SWAB NO SERVIÇO DE REFERÊNCIA EM LEISHMANIOSES DO INSTITUTO AGGEU MAGALHÃES, PARA O DIAGNÓSTICO DA LEISHMANIOSE TEGUMENTAR AMERICANA

Angélica Olivino da Silva

Mestre em Ciências pelo Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Departamento de Imunologia, Recife - PE.

Maria Edileuza Felinto de Brito

Pesquisadora do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Departamento de Imunologia, Recife - PE.

Sinval Pinto Brandão-Filho

Pesquisador do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Departamento de Imunologia, Recife - PE.

Roberto Pereira Werkhäuser

Pesquisador do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ, Departamento de Imunologia, Recife - PE.

Eduardo Henrique Gomes Rodrigues

Faculdades Integradas da Vitória de Santo Antão, Departamento de Farmácia, Vitória - PE.

RESUMO: A leishmaniose tegumentar americana (LTA) é uma dermatoparasitose causada por diferentes espécies de protozoários do gênero *Leishmania*. Nos últimos anos a reação em cadeia da polimerase (PCR), com sua elevada sensibilidade, se tornou uma técnica útil para estudos clínicos em leishmanioses e o seu diagnóstico. Diante da presença de DNA de parasitos em exsudatos tegumentares, estudos vêm propondo a utilização do método não invasivo de coleta com *swab*. Os pacientes

selecionados foram atendidos no setor de dermatologia do Hospital Oswaldo Cruz/ UPE, no período de 2010 a 2014 e submetidos à coleta de escarificação da lesão, biópsia e exsudatos cutâneos coletados a partir de *swab*. O DNA das amostras de biópsia e *swab* foram extraídos e purificados para realização da PCR e o resultado foi evidenciado em gel de agarose através da eletroforese. Em 201 amostras de *swab* obtivemos positividade em 95 (47,2%) e em 182 amostras de biópsia, 90 (49,4%) de positividade. Comparando as técnicas de pesquisa direta (escarificação da lesão) e PCR (por *swab*) foi observada uma concordância de resultados em 122 (76,8%). Comparando os resultados entre os substratos *swab* e biópsia, houve convergência em 148 amostras e discordância em 34 delas. A utilização do método de coleta a partir de *swab* no Serviço de Referência em Leishmanioses do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ - PE é pertinente ao desenvolvimento deste modelo prático e inovador de coleta de *Leishmania* spp. sendo um instrumento auxiliar na coleta de amostras para o diagnóstico de LTA durante a rotina laboratorial.

PALAVRAS-CHAVE: Leishmaniose tegumentar americana, diagnóstico, *swab*.

ABSTRACT: American cutaneous leishmaniasis (ACL) is a dermatoparasitosis caused by

different species of protozoa of the genus *Leishmania*. In recent years polymerase chain reaction (PCR), with its high sensitivity, has become a useful technique for clinical studies in leishmaniasis and its diagnosis. In view of the presence of parasite DNA in tegumentary exudates, studies have proposed the use of a non-invasive *swab* collection method. The selected patients were treated in the dermatology sector of the Hospital Oswaldo Cruz / UPE, from 2010 to 2014 and submitted to the collection of lesion scarification, biopsy and cutaneous exudates collected from *swabs*. The DNA from the biopsy and *swab* samples were extracted and purified for PCR and the result was evidenced on agarose gel through electrophoresis. In 201 *swab* samples we obtained positivity in 95 (47.2%) and in 182 biopsy samples, 90 (49.4%) of positivity. Comparing the techniques of direct investigation (lesion scarification) and PCR (by *swab*) a concordance of results was observed in 122 (76.8%). Comparing the results between the *swab* and biopsy substrates, there were convergence in 148 samples and disagreement in 34 of them. The use of the collection method from the *swab* Service Leishmaniasis of Aggeu Magalhães Institute FIOCRUZ PE is pertinent to the development of this innovative model collection *Leishmania* spp. being an instrument assist in the collection of samples for the diagnosis of ACL during routine laboratory.

KEYWORDS: American cutaneous leishmaniasis, diagnosis, *swab*.

1 | INTRODUÇÃO

A Leishmaniose Tegumentar Americana (LTA) é uma doença infecto-parasitária causada por várias espécies de protozoários do gênero *Leishmania*.

O respectivo gênero compreende protozoários parasitos, com um ciclo de vida digenético, vivendo alternadamente em hospedeiros vertebrados e insetos vetores (flebotomíneos), estes últimos sendo responsáveis pela transmissão desses agentes etiológicos de um mamífero a outro (REY, 2001).

No Continente Americano há registro de casos desde o extremo sul dos Estados Unidos até o norte da Argentina, com exceção do Chile e Uruguai (BRASIL, 2012). Do total, 75% (38.235) estão concentrados no Brasil e nos países da sub-região Andina. Sendo uma doença tropical e subtropical, é considerada como negligenciada e de grande importância para a saúde pública (WHO, 2016). No nordeste do Brasil, Pernambuco se destaca por ser o 3º estado com maior número de casos de LTA.

A LTA é uma doença não contagiosa, de evolução crônica, que acomete as estruturas da pele, causando a forma clínica clássica da doença, a forma cutânea, além de comprometer cartilagens e mucosas da nasofaringe, causando a forma multilante e mais grave da doença, conhecida como cutaneomucosa ou mucocutânea (SILVEIRA et al., 2004).

O diagnóstico da LTA é formado pelos aspectos clínico-epidemiológicos e achados laboratoriais, podendo ser difícil, dada a similaridade com outras doenças que podem acometer a pele e também a mucosa. O diagnóstico de certeza pelos

testes parasitológicos somente é dado quando se visualiza o parasito nos tecidos, caso contrário às alterações histopatológicas são no máximo sugestivas do diagnóstico o que é explicado pela escassez de parasitos nas biópsias, comum principalmente em amostras de mucosa.

Nos casos duvidosos é importante a realização de exames específicos para o isolamento e caracterização do parasito. Em Pernambuco a principal espécie circulante no estado é a *L. (V). braziliensis* (BRITO et al., 2009;2018). Para tal temos as técnicas moleculares, como: Reação em Cadeia de Polimerase (PCR), que possui altas sensibilidade e especificidade, através da análise molecular de minicírculos do kDNA (COSTA, 2009; RODRIGUES, 2002, 2013; SILVA, 2017).

Em vista dos métodos de coleta ser considerados invasivos alguns estudos vêm propondo a utilização de uma técnica não invasiva como o método de coleta com *swab* bacteriológico para o diagnóstico molecular da LTA através de PCR (BRITO et al., 2012; CALDART et al., 2011; MIMORI et al., 2002).

Assim sendo, o presente estudo visou avaliar a utilização do método de coleta por *swab* no Serviço de Referência em Leishmanioses do Instituto Aggeu Magalhães/FIOCRUZ - PE, para o diagnóstico da LTA, a fim de comprovar sua eficácia como alternativa diagnóstica.

2 | METODOLOGIA

Considerações Éticas e Seleção de Pacientes

O estudo apresenta parecer do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) que norteiam as pesquisas com seres humanos no Instituto Aggeu Magalhães IAM/FIOCRUZ, sob o número 38/2008. Cada indivíduo participante foi informado sobre a natureza do estudo, assinando o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE).

Os pacientes selecionados apresentaram diagnóstico clínico e lesão ativa, foram atendidos no Serviço de Dermatologia do Hospital Oswaldo Cruz (HUOC) da Universidade de Pernambuco – UPE, seguindo a rotina ambulatorial do Serviço de Referência em Leishmanioses (SRL) do Instituto Aggeu Magalhães. Os indivíduos foram provenientes de áreas endêmicas de Pernambuco, Zona da Mata e região Metropolitana do Recife, no período de março de 2010 a dezembro de 2014.

Os critérios utilizados para inclusão no estudo incorporaram pacientes que além de atenderem a critérios clínico-epidemiológicos, apresentavam lesões ativas. Foram excluídos pacientes diagnosticados com outra doença dérmica que não incluía a LTA.

Coleta de amostras

Para a escarificação das lesões cutâneas, estas foram previamente tratadas com assépticos e, posteriormente, foi realizada a raspagem da borda da lesão utilizando

lâmina de bisturi estéril e o material coletado posto em lâmina de microscopia. Já os exsudatos cutâneos foram coletados com *swab* obtidos sob condições estéreis em toda a área da lesão ativa, inclusive no centro e na borda. Em pacientes que apresentaram lesões ressecadas o *swab* foi embebido em soro fisiológico. Os *swabs* foram estocados individualmente em tubos de 1,5 mL e transportados para o Laboratório de Imunoparasitologia do IAM, onde permaneceram estocados a -20° C, até a utilização.

As biópsias cutâneas foram realizadas com o auxílio do *punch* de 4-5 mm de diâmetro. Após assepsia com álcool iodado e aplicação de anestesia local (lidocaína a 2% sem vaso constritor) foi realizada uma incisão e retirado um pequeno fragmento que foi armazenado em tubos de 1,5 mL e transportado para o Laboratório de Imunoparasitologia do IAM/FIOCRUZ, e estocados a -80°C.

Diagnóstico Parasitológico (Pesquisa direta)

Das amostras obtidas por escarificação foram confeccionados os esfregaços em lâmina de microscopia. Os esfregaços foram fixados com álcool metílico e corados pelo método de *Giemsa*. A Pesquisa Direta (PD) de formas amastigotas de *Leishmania* spp. foi realizada através de microscopia óptica em objetiva de 100x utilizando óleo de imersão.

Diagnóstico Molecular

O DNA genômico das amostras, de exsudatos cutâneos coletados por *swab* e biópsias, foram extraídos e purificados com o kit Qlamp® DNA Mini Kit (QIAGEN, Valencia, USA), seguindo as instruções do fabricante. As amostras devidamente purificadas foram quantificadas com o espectrofotômetro NanoDrop (Thermo Scientific®, modelo 2000c).

Uma vez purificado, o DNA genômico foi submetido à amplificação por PCR, utilizando um termociclador automático (Eppendorf®, modelo Master Cycler gradient), que permite a amplificação do kDNA do parasito pertencentes ao subgênero *Viannia*.

O mix de PCR consistiu em 23 µL de uma solução contendo Tris-HCl 10 mM, pH 8,3; MgCl₂ 1,5 mM, gelatina 0,01 %; 0,2 mM de cada dNTP; 100 pmoles de cada oligonucleotídeo iniciador (DE BRUIJN; BARKER, 1992) e 0,5 U de *Taq* DNA polimerase (DE BRUIJN; BARKER, 1992, DE BRUIJN et al, 1993). A essa mistura foram adicionados 2 µL de amostra de DNA de cada paciente. Um controle negativo (sem DNA) foi utilizado na reação juntamente com um controle positivo (1ng/µL) de DNA genômico de *L. (V.) braziliensis* da cepa de referência (IOC-L-566-MHOM/BR/75/M2903).

A PCR foi realizada em 35 ciclos (94 °C, 1 min; 65 °C, 1 min; 72 °C, 1 min) (ERESH et al, 1994), precedidos de uma desnaturação inicial de 5 minutos a 94°C. Os oligonucleotídeos iniciadores utilizados: LEIB1 (5'-GGGGTTGGTGTAAATATAGTGG-3') e LEIB2 (5'-CTAATTGTGCACGGGGAGG-3') amplificaram todo minicírculo do kDNA de *Leishmania (Viannia) spp.*, equivalente a 750 pares de base (DE BRUIJN; BARKER

1992).

Após amplificação, 10µL do produto de PCR foram analisados através de eletroforese em gel de agarose a 1% com tampão TAE (Tris-Acetato 40 mM, EDTA 1mM) corados por solução de brometo de etídio a 10µg/mL (SAMBROOK et al, 1989). As bandas de DNA separadas por eletroforese foram visualizadas em um transiluminador de luz ultravioleta e digitalizadas através de um sistema de documentação Kodak®, modelo Gel Logic 100 Imagem System.

3 | RESULTADOS

Foram coletadas e analisadas 201 amostras de *swab*, destas 182 possui amostras de biópsias e 163 amostras de escarificado de lesão, de pacientes portadores de LTA.

Análise comparativa do diagnóstico parasitológico (pesquisa direta) com o diagnóstico molecular por PCR de exsudatos cutâneos coletados com *swab*

A pesquisa direta na busca de formas amastigotas de *Leishmania* spp., foi realizada em 163 amostras do total de pacientes selecionados para o estudo, devido as características das lesões cutâneas serem eritematosas e/ou nodulares. Nestas amostras foi observada positividade em 92(56,5%) lâminas e resultado negativo em 71 (43,5%).

Na análise realizada através da PCR deste mesmo número de paciente coletados com o método de *swab*, obteve-se positividade em 73 amostras (44,7%) e resultado negativo em 90 (55,3%).

Comparando as técnicas de PD (Pesquisa Direta) e PCR foi observada uma concordância de resultados em 122 (76,8%) e divergência em quarenta e uma (23,2%) destas amostras como evidenciado na tabela 1.

Métodos		Total de amostras	%
Pesquisa Direta	PCR (<i>Swab</i>)		
+	+	62	76,8
-	-	60	
+	-	30	23,2
-	+	11	
Total de amostras pareadas analisadas		163	100

Tabela 1- Comparação dos resultados do diagnóstico parasitológico por pesquisa direta e do diagnóstico molecular através de PCR em amostras coletadas a partir de *swab*.

Análise comparativa entre substratos (biópsia e exsudatos cutâneos).

Através de PCR foram analisadas 182 amostras de biópsias e exsudatos cutâneos (coletados com *swab*) dos pacientes selecionados para o estudo. Ao todo 86 (47,3%) amostras de exsudatos cutâneos coletados a partir de *swab* e 90 (49,5%) amostras de biópsias foram positivas, algumas dessas amostras podem ser visualizadas na figura 1.

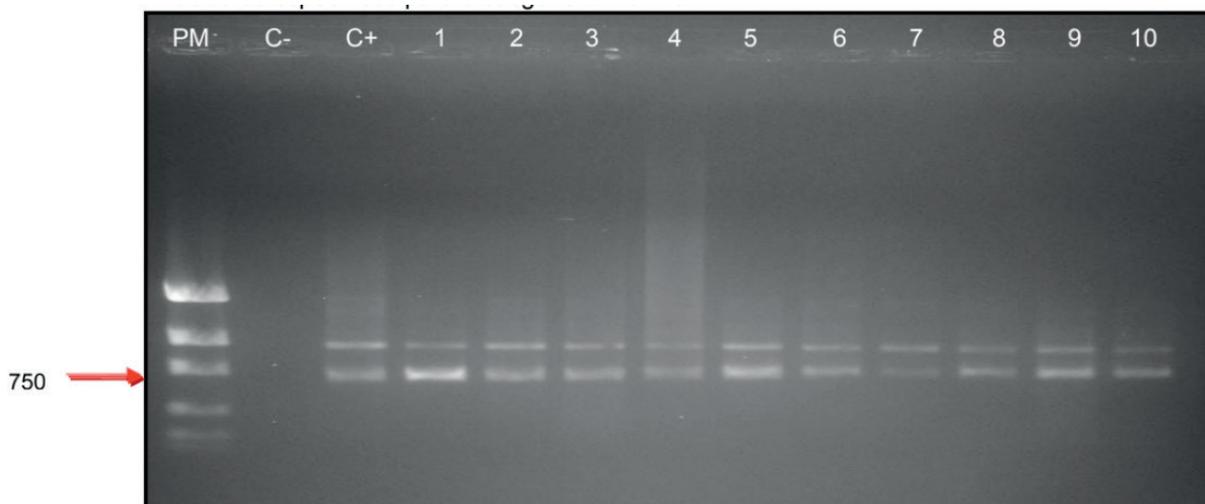


Figura 1- Eletroforese em gel de agarose a 1% corado pelo brometo de etídeo, mostrando produtos amplificados, originários de amostras de biópsia e *swab*, a partir de oligonucleotídeos iniciadores específicos para o subgênero *Viannia*.

Legenda: Controle positivo (C+) controle negativo (C-), amostras de biópsia (1-5) e amostras de *swab* (6-10). O produto de amplificação de 750pb encontra-se indicado por seta. PM: marcador de peso molecular + Low DNA Mass Ladder (2000, 1200, 800, 400, 200 e 100 bp).

Ao comparar os resultados da PCR de amostras de exsudatos cutâneos e de biópsia nos pacientes analisados, observa-se concordância em 148 (81,3%) amostras e discordância em 34 (18,7%), onde 77 amostras obtiveram resultado negativo nos dois métodos e 71 resultados positivos em ambos, porém 15 amostras obtiveram resultados positivos apenas pelo *swab* com negatividade na biópsia e apenas 19 amostras foram positivas pela biópsia e negativas pelo *swab* como pode ser observado na tabela 2.

PCR		Total de amostras	%
Biópsia	Swab		
-	-	77	81,3
+	+	71	
+	-	19	18,7
-	+	15	
Total de amostras pareadas analisadas		182	100

Tabela 2- Comparação dos resultados do diagnóstico molecular através de PCR em amostras coletadas a partir de *swab* e biópsia.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo, além de analisar métodos laboratoriais clássicos (parasitológico pela pesquisa direta e o molecular a partir de biópsia) de uso rotineiro na pesquisa em leishmaniose tegumentar americana para o Serviço de Referência em Leishmanioses (SRL – IAM/FIOCRUZ), incluiu também a análise realizada pelo método de *swab* para coleta de *Leishmania* spp., que passou a ser incorporado no SRL em 2010. Com relação ao *swab* aplicado em LTA, são poucos os trabalhos que apontam este método como um instrumento na coleta desses parasitos e, além disso, não há constatação da técnica ter sido preconizada por órgãos de saúde pública para a enfermidade em questão (FERREIRA et al. 2008, 2012; GOMES et al., 2016; LEITE et al., 2010, 2011; LOMBARDO et al., 2012; MIMORI, 2002).

Os critérios utilizados para inclusão no estudo incorporaram pacientes que além de atenderem a critérios clínico-epidemiológicos, apresentavam lesões ativas. Dessa forma, 201 pacientes foram selecionados como portadores de LTA com base no diagnóstico clínico e epidemiológico.

Em uma análise comparativa em 163 amostras, entre a técnica parasitológica de pesquisa direta e a técnica molecular de PCR a partir de amostras coletadas por *swab*, o estudo obteve uma concordância em 76,8% das amostras, estes dados colaboram com recente pesquisa realizada por Viana (2013), onde em 31 amostras a concordância obtida pelas duas técnicas foi de 77,42%.

As diferenças encontradas em nosso estudo entre os resultados acerca da positividade destas duas técnicas podem estar correlacionadas ao tempo de evolução da lesão cutânea. Weigle e Colaboradores (2002) analisaram o tempo de evolução da infecção com o número de *Leishmania* presentes em lesões de LTA. As lesões de até seis meses obtiveram 56% de sensibilidade comparada a 8,7% em lesões com tempo igual ou superior a seis meses, sugerindo que a quantidade de parasitos presentes nas lesões pode se apresentar inversamente proporcional ao tempo de evolução destas. Neste estudo a média de evolução da lesão foi de 4,3 meses, justificando o número alto de positividade.

Segundo a Organização Mundial de Saúde, torna-se oportuno que as pesquisas se concentrem no desenvolvimento de novos conhecimentos, principalmente no emprego de novos modelos diagnósticos para a LTA, pois trata-se de uma doença emergente e negligenciada (REMME et al. 2002).

Através da análise comparativa em 182 amostras, dos substratos coletados por *swab* e biópsia para o diagnóstico molecular da LTA, o estudo observou uma positividade de 86 amostras coletadas por *swab*. Estes dados sugerem que a abundância de *Leishmania* spp. no centro da lesão ativa de LTA possibilita segurança na obtenção de DNA de parasitos disponíveis, uma vez que um determinado local da borda da lesão poderá não ter disponibilidade de *Leishmania*. A alta concordância entre estes

métodos (81,3%) aponta a possibilidade de uma associação entre os dois métodos de coleta, aumentando assim a garantia de um teste mais sensível.

Ressaltamos ainda que em 38 pacientes não foi possível a coleta de *Leishmania* spp. a partir de escarificação da lesão devido a algumas limitações, tais como, lesões inflamadas, nodulares e eritematosas. Em alguns casos, a lesão encontrava-se em processo de cicatrização, o que impedia a raspagem do tegumento. Em dezenove pacientes não foi possível a coleta de biópsia cutânea, devido as mesmas características supracitadas. Em situações especiais como crianças e idosos a coleta desse substrato foi descartada. Enquanto a coleta de exsudatos cutâneos por *swab* foi realizada em todos os pacientes, tendo em vista que não possui as limitações citadas e preferíveis por parte dos pacientes por ser um método não invasivo (SILVA, 2015).

O primeiro relato da utilização do *swab* para LTA em humanos foi feito por Mimori e colaboradores (2002), contudo a coleta de exsudato cutâneo somente foi possível com a raspagem prévia da lesão, a fim de romper a borda da lesão. Embora tenha utilizando o *swab*, o uso do bisturi foi essencial para a escarificação na lesão, sendo invasivo. Porém recentes estudos que utilizam de *swab* para detecção de *Leishmania* spp. sem a necessidade prévia da utilização de bisturi, corroboram com os métodos e achados apresentados em nossa pesquisa (ARAÚJO, 2013; BRITO et al., 2012; VIANA, 2013).

Observamos que a coleta de exsudatos foi realizada apenas com o *swab*, em todos os pacientes de maneira não invasiva e em toda a superfície da lesão. O método é adequado para centros de saúde pública desprovidos de condições necessárias à realização de coleta de biópsia. Além disso, a coleta por *swab* pode ser realizada por qualquer profissional de saúde habilitado e treinado, enquanto que a biópsia exige a presença de um profissional médico, especificamente um dermatologista.

Vale salientar que, Gomes et al., 2016 fizeram um estudo de validação em amostras coletadas por biópsias e *swabs*, utilizando os testes moleculares como PCR convencional e qPCR (Sybr Green e Taq Man), ambas para o alvo de kDNA de *Leishmania*, concluíram que apresentaram sensibilidade similares e que o desempenho de qPCR foi superior ao da maioria das técnicas utilizadas para a detecção de *Leishmania*.

Neste contexto, a utilização do método de coleta a partir de *swab* no Serviço de Referência em Leishmanioses (SRL) do Instituto Aggeu Magalhães da FIOCRUZ PE é pertinente ao desenvolvimento deste modelo inovador de coleta de *Leishmania* spp.

REFERÊNCIAS

ARAÚJO, A. I. F. **Avaliação do método de coleta através do *swab* para o diagnóstico molecular da leishmaniose tegumentar americana em pacientes de áreas endêmicas de Pernambuco, Brasil.** 2013. Dissertação (Mestrado em Saúde Pública) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, Pernambuco, 2013.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Boletim Epidemiológico Eletrônico**, Brasília, DF, v.10, p. 2-24, 2012.

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 and International Health, USA v. 14, n. 10, p. 1278–1286, October 2009.

BRITO, M. E. F. et al. **Occupationally Acquired American Cutaneous Leishmaniasis**. Case Reports in Dermatological Medicine, New York, v. 4, p. 1-4, 2012.

BRITO, M. E. F. et al. ***Leishmania (Viannia) braziliensis* isolated from the saliva of patients in a cutaneous leishmaniasis-endemic area of northeastern Brazil**. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol. 113(4): e170250, 2018.

CALDART, E.T. et. al. **Análise comparativa de métodos de extração de DNA genômico de células do sangue e do leite de pequenos ruminantes**. Acta Scientiae Veterinariae, Porto Alegre, v. 39, n.1, p. 94-95. 2011.

COSTA, J.M.L. et al. **Modalidades, Diagnóstico e Terapêutica da LT no Brasil**. Gazeta Médica da Bahia, Salvador, v.79, n. 3, p.70-83, 2009.

DE BRUIJN, M. H. L. et al. **A comparative study of diagnosis by the polymerase chain reaction and by current clinical methods using biopsies from Colombian patients with suspected leishmaniasis**. Tropical Medicine and Parasitology, Stuttgart, v. 44, n. 2, p. 201-207, 1993.

DE BRUIJN, M. H. L.; BARKER D. C. **Diagnosis of New World leishmaniasis: Specific detection of species of the *Leishmania braziliensis* complex by amplification of kinetoplast DNA**. Acta Tropica, Basel, v. 52, n. 1, p. 45-58, 1992.

ERESH, S. et al. **Identification and diagnosis of *Leishmania mexicana* complex isolates by polymerase chain reaction**. Journal of Parasitology, Lawrence, v. 109, p. 423-433, 1994.

FERREIRA, S. A. et al. **Evaluation of the conjunctival swab for canine visceral leishmaniasis diagnosis by PCR-hybridization in Minas Gerais State, Brazil**. Veterinary Parasitology, Amsterdam, v. 152, n. 3-4, p. 257-263, 2008.

FERREIRA, S. A. et al. **Canine skin and conjunctival swab samples for the detection and quantification of *Leishmania infantum* DNA in an endemic urban area in Brazil**. PLoS Neglected Tropical Diseases, San Francisco, v. 6, n. 4, 15-96, 2012.

GOMES C. M, et al. **Field validation of SYBR Green- and TaqMan-based real-time PCR using biopsy and swab samples to diagnose American tegumentary leishmaniasis in an area where *Leishmania (Viannia) braziliensis* is endemic**. J Clin Microbiol 55:526 –534, 2016.

LEITE, R. S. et al., **PCR diagnosis of visceral leishmaniasis in asymptomatic dogs using conjunctival swab samples**. Veterinary Parasitology, Amsterdam, v. 17, n. 3-4, p. 201-206, 2010.

LEITE, R. S. **The use conjunctival swab samples for PCR screening for visceral leishmaniasis in vaccinated dogs**. Revista Brasileira de Parasitologia. Vet Jaboticabal, 20, n.1, p. 36-41, 2011.

REMME, J.H. et al. **Strategic emphases for tropical diseases research: a TDR perspective**. Trends Parasitol, Oxford, v.18, p.421-6, 2002.

REY, L., **Parasitologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001.

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

SAMBROOK, J. et al. **Molecular cloning: a laboratory manual.** Cold Spring Harbor Laboratory Press, New York 2 ed.:1989.

SILVA, A. O. **Utilização do swab no serviço de referência em leishmanioses do Centro de Pesquisa Aggeu Magalhães, para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana.** - Monografia (graduação) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Ciências Biológicas. Bacharelado em Biomedicina, 2015.

SILVA, A. O. **Avaliação de protocolos de extração e purificação de DNA alvo da reação em cadeia da polimerase na detecção de *Leishmania (Viannia) spp.*** – 2017. Dissertação (Mestrado) – Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães, FIOCRUZ, Recife, Pernambuco, 2017.

SILVEIRA, F. T. et al. **Clinical and immunopathological spectrum of American Cutaneous Leishmaniasis with special reference to the disease in Amazonian Brazil – A review.** Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, v.99, p. 239-51, 2004.

VIANA, J. B. M. **Otimização do método de coleta em swab para o diagnóstico da leishmaniose tegumentar americana em pacientes de áreas endêmicas de Pernambuco, Brasil.** 2013. Monografia (Bacharelado em Biomedicina) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2013.

WEIGLE, K. A. et al. **PCR-based diagnosis of acute and chronic cutaneous leishmaniasis caused by *Leishmania (Viannia)*.** Journal of Clinical Microbiology; Washington, v. 40, p. 601–606, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Leishmanioses: Informe Epidemiológico das Américas,** Geneva, Nº 2, Junho de 2016.

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