

LEISHMANIOSE VISCERAL

Aspectos Gerais

A Leishmaniose Visceral (LV), também conhecida como calazar, é uma zoonose crônica e sistêmica que, quando não tratada, pode evoluir para óbito em mais de 90% dos casos. O agente etiológico da LV é o protozoário tripanosomatídeo do gênero *Leishmania*, parasita intracelular obrigatório das células do sistema fagocítico mononuclear, com uma forma flagelada ou promastigota, encontrada no tubo digestivo do inseto vetor *Lutzomyia longipalpis* ou *Lutzomyia cruzi*, e outra aflagelada ou amastigota nos tecidos dos vertebrados.

Manifestações Clínicas em Humanos

Variam desde formas assintomáticas até um quadro caracterizado por febre, anemia, hepatoesplenomegalia, manifestações hemorrágicas, linfadenomegalia, perda de peso, taquicardia, tosse seca e diarreia.

Cenário Epidemiológico

A LV é endêmica em 98 países e mais de 350 milhões de pessoas estão sob risco de adoecer, com incidência anual estimada em 200.000 a 400.000 novos casos no mundo.

No Brasil, a LV está presente em 77,8% (21/27) das unidades federativas, atingindo as cinco regiões brasileiras. Em 2017, os estados de Minas Gerais (750 casos), Maranhão (714 casos), Pará (512 casos) e Ceará (323 casos) registraram os maiores números de casos confirmados de LV no país.

A Secretaria da Saúde do estado do Ceará (SESA), por meio da Coordenadoria de Vigilância em Saúde – COVIG, e do Núcleo de Vigilância Epidemiológica – NUVEP, vem ORIENTAR sobre a descentralização, a coleta e o manuseio do novo **Teste Rápido (TR) Imunocromatográfico LSH Ab ECO Teste** para diagnóstico de Leishmaniose Visceral Humana (LVH).

1. LSH Ab ECO Teste – CARACTERÍSTICAS E BENEFÍCIOS



O **LSH Ab ECO Teste** é um teste imunocromatográfico para a detecção qualitativa de anticorpos para os membros da *Leishmania donovani* em amostras humanas de soro. É destinado como auxiliar no diagnóstico presuntivo de Leishmaniose Visceral.

Benefícios do LSH Ab ECO Teste:

- Liberado pelo *Food and Drug Administration* (FDA – EUA);
- Certificado pela Comunidade Europeia;
- Compatível com *International Organization for Standardization* (ISO);
- Fácil de usar;
- Sensibilidade e Especificidade: > 90%;
- Rápido (resultados em 10 minutos);
- Fácil interpretação dos resultados;
- Amigável ao campo – equipamentos de refrigeração e de laboratório não exigidos;
- Longa estabilidade (2 anos);
- Embalagem personalizada;
- Excelente serviço ao cliente;
- Preços competitivos;
- Feito no Brasil.

Cada caixa/ kit contém 20 exames/ tiras testes.



DIAGNÓSTICO

O diagnóstico laboratorial da LV pode ser realizado por meio de técnicas imunológicas e parasitológicas.

Diagnóstico Imunológico

Pesquisa de anticorpos contra *Leishmania*.

- Reação de Imunofluorescência Indireta (RIFI) – consideram-se como positivas as amostras reagentes a partir da diluição de 1:80. Nos títulos iguais a 1:40, com clínica sugestiva de LV, recomenda-se a solicitação de nova amostra em 30 dias.

- Testes Rápidos (TR) Imunocromatográficos – considerados positivos quando a linha controle e a linha teste aparecem na fita (conforme o Comunicado nº 0012231030 – SEI/MS/2019 – Mudança de fornecedor e TR imunocromatográfico).

Diagnóstico Parasitológico

Diagnóstico de certeza feito pelo encontro de formas amastigotas do parasito em material biológico obtido da medula óssea, do linfonodo ou do baço.

Equipe de Elaboração/ Revisão

Kellyn Kessiene de Sousa Cavalcante
Iva Maria Lima Araújo Melo
Marta Maria Caetano de Souza
Maria do Carmo Vidal Gadelha Lima
Roberta de Paula Oliveira
Sarah Mendes D'Angelo

(85) 3101.5442/ 5443

leishmanioses.ce@gmail.com

2. PRINCÍPIO DO TESTE *LSH Ab ECO teste*

A membrana do teste é pré-revestida com rK39 na região da linha teste e proteína anti-proteína A de galinha na região da linha controle. Durante o teste, a amostra de soro reage com o corante do conjugado (proteína A-ouro coloidal conjugado) que foi pré-revestida na membrana de nitrocelulose do teste. A amostra em seguida migra, por ação capilar, pela membrana para reagir com o antígeno de *Leishmania* recombinante e gerar uma linha vermelha. A presença dessa linha vermelha indica um resultado reagente, enquanto sua ausência indica um resultado não reagente. Independentemente da presença de anticorpos para rK39, a amostra continua a migrar através da membrana até ser imobilizada pela anti-proteína A de galinha na região da linha controle. Uma linha vermelha na região da linha controle deve sempre aparecer. A presença desta linha vermelha serve como controle para indicar que o volume de amostra foi suficiente, que o fluxo foi adequado e serve como um controle para os reagentes.

3. REAGENTES E MATERIAIS NECESSÁRIOS

Cada dispositivo é selado individualmente e contém:

- 1 tira teste;
- 1 sachê dessecante e sílica gel;
- Tampão diluente;
- Manual de instruções.

Materiais que poderão ser requeridos e não são fornecidos:

- Cronômetro;
- Tubos para coleta;
- Tubos de ensaio ou micropoços;
- Micropipeta.

4. INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO E ESTABILIDADE

- Armazenar os componentes do teste em temperatura entre 2 e 30°C, até a data de validade indicada na embalagem de alumínio selada.
- O teste deve permanecer na embalagem selada até o momento do uso.
- Não congelar.
- Não armazenar o kit em temperaturas superiores a 30°C.
- Deve-se tomar cuidado para proteger os componentes do kit de contaminação.
- Não usar o kit se tiver evidência de contaminação microbiológica ou precipitação. Contaminação biológica de pipetas, coletores ou reagentes podem levar a falsos resultados.

5. ATENÇÕES E PRECAUÇÕES

- Apenas para uso por profissionais de diagnóstico *in vitro*.
- Não use o dispositivo teste após a data de validade indicada na embalagem.
- Não use o teste se a embalagem de alumínio estiver danificada.
- Não reutilize os testes.
- Todos os reagentes devem estar na temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos.
- Evite contaminação cruzada de amostras utilizando um novo coletor de amostra para cada amostra obtida.
- Não fume, beba ou coma em áreas onde as amostras ou reagentes do kit estejam sendo manuseadas.
- Manuseie todas as amostras como se elas contivessem agentes infecciosos.
- Observe as precauções estabelecidas contra riscos microbiológicos ao longo do procedimento e siga os procedimentos padronizados para o descarte apropriado das amostras.
- Vista roupas de proteção, como: jalecos laboratoriais, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver analisando as amostras.
- Umidade e temperatura podem afetar os resultados de maneira adversa.



ATENÇÃO!

- Todas as amostras humanas devem ser consideradas potencialmente infectantes.
- Recomenda-se que os reagentes e as amostras do paciente sejam tratados de acordo com as normas ou outras diretrizes de segurança de risco biológico ou regulamentos locais apropriados.



6. COLETA E MANUSEIO DAS AMOSTRAS

6.1. Obter a amostra de Soro:

- Coletar amostra de sangue em um tubo coletor de tampa vermelha à vácuo (sem anticoagulantes) por punção venosa;
- Permitir coagulação do sangue;
- Cuidadosamente retirar o soro de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo.

6.2. Testar as amostras, assim que possível, após a coleta.

6.3. Se não realizar o teste, armazenar imediatamente as amostras de 2 e 8°C por até 5 dias.

6.4. As amostras deverão ser congeladas à -20°C para armazenamento por longo período.

6.5. Evitar múltiplos ciclos de congelamento e descongelamento.

6.6. Antes de realizar o teste, leve as amostras congeladas para a temperatura ambiente e homogenize.

6.7. Amostras contendo partículas visíveis deverão estar límpidas, por centrifugação, antes do teste.

6.8. Não usar amostras com aparência lipêmica, com hemólise ou turbidez para evitar interferência na interpretação do resultado.

Nota Técnica

Orientações sobre o Novo Teste Rápido Imunocromatográfico para Leishmaniose Visceral

03 de janeiro de 2020 | Página 4/9

6. COLETA E MANUSEIO DAS AMOSTRAS



1º Passo

Deixe todos os materiais e amostras em temperatura ambiente (15-30°C). Abra a embalagem e remova a tira teste. Coloque a tira teste em uma superfície limpa e plana ou em posição vertical em um tubo de ensaio.



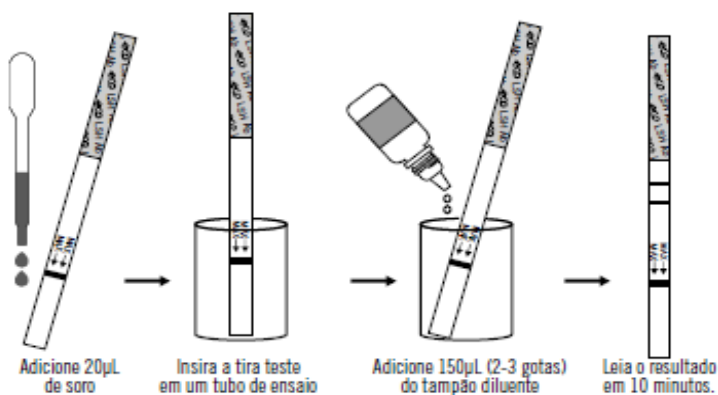
2º Passo

Com o auxílio de uma micropipeta, adicione 20µL do soro na almofada da amostra abaixo das setas.

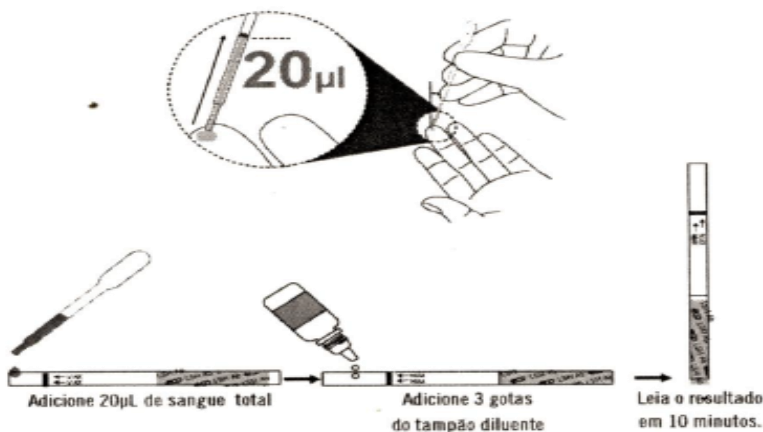


3º Passo

Se o soro foi aplicado na tira teste horizontalmente sobre uma superfície plana, pegar a tira pela etiqueta verde e colocar na vertical, com seta apontada para baixo, em um tubo de ensaio ou de micropoços contendo 2-3 gotas (150L) do tampão diluente. Se o soro foi aplicado na tira teste verticalmente, adicionar 2-3 gotas (150L) do tampão diluente na base dos micropoços ou tubo de ensaio.



1ª Opção: Teste realizado verticalmente.



2ª Opção: Teste realizado horizontalmente.

ATENÇÃO: Ler o resultado em 10 minutos!
Resultados interpretados após 10 minutos podem não ser precisos.

7. INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

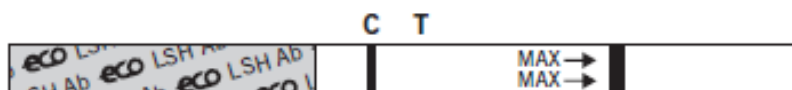
7.1. Resultado Reagente

Se a linha controle (linha C) e a linha teste (linha T) vermelha aparecerem, o teste indica a presença de anticorpos de Leishmaniose Visceral na amostra. **O resultado é reagente.** A presença da linha teste, mesmo em coloração fraca, indica resultado reagente.



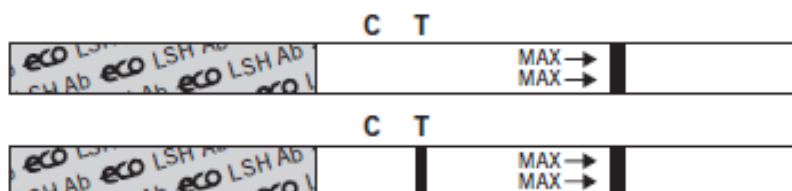
7.2. Resultado Não Reagente

Se somente a linha controle (linha C) aparecer, a ausência de coloração na linha teste (linha T) indica que anticorpos de Leishmaniose Visceral na amostra não é detectável. **O resultado é não reagente.**



7.3. Resultado Inválido

Se a linha C não aparecer, o **teste é inválido** mesmo com o aparecimento da linha T. A linha controle deverá sempre aparecer se o procedimento for realizado adequadamente e os reagentes do teste forem funcionais. Repetir o teste com uma nova tira.



8. CONTROLE DE QUALIDADE

8.1. Controle Interno

Esse teste contém um controle interno embutido, a linha controle (C). A linha C desenvolve uma coloração após a adição da amostra e confirma que um volume suficiente de amostra foi adicionado e as técnicas de procedimento foram corretamente aplicadas. Se a linha C não aparecer, reveja todo o procedimento e repita o teste com um novo dispositivo.

8.2. Controle Externo

Não são fornecidos controles externos com esse kit. As Boas Práticas de Laboratório recomendam o uso de controles externos, reagentes e não reagentes, para confirmar o procedimento do teste e para verificar o desempenho apropriado.

9. LIMITAÇÕES DO TESTE *LSH Ab ECO TESTE*

- Não seguir o correto procedimento do teste pode levar a resultados não precisos.
- O TR *LSH Ab ECO Teste* é limitado qualitativamente na detecção de anticorpos contra a Leishmaniose visceral em amostras humanas de soro.
- A intensidade da linha teste não possui correlação linear com o título de anticorpos nas amostras.
- Este teste apenas indicará a presença de anticorpos para o antígeno de teste recombinante rK39 em pacientes com Leishmaniose Visceral e não deve ser usado como o único critério para o diagnóstico.
- Este teste, por si só, não deve ser utilizado para qualquer decisão de tratamento clínico. Como em todos os testes de diagnóstico, os resultados devem ser considerados com outras informações clínicas disponíveis ao médico.
- Se o resultado for negativo e os sintomas clínicos persistirem, recomenda-se a realização de outros testes utilizando outros métodos clínicos. Um resultado não reagente não exclui a possibilidade de Leishmaniose.
- Podem ocorrer resultados falsos positivos. Os testes de confirmação (como por cultura) são recomendados especialmente nos casos em que não existem sintomas. Não utilize amostras de soro contendo glicerol ou outros materiais viscosos. Isto reduzirá a sensibilidade do ensaio.
- Pessoas com infecção avançada por HIV ou outras doenças imunossupressoras têm frequentemente anticorpos anti-*Leishmania* baixos ou indetectáveis.
- Este teste pode produzir resultados falsos positivos com amostras de doentes com Malária.

10. DISTRIBUIÇÃO DOS TESTES *LSH Ab ECO TESTE*

10.1. Critérios de Distribuição

Fica definido que:

- O TR *LSH Ab ECO Teste* para diagnóstico de LVH será disponibilizado/ descentralizado aos municípios prioritários de referência: Fortaleza, Barbalha, Caucaia, Itapipoca, Juazeiro do Norte, Crato, Maracanaú, Canindé, Iguatu, Crateús e Sobral, e suas respectivas Unidades de Saúde inseridas e delimitadas em suas Coordenadorias Regionais de Saúde (CRES), no âmbito dos critérios estabelecidos na nova estratificação de risco definida para a LV.

A nova estratificação de risco dos municípios, fornecida pelo Sistema de Informação das Leishmanioses – SisLeish (OPAS/OMS), fundamenta-se no indicador “índice composto” de incidência e casos do triênio 2016 a 2018, classificando os municípios em cinco níveis de classificação segundo o risco de transmissão de LV: baixo, médio, alto, intenso e muito intenso .

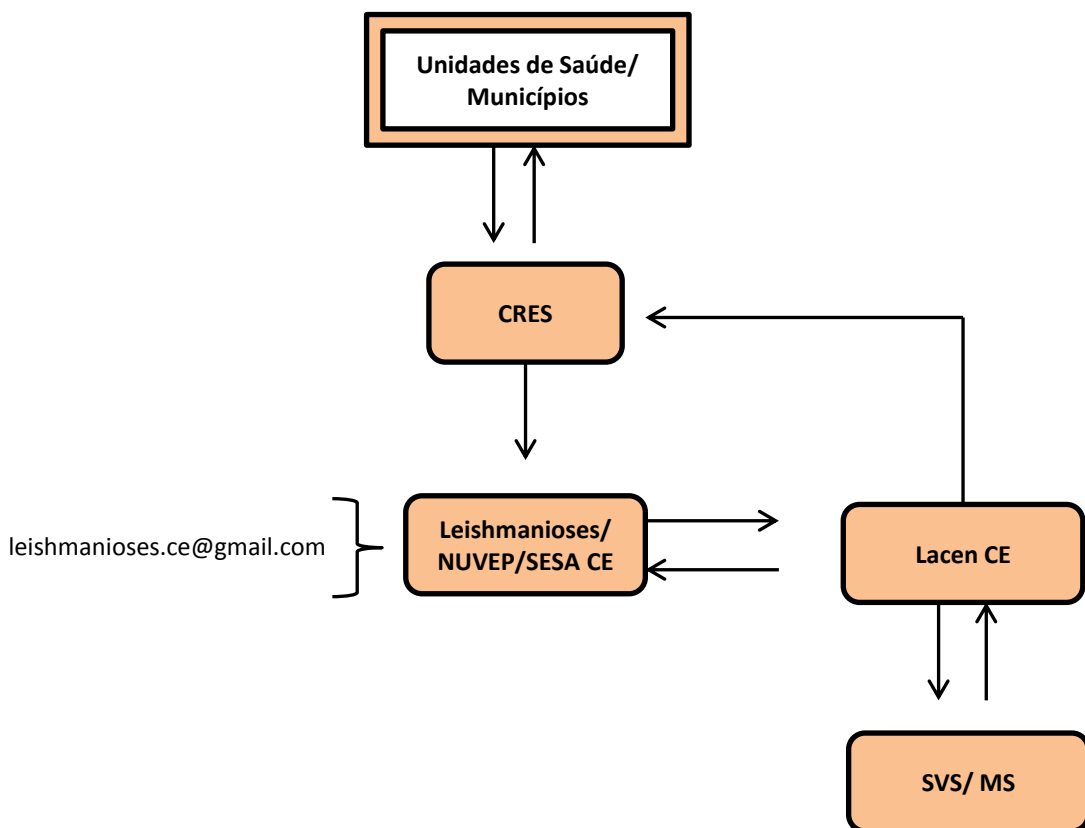
O estado do Ceará possui 05 municípios prioritários com transmissão muito intensa (Fortaleza) e 04 com transmissão alta (Barbalha, Caucaia, Itapipoca e Juazeiro do Norte). Os outros 06 citados no item acima têm os índices compostos mais elevados dentre os classificados como de transmissão média .

Município	Índice Composto
Fortaleza	28,00466
Barbalha	5,437037
Caucaia	4,647582
Itapipoca	4,540313
Juazeiro do Norte	3,643915

- Os municípios de menor incidência e risco de transmissão que não foram contemplados no item acima deverão encaminhar os casos suspeitos à Unidade de Referência mais próxima.

10.2. Fluxo de Solicitação e Distribuição dos Testes

1. **Unidades de Saúde/ Municípios** → Encaminham a planilha padronizada mensal de solicitação dos testes (Anexo 1) à CRES correspondente. **Prazo: Até dia 10 de cada mês.**
2. **CRES** → Consolidam as planilhas das Unidades de Saúde/ Municípios e encaminham ao Núcleo de Vigilância Epidemiológica (NUVEP), da Secretaria da Saúde do estado do Ceará (SESA), por meio do e-mail: leishmanioses.ce@gmail.com. **Prazo: Até o dia 15 de cada mês.**
3. **NUVEP/ SESA** → Consolida e analisa as solicitações, conforme o critério epidemiológico (estratificação de risco do município); e encaminha ao Laboratório Central de Saúde Pública (Lacen). **Prazo: Até o dia 23 de cada mês.**
4. **Lacen** → Solicita a demanda mensal de kits TR *LSH Ab ECO Teste* à Secretaria de Vigilância em Saúde (SVS)/ Ministério da Saúde (MS) via Sistema de Insumos Estratégicos em Saúde (SIES). **Prazo: Até o dia 25 de cada mês.**
5. **SVS/ MS** → Recebe a solicitação mensal do Estado e encaminha os testes ao Lacen Ceará. **Prazo: Até o 10º dia útil do mês subsequente.**
6. **Lacen** → Realiza a dispensação dos kits às CRES solicitantes; e envia planilha de controle de distribuição ao e-mail: leishmanioses.ce@gmail.com. **Prazo: Até o dia 30 de cada mês.**
7. **CRES** → Realiza a dispensação dos kits às Unidades de Saúde/ Municípios solicitantes.



OBSERVAÇÃO: Toda solicitação de TR *LSH Ab ECO Teste* deverá ser realizada de acordo com a situação epidemiológica e o planejamento mensal dos municípios.

11. REFERÊNCIAS

BISUGO, M.C. *et al.* Avaliação do diagnóstico da leishmaniose visceral canina com a utilização de teste rápido com antígeno recombinante K39 em regiões endêmicas do estado de São Paulo. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, n. 2, p. 185-193, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. **Guia de Vigilância em Saúde**: volume único [recurso eletrônico]/ Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação-Geral de Desenvolvimento da Epidemiologia em Serviços. – 4ª. ed. – Brasília : Ministério da Saúde, 2019. 725 p. : il.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade** / Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. – Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 78 p.: il. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância Epidemiológica. **Manual de vigilância e controle da leishmaniose visceral**. Brasília: Ministério da Saúde, 2006. Disponível em: http://bvsmms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/manual_vigilancia_controle_leishmaniose_visceral.pdf. Acesso em: 12 nov. 2019.

_____. **Comunicado nº 0012231030 – SEI/MS/2019**. In: Ministério da Saúde. Gestão municipal de saúde. Brasília (DF); 2019.

BRAZ, R.F.S *et al.* The sensitivity and specificity of Leishmania chagasi recombinant K39 antigen in the diagnosis of American visceral leishmaniasis and in differentiating active from subclinical infection. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 67, n. 4, p. 344-348, 2002.

CARVALHO, S.F.G. *et al.* Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis. **The American journal of tropical medicine and hygiene**, v. 68, n. 3, p. 321-324, 2003.

HOUGHTON, R.L. *et al.* A cloned antigen (recombinant K39) of Leishmania chagasi diagnostic for visceral leishmaniasis in human immunodeficiency virus type 1 patients and a prognostic indicator for monitoring patients undergoing drug therapy. **The Journal of infectious diseases**, v. 177, n. 5, p. 1339-1344, 1998.

MARSDEN, P.D. Selective primary health care: strategies for control of disease in the developing world. XIV. Leishmaniasis. **Reviews of infectious diseases**, v. 6, n. 5, p. 736-744, 1984.

SUNDAR, S. *et al.* Immunochromatographic strip-test detection of anti-K39 antibody in Indian visceral leishmaniasis. **Annals of Tropical Medicine & Parasitology**, v. 96, n. 1, p. 19-23, 2002.

WHO. World Health Organization. **Programme for the surveillance and control of leishmaniasis**. Technical Report Series nº. 793. Disponível em: <http://www.who.int/leishmaniasis/burden/en>. Acesso em: 09 dez 2019.

Nota Técnica

Orientações sobre o Novo Teste Rápido Imunocromatográfico para Leishmaniose Visceral

07 de janeiro de 2020 | Página 9/9

ANEXO 1.

Planilha Padronizada de Solicitação de TR LSH Ab ECO Teste

SOLICITAÇÃO DE TESTES RÁPIDOS IMUNOCROMATOGRÁFICOS - LEISHMANIOSE VISCERAL						
LSH Ab ECO TESTE						
MÊS:	ANO: 2019					
Unidades/ Hospitais Solicitantes - Estado: Ceará						
ESTADO: CEARÁ						
CRES	MUNICÍPIO	UNIDADE DE SAÚDE/ HOSPITAL	NOME DO RESPONSÁVEL	E-MAIL	CELULAR	Qde de Testes Solicitados*

*Cada Caixa/ Kit tem 20 Exames/ Tiras Testes.

**As solicitações deverão ser realizadas até o dia 15 de cada mês e serão pareadas com as informações do Sinan (LV).

***Os Testes Rápidos deverão ser pegos no Lacen CE pela pessoa/ Unidade de Saúde solicitante no quadro acima.

****Municípios Prioritários: Fortaleza, Barbalha, Caucaia, Itapipoca, Juazeiro do Norte, Crato, Maracanaú, Canindé, Iguatu, Crateús e Sobral.