

**Universidade Estadual de Montes Claros
Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde
Mestrado Acadêmico em Ciências da Saúde**

Elaine Veloso Rocha Urias

**Prevalência de adultos infectados por *Leishmania*
(*Leishmania*) *chagasi* entre doadores de sangue do
Hemocentro Regional de Montes Claros/MG.**

**Montes Claros – MG
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
Mestrado Acadêmico em Ciências da Saúde



ELAINE VELOSO ROCHA URIAS

**Prevalência de adultos infectados por *Leishmania*
(*Leishmania*) *chagasi* entre doadores de sangue do
Hemocentro Regional de Montes Claros/MG.**

Montes Claros, MG, 2008.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE
Mestrado Acadêmico em Ciências da Saúde



ELAINE VELOSO ROCHA URIAS

**Prevalência de adultos infectados por *Leishmania*
(*Leishmania*) *chagasi* entre doadores de sangue do
Hemocentro Regional de Montes Claros/MG**

ORIENTADOR: Prof. Dr. Silvio Fernando Guimarães de Carvalho
CO-ORIENTADOR: Prof. Dr^a Cláudia Di Lorenzo Oliveira

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, PPGCS, da Universidade Estadual de Montes Claros, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde. Área de concentração: Doenças infecciosas e parasitárias.

Montes Claros, MG, 2008.



ALUNA: ELAINE VELOSO ROCHA URIAS

TÍTULO DO PROJETO: “PREVALÊNCIA DE ADULTOS INFECTADOS POR *LEISHMANIA (LEISHMANIA) CHAGASI* ENTRE DOADORES DE SANGUE DO HEMOCENTRO REGIONAL DE MONTES CLAROS”

**BANCA (TITULARES)
ASSINATURAS**

PROF. DR. SILVIO FERNANDO GUIMARÃES DE CARVALHO –
ORIENTADOR/PRESIDENTE

PROF. DR. JOÃO FELÍCIO RODRIGUES NETO

PROF^a. DR^a. CLÁUDIA DI LORENZO OLIVEIRA

BANCA (SUPLENTES)

PROF^a. DR^a. MAISA TAVARES DE SOUZA LEITE

PROF. DR. ANTÔNIO PRATES CALDEIRA

APROVADA

REPROVADO

Dedico este trabalho aos meus queridos pais, Vicente e Walquíria que sempre me amaram, apoiaram e participaram de cada momento de alegria, dor, desafio e conquista.

Ao grande amor que Deus me permitiu conhecer e me dedicar: Ronaldo.
Aos meus filhos: Carol, Ronaldinho e Clara, maior benção e incentivo para buscar crescer como pessoa humana. Dedico a vocês esta conquista. Amo profundamente vocês!

AGRADECIMENTOS

A Deus que me abençoou do começo ao fim.

Ao professor Dr Silvio Fernando Guimarães de Carvalho, pelo incentivo na realização deste projeto.

A Dr^a Claudia Di Lorenzo Oliveira, pela contribuição decisiva na construção e resultados deste trabalho.

A Dr^a Anna Bárbara de Freitas Carneiro Proietti pelo entusiasmo contagiante com que fomenta pesquisa na Fundação Hemominas e pela particular contribuição nesta pesquisa.

A colega Maria de Lourdes Martins Carvalho pela participação efetiva no planejamento, organização e execução deste trabalho.

A Fundação Hemominas nas pessoas de Dr^a Júnia Guimarães Mourão Cioffi e Dr Marcelo Guimarães Pereira pelo apoio e incentivo nos desafios profissionais.

Aos colegas Michela Rivianne Santos Colen, Leandro de Freitas Teles, Caroline Nogueira Maia e Maria Sandra Porto que com dedicação e presteza se empenharam para o sucesso desta tarefa.

A toda equipe do Hemocentro Regional de Montes Claros pelo interesse, disponibilidade e colaboração que contribuíram para realização deste ideal. Agradecimento especial às colegas Jaqueline, Josefa, Karine, Gislaine e Hildenice que se empenharam de maneira particular.

A Universidade Estadual de Montes Claros na pessoa de Dr João Felício pelo dinamismo em prol do desenvolvimento de pesquisas na instituição e à professora Marise Fagundes pelo apoio estatístico.

Ao Doutor Olindo pelo interesse, competência e disponibilidade que permitiram a realização da cultura para leishmania e citometria de fluxo no centro de pesquisas René Rachou (BH/ MG).

A Dr^a Ester Sabino que se prontificou a enriquecer esta pesquisa com a técnica de PCR (Fundação Pró Sangue/SP).

Ao Dr Reynaldo Dietz pela presteza ao ceder os Kits Kalazar detect®.

Ao Murilo Costa Rodrigues pela realização dos testes RIFI

A todos os colegas e professores do mestrado pela oportunidade de convívio e aprendizado partilhado.

Aos meus irmãos, cunhados, cunhadas, sobrinhos, sobrinhas, sogro e sogra pelo carinho, apoio e incentivo constantes.

“Toda transfusão de sangue traz em si um risco, seja ele imediato ou tardio,
devendo ser criteriosamente indicado”.

(RDC 153 / 2004)

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1** Número de casos de leishmaniose visceral confirmados por Unidade Federativa do Brasil – 2008. 13
- Gráfico 2** Número de casos notificados de Leishmaniose Visceral/Ano em Montes Claros – MG. 14

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	Distribuição geográfica das Unidades da Fundação Hemominas - 2007	13
Figura 2	Fluxograma do processo de doação de sangue	14
Figura 3	Processamento do sangue	18
Figura 4	Fluxograma da pesquisa LV	25

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	Distribuição dos participantes do estudo segundo data da coleta e positividade para RIFI, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.	31
Tabela 2	Perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.	32
Tabela 3	Perfil geral dos participantes do estudo, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.	33
Tabela 4	Descrição dos participantes do estudo segundo resultados da sorologia, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008	34
Tabela 5	Comparação entre a sorologia para Chagas e RIFI para LV, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.	34
Tabela 6	Comparação entre sorologia Chagas e titulação RIFI para LV, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.	35

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	01
1.1 Aspectos epidemiológicos e clínicos da Leishmaniose Visceral	02
1.2 Etiologia e Transmissão	05
1.3 Aspectos Laboratoriais	09
1.4 Procedimentos de Hemoterapia – Fundação Hemominas	12
1.5 Pesquisa e Assistência – Unimontes e Hemominas	18
2 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivos específicos	21
3 METODOLOGIA	22
3.1 Tipo de estudo	23
3.2 População	23
3.3 Amostragem	23
3.4 Procedimentos	24
3.5 Critérios de inclusão	28
3.6 Análise estatística	28
3.7 Considerações éticas	29
4 RESULTADOS	30
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	44
7 REFERÊNCIAS	46

PRODUTOS ALCANÇADOS	53
Artigo 1	54
APÊNDICES	72
Apêndice 1 Termo de consentimento livre e esclarecido	72
Apêndice 2 Convocação	76
Apêndice 3 Resultados de exames laboratoriais	78
Apêndice 4 Planilha de resultados sorológicos para leishmania	80
ANEXOS	
Anexo 1 Parecer consubstanciado do Comitê de Ética em Pesquisa da Fundação Hemominas	
Anexo 2 Parecer da Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia	

RESUMO

Objetivos: Estudar a prevalência de adultos infectados por *L.L.chagasi* entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros/MG. **Métodos:** Estudo epidemiológico, transversal e quantitativo, realizado no período de 16/09/08 a 13/11/08. Participaram da pesquisa 421 doadores aptos na triagem clínica, sendo realizada imunofluorescência indireta para *L.L.chagasi*. Aqueles que apresentaram resultados positivos foram submetidos ao teste rápido imunocromatográfico Kalazar detect®. A análise das variáveis gênero, faixa etária, procedência, número de doações, resultados sorológicos para leishmaniose e chagas; foi realizada pelos testes estatísticos qui-quadrado (χ^2), χ^2 com tendência linear e teste Fisher. Foi considerado o nível de significância de 5%. **Resultados:** O perfil da amostra foi semelhante ao perfil geral dos doadores. Os participantes, em sua maioria procedentes da zona urbana (92,7%), residentes em Montes Claros (67,9%), homens (61,3%), com faixa etária de 18 a 29 anos (53%). Em relação aos resultados sorológicos, 23 (5,5%) apresentaram positividade para RIFI e nenhum destes foi positivo no Kalazar detect®. Ao comparar os resultados da imunofluorescência indireta para Leishmaniose (LV) e a sorologia Elisa chagas, dois foram positivos para ambos os testes, sendo demonstrada correlação estatística significativa ($p=0,003$). Porém 21 foram positivos para LV e negativos para chagas. **Conclusão:** Os resultados permitiram conhecer a prevalência da infecção por *L.L.chagasi* em indivíduos assintomáticos, adultos, doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros/MG e apontam para a necessidade de maiores estudos quanto ao possível risco de transmissão transfusional da doença.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, doadores de sangue, assintomáticos.

ABSTRACT

Objectives: To study the prevalence of adults infected by *L.L.chagasi* among the donors of blood of the Hemominas Foundation in Montes Claros, Minas Gerais. **Methods:** Epidemiological study, transverse and quantitative, accomplished from September 16, 2008 to November 13, 2008. 421 subjects were sampled. The *L.L.chagasi* Indirect immunofluorescence test (RIFI) was run. The donors that presented positive results in RIFI were tested by the fast immunochromatographic test Kalazar detect®. The variables of gender, age, origin, number of donations, leishmania and chagas disease serum results; being studied the statistical correlations by the chi-square tests (χ^2), χ^2 with lineal tendency and Fisher test, the level of significance of 5% was considered with 95% of trust ($p < 0,05$). **Results:** The profile of the sample was similar to the donors' general profile. The participants were mostly donors from the urban area (92,7%), living in Montes Claros (67,9%), men (61,3%), between 18 and 29 years old. In relation to the serum results 23 (5,5%) presented a positive result for RIFI and none of them was positive in Kalazar detect®. When comparing the results of RIFI and the serum of chagas disease (Elisa), two were positive for both tests, demonstrating significant statistical correlation ($p=0,003$). But 21 were positive for LV and negative for chagas disease. **Conclusion:** The results have shown the prevalence of infection by *L.L.chagasi* in asymptomatic, adult and donors of blood subjects of the Hemominas Foundation in Montes Claros, Minas Gerais and point the need of further studies in the possible risk of transmission of the disease via blood transfusion.

Key-words: Visceral Leishmaniose, blood donors, asymptomatic.

Introdução

1 INTRODUÇÃO

1.1 Aspectos epidemiológicos e clínicos da Leishmaniose Visceral

Leishmaniose visceral (LV), também conhecida como Calazar, é uma doença sistêmica grave, amplamente difundida no mundo, considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) uma das doenças parasitárias de maior impacto sobre a Saúde Pública mundial, afetando, aproximadamente, 500.000 pessoas por ano em 65 países. Cerca de 90% dos casos notificados ocorre em regiões pobres da Índia, Bang'ladesh, Nepal, Sudão e Brasil¹. Devido à grande expansão geográfica, ao aumento do número de casos no cenário mundial, à gravidade da doença e ao pouco interesse da indústria farmacêutica em desenvolver pesquisas na área, a LV tem sido considerada uma doença negligenciada, devendo ser priorizada pelos governos locais^{2,3}.

A leishmaniose visceral acomete principalmente crianças, idosos, imunossuprimidos, além de ser uma doença oportunista em pacientes com aids. Caracteriza-se por febre, hepatoesplenomegalia, palidez, pancitopenia, hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia, sendo frequentes complicações infecciosas e hemorrágicas⁴. Nos últimos anos, a letalidade no Brasil apresentou aumento gradativo, passando de 3,6% no ano de 1994 para 6,7% em 2003⁵.

Nas áreas endêmicas, aproximadamente uma em cada dezoito pessoas infectadas desenvolve a doença clássica⁶. Entretanto, a maioria apresenta doença subclínica, que pode permanecer oligossintomática ou completamente assintomática^{7,8,9}. A resposta imunológica do homem à infecção ainda não está claramente definida. Existem evidências a demonstrarem que, quando a resposta tende para o tipo TH1 (com produção de interleucina 2 e IFN γ), a

evolução é favorável, enquanto que, havendo maior resposta do tipo TH2 (com produção de interleucinas: IL4, IL5, IL10), é mais frequente a progressão da doença.

O primeiro registro da LV no Brasil ocorreu em 1913, quando Migone, no Paraguai, descreveu o caso em material de necrópsia de paciente do Mato Grosso. Em 1934, foram encontradas leishmanias em lâminas de viscerotomias *post-mortem* de 41 indivíduos com suspeita de febre amarela no norte e nordeste brasileiros⁴.

Na década de 90, aproximadamente 90% dos casos notificados de LV ocorriam na região nordeste⁴. Com a expansão da doença, os estados do Pará e Tocantins (região norte), Mato Grosso do Sul (região centro oeste) e Minas Gerais e São Paulo (região sudeste) passaram a influir de maneira significativa nas estatísticas do país¹⁰. A Leishmaniose visceral, antes restrita às áreas rurais do nordeste brasileiro, avançou para outras regiões, alcançando a periferia de grandes centros, e várias cidades brasileiras acabaram por apresentar epidemias da doença^{4 11}.

Em 2006, a região nordeste notificou 52,9% dos casos no país, e o sudeste representou 18,5% das notificações¹¹. Existe uma tendência de aumento no número de casos; foram registrados, em média, 3.642 casos por ano em nosso país nos últimos três anos¹². A incidência é de dois casos a cada 100.000 habitantes⁴.

Conforme dados do Sistema de Informação de Agravos de Notificação (SINAN), foram documentados 399 casos no estado de Minas Gerais (figura 1), em 2008, sendo este o segundo maior registro do país¹³.

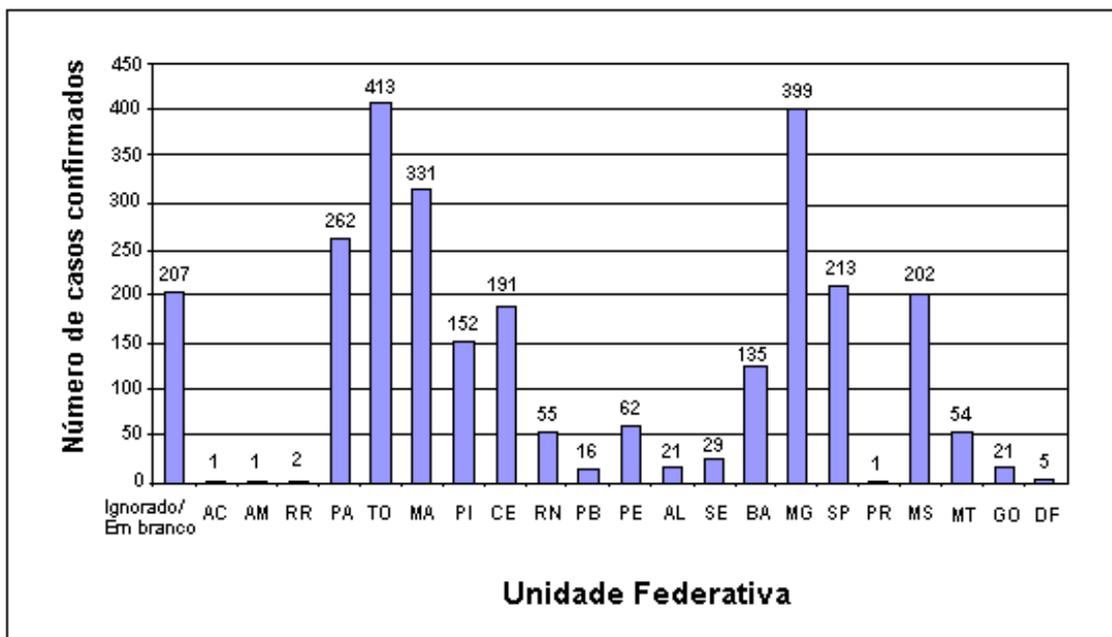


Gráfico1 - Número de casos de leishmaniose visceral confirmados por Unidade Federativa do Brasil - 2008 (Fonte: SINAN)

O município de Montes Claros, localizado no norte de Minas Gerais, tem apresentado número significativo de casos de LV (gráfico 2).

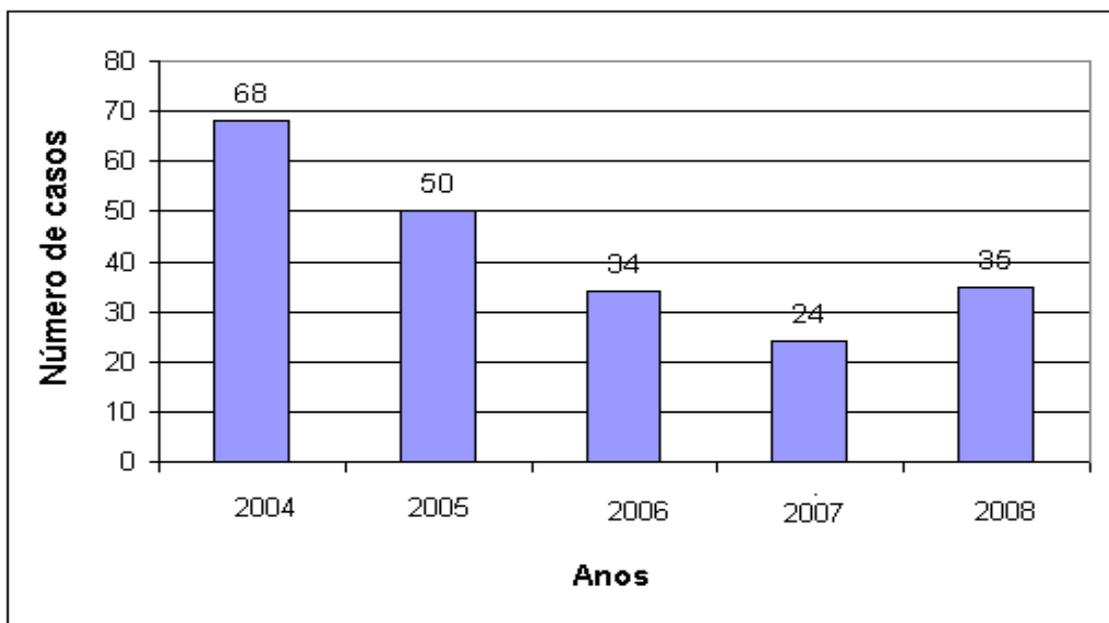


Gráfico 2 - Número de casos notificados de Leishmaniose Visceral/Ano em Montes Claros – MG. (Fonte: SINAN)

O programa de controle da doença no Brasil baseia-se, atualmente, em três estratégias básicas: detecção e tratamento dos casos humanos, de caráter eminentemente curativo; controle dos reservatórios domésticos e dos vetores⁴^{14 15}. É fato que medidas inovadoras precisam ser pesquisadas, implementadas e acompanhadas, com a perspectiva de promover melhor o controle da LV no Brasil e em todo o mundo.

1.2 Etiologia e Transmissão

A Leishmaniose Visceral é causada por protozoário do gênero *Leishmania*, subgênero *Leishmania*, complexo *donovani*, havendo três espécies neste complexo: *Leishmania (Leishmania) donovani*, encontrada na África Oriental e Sudeste Asiático; *L.L.infantum*, difundida na bacia do Mediterrâneo, extremo Sul da Península Árabe, Sul da União Soviética e China e a *L.L.chagasi*, forma encontrada nas Américas, responsável pelos casos registrados no Brasil^{16 17}.

O caráter endemo-epidêmico da doença vem sendo atribuído à presença de cães contaminados, considerados os principais reservatórios. Os hospedeiros silvestres da *L.L.chagasi*, até agora conhecidos, são as raposas e os marsupiais. Duas espécies de raposas foram encontradas infectadas naturalmente: *Lycalopex vetulus*, no Ceará¹⁸, *Cerdocyun thous* no Pará¹⁹ e em Minas Gerais²⁰. *L.L.Chagasi* foi isolada em marsupiais do gênero *Didelphis albiventris*, na Bahia²¹ e no Rio de Janeiro²². Os marsupiais (gambás), por transitarem entre áreas rurais e urbanas, têm sido apontados como elo, favorecendo a disseminação e urbanização da leishmaniose.

A transmissão da doença ao homem se dá pela picada da fêmea do mosquito flebotomíneo; no Brasil, a principal espécie encontrada é a *Lutzomyia*

longipalpis (mosquito palha), que se contamina ao sugar o hospedeiro infectado (reservatório) com a forma amastigota. No intestino médio do inseto, a leishmania adquire flagelo, passando à forma promastigota, que adere ao epitélio do tubo digestivo, multiplicando-se e alternando para a forma promastigota metacíclica (infectante), migrando para a faringe. As fêmeas dos flebotomíneos (*L. longipalpis*), ao picarem novamente mamíferos, inclusive o homem, inoculam as formas promastigotas metacíclicas na epiderme. A saliva do inseto é também inoculada e exerce importante papel vasodilatador, anticoagulante e antiagregante plaquetário, favorecendo o fluxo do sangue. Fatores presentes na saliva têm efeito quimiotático para monócitos e imunorreguladores, com capacidade de interagir com macrófagos, aumentando sua proliferação e impedindo a ação efetora destas células na destruição dos parasitos. Ao invadir os macrófagos, eles perdem o flagelo, atingindo novos macrófagos. Verifica-se, então, disseminação hematogênica para outros tecidos ricos em células do sistema fagocítico monocitário, como fígado, baço, medula óssea e linfonodos. O parasitismo pode envolver ainda outros órgãos, como rins, placas de Peyer, intestino, pulmões e pele. As formas amastigotas, raramente, podem ser encontradas no sangue, interior dos leucócitos, íris, placenta e timo.

Outras formas de transmissão devem ser consideradas em situações especiais. A transmissão congênita parece ocorrer através de células do sistema fagocítico monocitário infectadas, que atravessariam a fina membrana que separa a circulação materno-fetal, ou durante o contato do sangue materno com a criança no momento do parto. Acidentes em laboratórios que manipulam

o parasito já foram também relatados^{23 24}. As transmissões congênitas²⁵ e acidentais parecem não ter relevância epidemiológica²⁴.

A transmissão através de transfusão sanguínea, apesar de possível do ponto de vista teórico, ainda não possui comprovação científica suficientemente consistente. Vários estudos têm apontado para o risco de transmissão através de transfusão sanguínea^{26 27 28 29 30}. Neste contexto, o parasito teria que estar presente no sangue periférico do doador e sobreviver ao processamento e estocagem dos hemocomponentes em condições de temperatura ambiente (20 a 24°C – para plaquetas), temperatura de geladeira (2 a 6°C – concentrado de hemácias) e temperatura de freezer (< -20°C - plasma e crioprecipitado) conforme RDC153 de 2004.

Estudos publicados pela OMS (WHO/CDDS/IRS/2000.1) mostram que cerca de 80% dos casos de leishmaniose visceral em portadores de HIV na Europa (Espanha, França, Itália e Portugal), no período de 1997 a 1999, ocorreu em usuários de drogas, que compartilhavam seringas e agulhas, reforçando a necessidade de maiores estudos sobre o risco de transmissão da leishmaniose através do sangue. Na França, Fichoux²⁷ testou 565 doadores, encontrando sorologia positiva para leishmania em setenta e seis; destes, nove apresentaram PCR positiva para *L. L.infantum* e dois tiveram cultura positiva. Em estudo realizado na Grécia, em 2003, foi observado que a leucodepleção reduz o risco de transmissão transfusional da LV²⁹, achado que merece maiores estudos, no sentido de nortear novas propostas de controle da "possível transmissão transfusional". Segundo Cardo (2006) tem aumentado a incidência de leishmaniose cutânea e visceral no Iraque e Afeganistão. A chegada de tropas dos Estados Unidos nestes países, o relato de casos de LV

em soldados em áreas endêmicas e a transmissão por transfusão em crianças com sistema imunológico imaturo e em indivíduos imunossuprimidos sugere a necessidade de reexaminar os doadores de sangue. Durante o período de conflitos, as más condições sanitárias favoreceram o aumento de flebotomíneos na região, porém é importante afastar a possibilidade de transmissão por transfusão de sangue³⁰.

A sobrevivência e infectividade da *Leishmania* tem sido verificada em sangue estocado e a transmissibilidade tem sido demonstrada em animais³⁰.

Em 1997, estudo realizado em Natal (BRASIL) constatou ELISA para leishmania positivo em 9% de 1194 doadores voluntários de sangue. Foram testados pacientes politransfundidos em hemodiálise, que apresentaram 37% de positividade, observando-se associação significativa ($\chi^2=8.567$, $p<0.005$) entre transfusão sanguínea e sorologia positiva para leishmaniose nestes pacientes; porém, a transmissão por picada do flebotomíneo não foi descartada. A prevalência verificada em pacientes de hemodiálise no Rio de Janeiro (região onde o calazar é visto ocasionalmente) foi de 7%. Em pacientes em diálise peritoneal, tratados em condições ambulatoriais, foi observado 0% de positividade²⁶.

Segundo a OMS, cerca de 6% dos casos de coinfeção HIV e calazar na Espanha foi adquirida através de transfusão de sangue ou hemoderivados, tendo sido descritos na literatura sete casos de provável transmissão do calazar por transfusão sanguínea, incluindo quatro crianças que tinham recebido múltiplas transfusões, sendo que três haviam recebido sangue do mesmo doador²⁴.

1.3 Aspectos Laboratoriais

Testes sorológicos para leishmaniose visceral apresentam boa sensibilidade. No Brasil, os mais utilizados são a imunofluorescência indireta (RIFI) e o método ELISA. A RIFI expressa os níveis de anticorpos circulantes, apresenta sensibilidade de 84,61% até 100%³¹ e especificidade de 82,9%³², sendo considerados reagentes títulos iguais ou superiores a 1:80 e resultados 1:40 merecem repetição⁴. Uma das principais limitações da técnica é a ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar, chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar³³; além da dificuldade de padronização antigênica. Estudo recente em quatro regiões do Brasil, Maranhão, Piauí, Bahia e Minas Gerais, verificou sensibilidade de 88% e especificidade de 81% pelo método RIFI em 332 pacientes com quadro clínico sugestivo de LV: 213 casos de LV confirmados parasitologicamente; 119 não casos, com confirmação de outra etiologia³⁴.

Neste mesmo estudo, foram verificados 92% de sensibilidade pelo teste ELISA e 77% de especificidade³⁴. Segundo Cunha, a sensibilidade do ELISA chega a 100% e sua especificidade a 78,9%³². O teste Elisa consiste em reação de anticorpos presentes nos soros contendo antígenos solúveis e purificados de leishmania obtidos a partir de cultura *in vitro*. Estes antígenos são adsorvidos em microplacas e os soros diluídos (controle do teste e das amostras) são adicionados posteriormente. Na presença de anticorpos específicos no soro, haverá fixação aos antígenos e, ao final, obtém-se um produto colorido, medido por espectrofotometria. O seu resultado é expresso em unidades de absorvância a um raio de luz, em reação com diluições fixas ou, mais comumente, apenas como reagente ou não⁴.

O teste imunocromatográfico rápido Kalazar detect® apresentou sensibilidade de 67% (Sudão) a 100% (Índia). Diferenças na resposta

imunológica em grupos distintos podem explicar esta variabilidade. O Kalazar detect® baseia-se na reação do soro ou sangue do paciente com o antígeno K39 fixado em papel. Pode apresentar reação cruzada com malária, febre tifóide e tuberculose. Trata-se de teste de fácil execução, sendo promissor para uso em programas de saúde pública².

Estudo realizado em Montes Claros/MG e Vitória/ES verificou a performance do teste imunocromatográfico Kalazar detect® (Inbios international), avaliando 122 indivíduos com leishmaniose visceral comprovada e grupo controle de 60 indivíduos (10 saudáveis e 50 com outras doenças, como malária, hanseníase, chagas, tuberculose e leishmaniose tegumentar). O método demonstrou 90% de sensibilidade e 100% de especificidade, sendo constatada sua acurácia para o diagnóstico de indivíduos doentes³⁵.

O teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® (Diamed-IT LEISH®) foi recentemente validado para o diagnóstico de leishmaniose visceral humana e seu desempenho comparado com a reação de imunofluorescência indireta, reação imunoenzimática, usando-se antígeno solúvel de *Leishmania chagasi* e recombinante K39 (rK39) e o teste IT-LEISH® apresentou sensibilidade de 93%, especificidade de 97%, o que confirmou a validade do teste imunocromatográfico IT-LEISH® para o diagnóstico de LV no Brasil³⁴.

A citometria de fluxo constitui-se em um campo com grandes possibilidades de crescimento devido à sensibilidade de detecção aumentada em relação a outros métodos; a avaliação da resposta humoral se dá por meio do estudo de imunoglobulinas (IgG total), quanto à reatividade dos anticorpos que se ligam a formas promastigotas fixadas de *Leishmania (Leishmania) chagasi* por citometria de fluxo (AAPF-IgG). Este teste é isento de

variabilidades metodológicas inerentes ao analista e apresenta sensibilidade e especificidade muito superiores aos diferentes protocolos de detecção e revelação convencionais, podendo trazer novas perspectivas para os estudos sorológicos aplicados ao diagnóstico, prognóstico, controle pós-vacinal e acompanhamento de protocolos terapêuticos convencionais ou experimentais da LV³⁶. Esta técnica não tem sido preconizada como método diagnóstico, mas vem sendo muito empregada em nível de pesquisa, apresentando resultados promissores, devendo-se mencionar como limitação do método a manipulação do parasita vivo na execução da técnica.

O PCR (amplificação do DNA do parasita) constitui-se em uma nova perspectiva para o diagnóstico da LV, pois apresenta 94% de sensibilidade. Entretanto, os seus resultados dependem de algumas variáveis envolvidas, entre elas a área endêmica, o tipo de amostra, o alvo do DNA utilizado para amplificação, o método de extração do DNA etc⁴.

A pesquisa direta do parasita, através da punção de medula óssea, é a técnica invasiva mais utilizada, pois trata-se de um procedimento seguro, apresentando cerca de 85% de sensibilidade e 100% de especificidade^{4 37}. Podemos ainda realizar a cultura da leishmania inoculando o aspirado de medula óssea no meio de cultura NNN (Novy-McNeal-Nicolle), sendo realizada análise semanal, em microscópio invertido, durante quatro semanas. O diagnóstico parasitológico por punção esplênica, apesar da alta sensibilidade (90 a 95%)⁴, é reservado a situações particulares devido ao maior risco do procedimento. Punção de fígado e linfonodos também pode ser considerada em situações especiais, onde não houve esclarecimento diagnóstico através do aspirado de medula óssea.

1.4 Procedimentos de Hemoterapia – Fundação Hemominas

A Fundação Hemominas atua desde 1985, assumindo, atualmente, mais de 90% da demanda transfusional do estado de Minas Gerais. Sua missão é atuar em hematologia e hemoterapia com excelência e responsabilidade social, visando a garantia da qualidade dos produtos fornecidos à população, além de participar das decisões estratégicas da política do sangue do país.

O Hemocentro Regional de Montes Claros integra a rede Hemominas (fig. 1) desde 1987, sendo responsável por todo atendimento transfusional público e privado do norte de Minas. Atende em média 2000 candidatos à doação por mês, com produção aproximada de 1550 bolsas de sangue que são fracionadas, gerando cerca de 4000 hemocomponentes (concentrado de hemácias, plasma fresco, concentrado de plaquetas e crioprecipitado), produtos estes distribuídos a 32 estabelecimentos de saúde de localização estratégica, para garantia da cobertura transfusional necessária na região.

O Hemocentro Regional de Montes Claros atua também como referência ambulatorial a pacientes portadores de hemoglobinopatias e coagulopatias, contando, atualmente, com cerca de 1200 pacientes cadastrados, além de atender a pacientes externos que necessitam de transfusões e sangrias terapêuticas em nível ambulatorial.

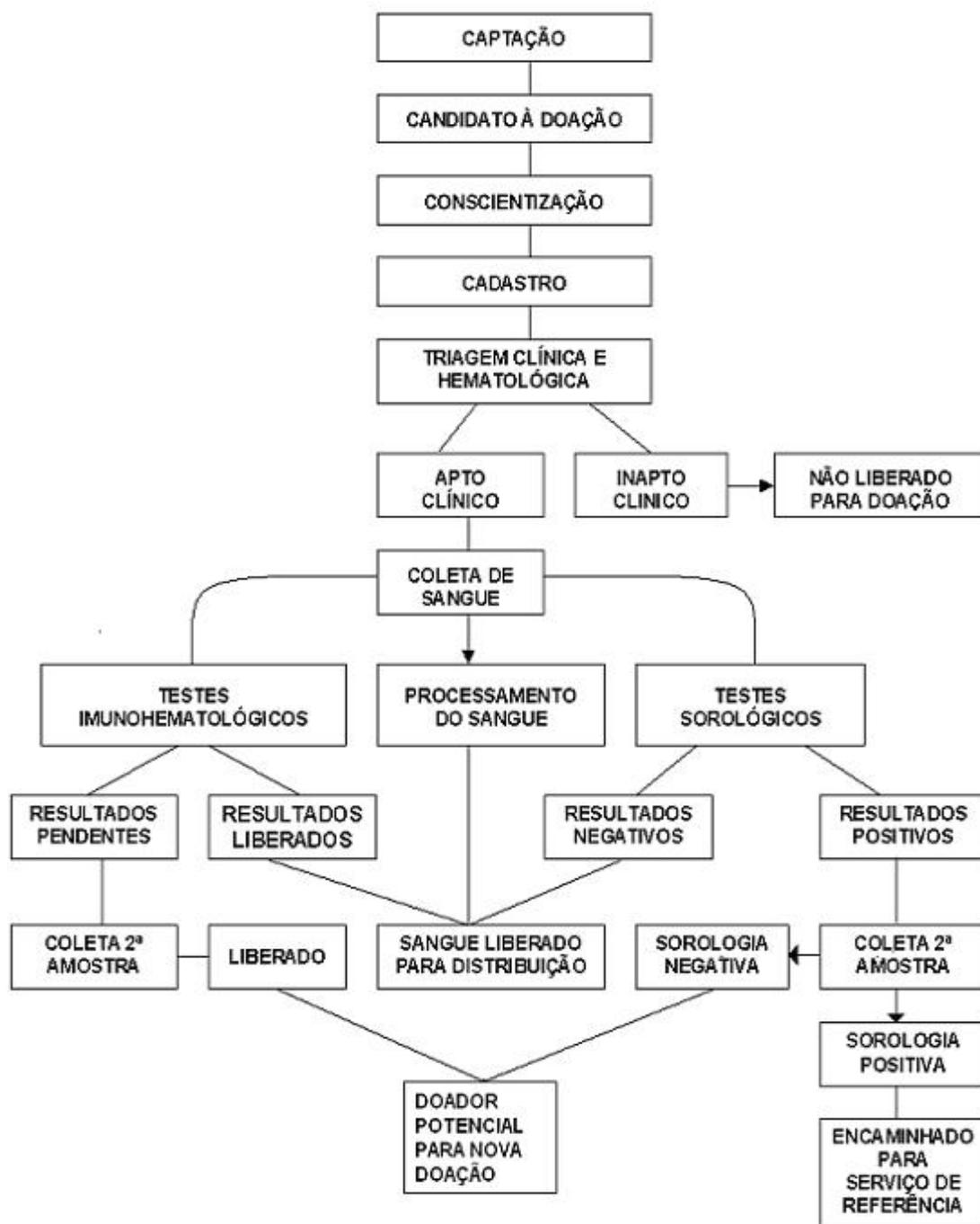


Figura 2: Fluxograma do processo de doação de sangue

O procedimento de conscientização consiste em esclarecer os candidatos à doação de sangue sobre testes realizados, volume coletado, possíveis riscos e cuidados a serem adotados. É obrigatório que seja entregue material informativo sobre as condições básicas para doação e doenças transmissíveis pelo sangue³⁸.

A triagem clínica consiste em entrevista minuciosa sobre a situação de saúde do candidato à doação, avaliando comportamento de risco para doenças transmissíveis pelo sangue. Afere pressão arterial, pulso, temperatura, ausculta cardíaca; verifica a presença de lesões de pele, coloração das mucosas, medidas que visam à proteção da saúde do doador e receptor de sangue. A legislação brasileira permite que a triagem clínica seja realizada por outros profissionais de saúde treinados, sob orientação e supervisão médica³⁸, e o exame de palpação de abdome não é uma exigência formal. Na Fundação Hemominas, a triagem clínica é realizada por médicos e é preconizada a palpação do abdome.

A triagem hematológica é feita através da coleta de amostra de sangue por punção digital, para realização da determinação do hematócrito ou hemoglobina, a fim de evitar que candidatos com anemia ou policitemia doem sangue³⁸.

São preconizados como rotina nos bancos de sangue testes sorológicos para chagas, hepatites B e C, sífilis, HTLV 1 e 2, HIV 1 e 2, além da realização de teste de triagem para detecção de hemoglobina S. Em áreas endêmicas de malária com transmissão ativa, a recomendação de realização de testes para malária depende do índice parasitário anual (IPA) que deve ser observado³⁸.

O uso de filtros de leucócitos (leucodepleção) tem sido recomendado para hemoglobinopatias, anemias hemolíticas hereditárias, história de duas reações febris não hemolíticas, síndromes de imunodeficiências congênitas, transplante de medula óssea, anemia aplástica, leucemia mielóide aguda, doenças onco-hematológicas graves até esclarecimento diagnóstico e para evitar transmissão do citomegalovírus nas seguintes condições: recém nascidos com menos de 1.200 g, filhos de mães citomegalovírus negativas ou com sorologia desconhecida, transfusão intra uterina, gestantes e pacientes HIV positivo com sorologia negativa ou desconhecida^{38 39 40}.

Outro benefício para alguns casos particulares, como recém nascidos prematuros e/ou de baixo peso, imunossuprimidos, pacientes com indicação de transplante de medula óssea ou que já foram transplantados, é o uso de hemácias irradiadas para prevenir doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD)^{38 39 40}.

Os exames imunohematológicos, como os sorológicos, são realizados todas as vezes que o doador efetua doação de sangue, sendo eles classificação sanguínea ABO, RH e pesquisa de anticorpos irregulares. Alguns doadores são fenotipados (estudo de vários antígenos eritrocitários), a fim de formar banco de doadores que possam atender a pacientes com necessidade de sangue fenotipado, alguns com fenótipos raros. O uso do sangue fenotipado é importante para evitar aloimunização, principalmente em pacientes politransfundidos³⁹.

Após realização da triagem clínica e hematológica, os indivíduos que puderem efetuar a doação serão considerados aptos clínicos. Os demais não aprovados para doar sangue serão considerados inaptos permanentes ou

temporários, dependendo da causa da inaptidão. Após efetuada a doação, é coletada amostra para realização de exames sorológicos e imunohematológicos.

As bolsas de sangue total coletadas serão processadas por centrifugação para obtenção dos hemocomponentes, concentrado de hemácias, plasma, plaquetas e crioprecipitado (figura 3). Os diversos componentes produzidos serão identificados e armazenados, aguardando a liberação dos resultados sorológicos e imunohematológicos. Aqueles que apresentarem os testes normais serão liberados para fins transfusionais. O plasma fresco congelado, além das indicações para uso clínico, pode ser destinado à produção de hemoderivados, como concentrados de fatores de coagulação, albumina e globulina. O plasma comum contra indicado para uso clínico, sendo pobre em fatores de coagulação, pode ser utilizado para produção de albumina e globulinas⁴¹ (figura 3).

Doadores que apresentem qualquer alteração nos testes serão convocados para repetirem a coleta de amostra em jejum, visando a realização de novos exames sorológicos ou imunohematológicos, recebendo orientações e encaminhamento aos serviços de referência para esclarecimento diagnóstico, caso persistam com resultados pendentes.

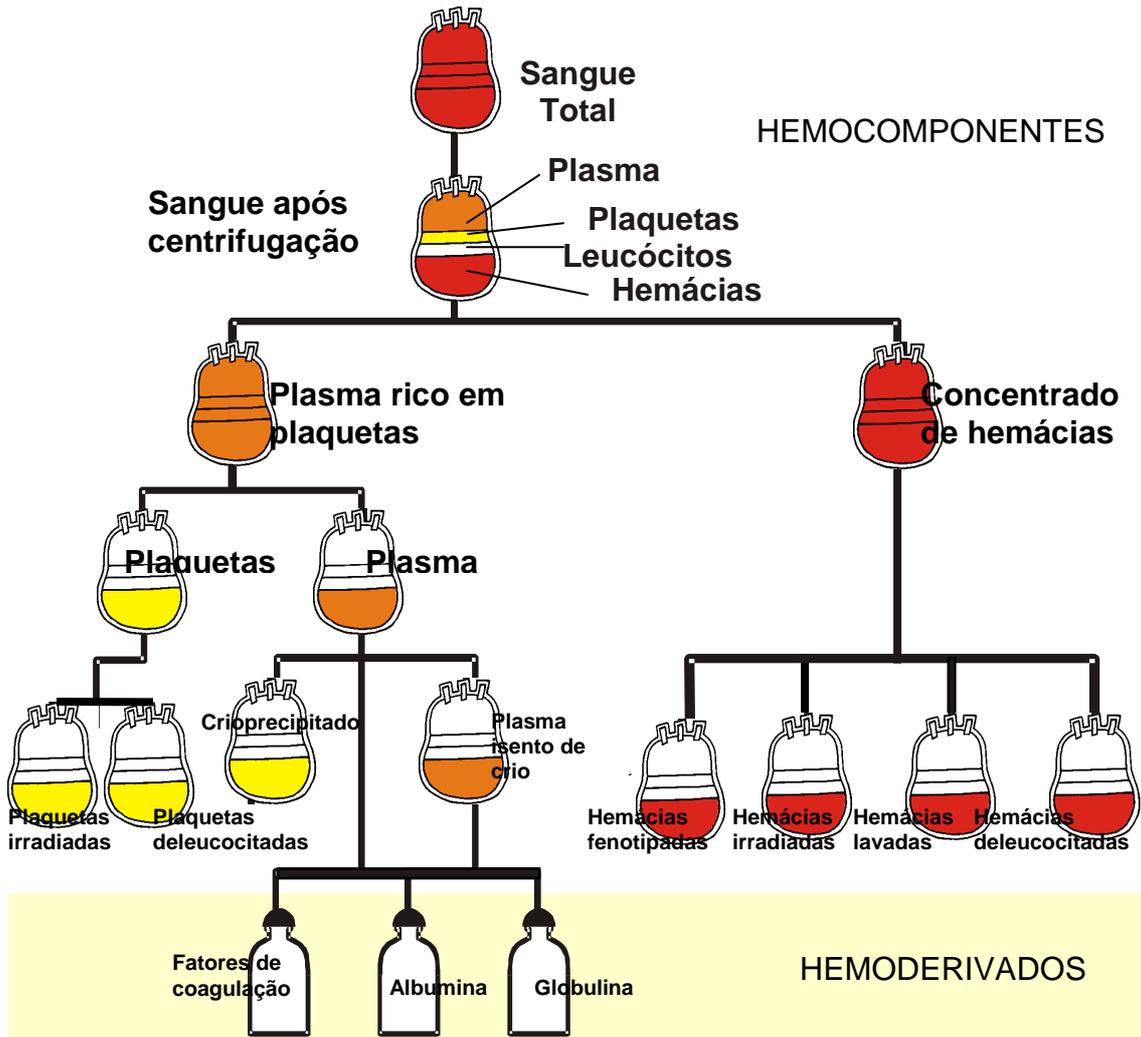


Figura 3: Processamento do sangue

1.5 Pesquisa e Assistência – Unimontes e Hemominas

Diante do contexto da endemicidade, gravidade e expansão da Leishmaniose Visceral no Brasil e da necessidade de estudos sobre o risco de transmissão transfusional da doença, é essencial investir em pesquisas relacionadas à LV no país.

A Universidade Estadual de Montes Claros - UNIMONTES, inserida na macro região norte-mineira, vale do Jequitinhonha e Mucuri, através do Hospital Universitário Clemente Faria, referência regional em Leishmaniose Visceral, tem atuado de maneira decisiva nos campos da pesquisa e assistência aos pacientes com LV. Ações integradas entre a UNIMONTES e a Fundação Hemominas são importantes na geração de novos conhecimentos, maior qualificação dos profissionais e benefícios diretos aos doadores e receptores de sangue e hemoderivados.

Considerando a grande frequência de casos de leishmaniose no Norte de Minas, a gravidade da doença e questionamentos sobre o possível risco de transmissão transfusional, este trabalho pretende estudar a prevalência de adultos infectados, através da avaliação sorológica de doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros - Minas Gerais.

Objetivos

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Estudar a prevalência de adultos infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, no período de 16 de setembro de 2008 a 13 de novembro de 2008.

2.2 Objetivos específicos

- Descrever os doadores com sorologia positiva para leishmaniose de acordo com as variáveis de gênero, faixa etária, local de residência e número de doações já efetuadas.
- Comparar os resultados positivos para imunofluorescência indireta com os resultados obtidos no teste rápido imunocromatográfico Kalazar detect®.
- Comparar os resultados sorológicos da imunofluorescência para leishmania com os resultados da sorologia de chagas (ELISA).

Metodologia

3. METODOLOGIA

3.1 Tipo de estudo

Foi realizado estudo epidemiológico do tipo transversal, com abordagem quantitativa, no período de 16 de setembro a 13 de novembro de 2008, no Hemocentro Regional de Montes Claros.

3.2 População

Doadores de sangue considerados aptos clínicos que se apresentaram para a doação nos dias selecionados para a coleta de dados.

3.3 Amostra selecionada

Foi calculada amostra, considerando prevalência estimada de LV de 3%, erro amostral (precisão) de 1,5% e nível de confiança igual a 95%, obtendo-se um tamanho estimado de amostra de 400 indivíduos, para população aproximada de 2000 candidatos à doação/ mês.

Foi sorteado o dia de início da pesquisa no mês de setembro de 2008, limitando a coleta de amostras ao turno matutino, às terças, quartas e quintas-feiras por questões operacionais dos laboratórios que processariam os testes e para não comprometer o prazo habitual de liberação do sangue, o que poderia impactar nos estoques e prejudicar o atendimento às demandas do serviço. Foram coletadas, inicialmente, dez amostras por dia, para testar o fluxo e tempo de liberação dos resultados. A seguir, estabeleceu-se a meta de 20 a 30 amostras por dia, tendo sido coletadas em média 24 amostras/ dia.

Nos dias selecionados, os candidatos aprovados na triagem clínica e hematológica foram convidados a participar do estudo, após orientações sobre a pesquisa e assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido.

3.4 Procedimentos

Este trabalho faz parte de um projeto maior intitulado “Transmissão da *L.L.chagasi* por transfusão sanguínea: um estudo do potencial de risco transfusional”.

A coleta de amostras para pesquisa sorológica e parasitológica da *L.L.chagasi* em doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros teve início no dia 16 de setembro de 2008. Os candidatos aptos a efetuarem a doação de sangue nos dias selecionados para pesquisa foram convidados a participar, receberam orientações sobre os objetivos e procedimentos propostos e aqueles que concordaram assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

O processo habitual da rotina do banco de sangue foi sistematicamente obedecido, tendo sido coletada amostra adicional para os testes de leishmaniose ao término da doação, sem a necessidade de nova punção venosa. Foram coletados 10 ml de sangue para realização dos testes sorológicos imunofluorescência indireta (RIFI), teste rápido imunocromatográfico Kalazar detect® e citometria de fluxo. A triagem sorológica foi feita pelo método de imunofluorescência indireta para leishmania (Biomanguinhos), com a realização de teste rápido imunocromatográfico dos que apresentaram sorologia positiva para LV, e encaminhada amostra para citometria de fluxo.

As bolsas de sangue daqueles que tiveram resultados positivos para leishmania não foram liberadas para transfusão, sendo retirado o buffy coat (camada de leucócitos), com o fim de realizar cultura para leishmania e PCR (Figura 4).

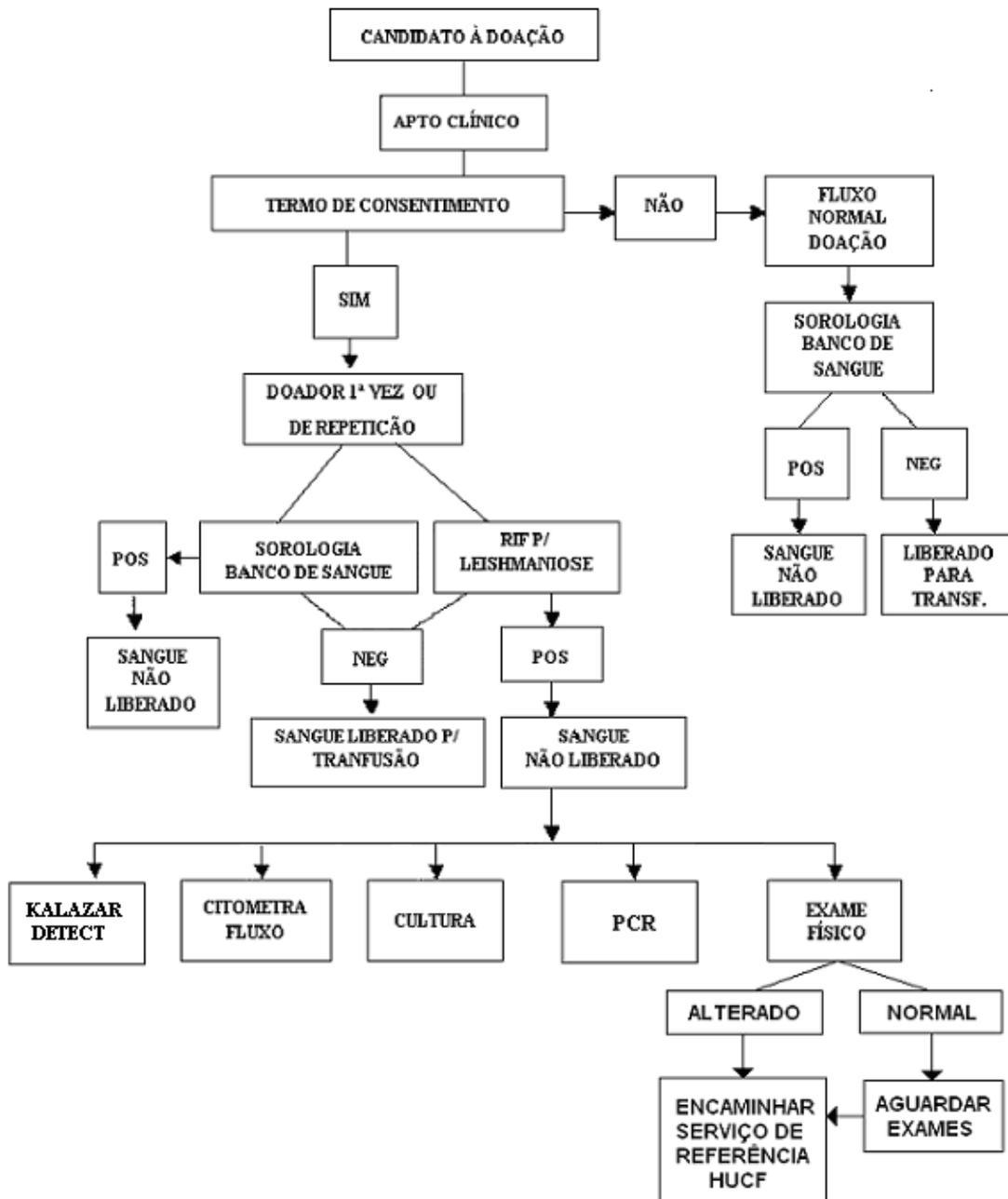


Figura 4: Fluxograma da pesquisa LV

O teste imunofluorescência indireta para leishmania foi realizado no Laboratório Macro-Regional de Saúde Pública-GRS Montes Claros e o teste rápido imunocromatográfico no Hemocentro Regional de Montes Claros. As culturas e citometria de fluxo para leishmania foram encaminhadas ao Centro de Pesquisas René Rachou/FIOCRUZ-Belo Horizonte, para serem processadas e analisadas. A PCR para leishmania será realizada na Fundação Pró Sangue, no Hemocentro de São Paulo.

São apresentados, neste trabalho, os resultados encontrados na triagem sorológica realizada pelo método de imunofluorescência indireta para leishmania (RIFI) e os resultados encontrados nos testes imunocromatográficos Kalazar detect® que foram feitos no soro daqueles que obtiveram resultados positivos na RIFI. Os demais testes (cultura para leishmania, citometria de fluxo e PCR) estão sendo processados e serão discutidos futuramente.

Os resultados dos doadores cujos testes se apresentaram negativos para leishmaniose foram encaminhados via correio e os que apresentaram resultados positivos foram convidados a comparecer ao hemocentro para avaliação clínica, hemograma, contagem de plaquetas e orientações.

Os doadores que apresentaram sorologia positiva serão acompanhados de três em três meses durante dois anos e apresentaram-se assintomáticos na primeira avaliação. Mediante qualquer manifestação clínica sugestiva de LV, serão encaminhados ao serviço de referência do hospital Universitário Clemente Faria/Unimontes.

Foram analisadas 421 amostras de sangue por reação de imunofluorescência indireta (RIFI). Utilizou-se antígeno RIFI – Leishmaniose Humana Bio-Manguinhos (FIOCRUZ). A técnica de imunofluorescência indireta

foi utilizada para detectar anticorpos e complexos imunológicos nestas amostras. A RIFI envolve a formação de um complexo antígeno-anticorpo ligado à fluoresceína conjugada a anticorpo anti-imunoglobina; consiste na reação de soros com os parasitas (leishmania) fixados em lâminas de microscopia. Numa etapa seguinte, utiliza-se um conjugado fluorescente para evidenciar a reação; a leitura foi realizada com auxílio de microscópio que utiliza incidência de luz azul e ultra-violeta, sendo considerados reagentes os soros que apresentaram fluorescência e não reagentes os soros que apresentaram ausência de fluorescência, tomando-se como referência os soros controle positivo e negativo incluídos em cada lâmina. Foram utilizadas formas promastigotas de *L.L.chagasi* e conjugado anti-IgG fluoresceína e consideradas positivas as titulações maiores ou iguais a 1:40, de acordo com a sensibilidade da técnica.

Nas amostras positivas para RIFI, realizou-se o teste Kalazar Detect®, que é utilizado na determinação qualitativa de anticorpos para um antígeno recombinante (rK39) específico para leishmaniose visceral causada por protozoários do complexo *L. donovani*. Foi utilizado o antígeno do Laboratório Inbios Internacional. Trata-se de teste rápido de imunocromatografia em membrana de nitrocelulose pré-coberta por antígeno recombinante rK39, isolada da forma amastigota do parasita, constituída por seqüência de 298 aminoácidos que se repetem 5,5 vezes. Durante o teste, o soro reage com a proteína A conjugada com ouro coloidal (corante) pré-coberto na fita teste. A mistura do soro com o tampão migra, então, para a membrana por ação capilar, para reagir com o antígeno rK39 e gerar uma linha vermelha. A presença desta linha vermelha indica resultado positivo, enquanto que a sua

ausência indica resultado negativo. Independente da presença de anticorpo para o antígeno rK39, a mistura continua a migrar através da membrana para a região imobilizada com anticorpo anti-protéina A, onde uma linha vermelha sempre aparecerá na região do controle. A presença desta linha serve como controle para volume suficiente e fluxo adequado da amostra, assim como controle para o resultado reagente. A leitura do teste rápido foi realizada após 10 minutos, por dois examinadores, apresentando todos os resultados concordantes.

3.5 Critérios de Inclusão

Idade – de 18 a 65 anos.

Doadores de sangue aptos na triagem clínica que compareceram no Hemocentro, no turno matutino, nos dias selecionados, concordaram em participar da pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

3.6 Análise Estatística

Foi feita descrição geral da amostra, considerando as variáveis de gênero, faixa etária, local de residência, número de doações, resultados sorológicos para *leishmania* e para chagas. Os dados foram submetidos a análises estatísticas pelo programa *Statistical Package for the Social Sciences* - SPSS - versão 15.0, para Windows, e estudadas as correlações entre os dados do perfil dos doadores que participaram da pesquisa e os resultados dos testes sorológicos através de testes não paramétricos qui-quadrado (χ^2), χ^2 com tendência linear, teste de Fisher, considerando o nível de significância de 5%.

3.7 Considerações Éticas

Este estudo obedeceu às normas da resolução 196/96 e foi submetido à apreciação do comitê de ética em pesquisa da Fundação Hemominas, registro nº 181, aprovado em 07/04/2008. Todos os indivíduos da amostra foram orientados sobre os procedimentos da pesquisa e apenas os que concordaram e assinaram o termo de consentimento foram incluídos na amostra.

Resultados

4. RESULTADOS

No período em que foi realizado o estudo, 1789 candidatos se apresentaram para doar sangue. Destes, foram considerados aptos na triagem clínica 1178 e obtida amostra de 421 indivíduos que se dispuseram a participar da pesquisa. Dos participantes, 23 apresentaram RIFI positiva para *L.L.chagasi* (tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos participantes do estudo segundo data da coleta e positividade para RIFI, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Data da coleta	Número de doadores aptos	Número de participantes	Número de resultados positivos RIFI
16/09/2008	72	10	00
17/09/2008	66	10	00
23/09/2008	55	10	00
24/09/2008	59	20	00
30/09/2008	84	30	01
01/10/2008	75	20	01
07/10/2008	54	25	01
15/10/2008	59	20	04
21/10/2008	82	20	03
22/10/2008	79	30	02
23/10/2008	66	30	01
28/10/2008	71	20	02
30/10/2008	63	30	00
04/11/2008	60	30	00
05/11/2008	63	30	01
06/11/2008	65	30	02
11/11/2008	39	19	00
13/11/2008	66	37	05
Total	1178	421	23

Podemos considerar que o perfil dos participantes não difere do perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros (tabela 2).

Tabela 2: Perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Variável	Porcentagem
Procedência	
Montes Claros	89,40%
Outros municípios	11,60%
Total	100%
Região	
Urbana	97%
Rural	3%
Gênero	
Masculino	57,90%
Feminino	42,10%
Total	100%
Faixa etária	
18 a 29 anos	55,80%
> 29 anos	44,20%
Número de Doações	
01	30,00%
02 a 10	56,00%
> 10	14,00%
Total	100%

Os participantes foram, em sua maioria, moradores da cidade de Montes Claros/MG (67,9%), procedentes da zona urbana (92,7%), homens (61,3%), com faixa etária de 18 a 29 anos (53%) e número de doações de 2 a 10 (48%) (tabela 3).

Tabela 3: Perfil geral dos participantes do estudo, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Variável	Porcentagem	RIFI positiva
Procedência*		
Montes Claros	67,9%	15 (65,2%)
Outros municípios	32,1%	8 (34,8%)
Total	100%	23 (100%)
Região **		
Urbana	92,7%	23 (100%)
Rural	7,3%	0
Total	100%	23 (100%)
Gênero ***		
Masculino	61,3%	11 (47,8%)
Feminino	38,7%	12 (52,2%)
Total	100%	23 (100%)
Faixa etária ****		
18 a 29 anos	53%	11(47,8%)
> 29 anos	47%	12 (52,2%)
Total	100%	23 (100%)
Número de doações *****		
01	36%	5 (21,7%)
2 a 10	48%	14 (20,9%)
> 10	16%	4 (17,4%)
Total	100%	23 (100%)

* $X^2 = 0,082$; valor - $p = 0,774$

** $p = 0,390$ (teste exato de Fisher)

*** $X^2 = 1,86$; valor - $p = 0,173$

**** $X^2 = 0,258$; valor- $p = 0,611$

***** $X^2 = 2,18$; valor- $p = 0,330$

Em relação aos resultados sorológicos, 5,5% dos participantes apresentaram sorologia positiva para LV, mas nenhum deles foi positivo no Kalazar detect® (tabela 4).

Tabela 4: Descrição dos participantes do estudo segundo resultados da sorologia, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Sorologia	Nº de Participantes	Kalazar detect Positivo	Kalazar detect Negativo
RIFI positivo	23 (5,5%)	0	23
RIFI negativo	398 (94,5%)	-	-
Total	421	0	23

Ao se comparar a sorologia positiva para LV e os resultados sorológicos para Chagas (Elisa), observou-se que apenas 2 candidatos foram positivos em ambos os testes. Porém, 21 negativos para Chagas foram positivos para LV (tabela 5).

Tabela 5: Comparação entre a sorologia para Chagas e RIFI para LV, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Chagas (Elisa)	LV (RIFI)		Total
	Negativo	Positivo	
Negativa	398	21 (91,3%)	419 (99,5%)
Positiva	0	2 (8,7%)	2 (0,5%)
Total	398 (100%)	23 (100%)	421 (100%)

p= 0, 003 (teste exato de Fisher)

Observou-se ainda que os dois positivos para chagas, apresentaram maior titulação para LV (1:80 e 1:160) conforme tabela 6.

Tabela 6: Comparação entre sorologia Chagas e titulação RIFI para LV, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

LV (RIFI Positivo)	Chagas		
	Negativo	Positivo	Total
01:40	20 (95,2%)	0	20 (87%)
1:80	01 (4,8%)	01 (50%)	02 (8,7%)
1:160	0	01 (50%)	01 (4,3%)
Total	21 (100%)	02 (100%)	23 (100%)

Todos os doadores com RIFI positiva para *Leishmania* apresentavam-se assintomáticos na primeira avaliação.

Discussão

5. DISCUSSÃO

As doenças transmissíveis por transfusão relacionam-se a infecções que podem se tornar crônicas e levar os indivíduos infectados a um estado de portadores assintomáticos. Assim, os serviços de hemoterapia precisam adotar um conjunto de medidas preventivas de segurança, como educação da população sobre o ato de doar sangue, realização de triagem clínica e epidemiológica dos candidatos a doadores, realização de exames laboratoriais que visem à redução do risco de transmissão de doenças⁴². O conhecimento da existência de janela imunológica (tempo entre o contato com o agente infeccioso e o desenvolvimento de anticorpos em níveis detectáveis nos testes sorológicos) deve ser sempre esclarecido, com o fim de coibir a doação de sangue de pessoas que porventura busquem, indevidamente, resultados de exames sorológicos para situações de risco. Outra consideração importante é o fato de que os testes utilizados para triagem de doadores possuem alta sensibilidade³⁸, produzindo, muitas vezes, resultados falsos positivos, não sendo, portanto, realizados com finalidade de diagnóstico de doenças e, sim, como método de triagem e proteção ao receptor.

No Brasil, são efetuadas anualmente cerca de 3 milhões de doações de sangue, sendo ainda freqüentes problemas de desabastecimento⁴². De acordo com a OMS, para um país manter os estoques de sangue e derivados regularizados, é ideal que 2,5% da população seja doadora de sangue. Todavia, o percentual de doadores brasileiros é de apenas 1,7% por ano, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Vale ainda ressaltar que temos em nosso país uma demanda reprimida de

procedimentos de alta complexidade, que, se corrigida, levaria a um consumo ainda maior de sangue.

A indicação adequada dos hemocomponentes^{39 41 43} e o conhecimento das possíveis alternativas que possam evitar exposição ao sangue são medidas prioritárias que visam reduzir os riscos relacionados à prática transfusional.

Apesar dos avanços tecnológicos na busca de substitutos do sangue humano, ainda não existem produtos que o substituam por completo. A qualidade intrínseca, segurança, durabilidade, eficácia, fácil obtenção e produção têm sido perseguidas em várias pesquisas. Porém, no momento, os esforços devem ser concentrados na criação de *pool* de doadores estáveis (menor risco de janela imunológica), no aprimoramento de técnicas para seleção de doadores que envolvem triagem clínica e sorológica, no uso do sangue autólogo sempre que possível e, ainda, na indicação precisa dos vários componentes sanguíneos⁴².

Evitar o risco de doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue é um desafio constante para os serviços de hemoterapia. Vários patógenos (citomegalovírus, Epstein-Barr, parvovírus B19) não pesquisados nas rotinas dos bancos de sangue⁴⁴, além de doenças emergentes (gripe aviária, virose do Oeste do Nilo, forma variante da doença de Creutzfeldt-Jacob) que poderiam afetar os receptores ou o aporte de doadores, precisam ser pesquisados quanto ao risco e impacto na segurança transfusional e, se necessário, considerados nas estratégias da política do sangue do país⁴⁵.

A leishmaniose visceral compõe este grupo de doenças em que o potencial de transmissão transfusional e sua relevância ainda não se encontram bem esclarecidos⁴⁴.

O presente estudo foi um primeiro passo para conhecermos no cenário da região norte mineira, área endêmica de LV, a sua prevalência entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros - Fundação Hemominas, no período de 16/09/08 a 13/11/08.

Os doadores que participaram da pesquisa foram em sua maioria homens jovens e residentes na zona urbana, coincidindo com o perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro.

A prevalência observada de 5,5%, pelo método RIFI, também está compatível com o que tem sido relatado em estudo populacional em Minas Gerais. Moreno ao testar 1604 moradores na população geral de Sabará/ MG, encontrou 2,4 a 5,6% de prevalência de infecção dependendo do teste sorológico empregado^{46 47}. No Maranhão verificou-se prevalência de infecção de cerca de 19,7% pelo método ELISA-CRUDE, 19,4% ELISA rk 39 e 61,7% pela intradermorreação de Montenegro⁴⁸. Outro estudo realizado no Pará constatou 12,6% de prevalência da infecção por LV na comunidade ao associar os resultados da intradermorreação de Montenegro e RIFI⁴⁹.

No presente estudo, nenhum dos participantes RIFI positivos apresentou positividade no Kalazar detect®. Estudos anteriores apontam para baixa sensibilidade deste exame em indivíduos assintomáticos^{46 50} semelhante aos resultados encontrados neste trabalho.

No Brasil, o Kalazar detect®, quando aplicado em cães de área endêmica, a sensibilidade foi de 92% e a especificidade de 99,5%. Entretanto,

o teste não foi capaz de detectar infecções nos animais com título baixo de RIFI (1:40 a 1:320)⁵¹.

Estudo realizado em 2003 com 128 pacientes de Montes Claros/MG e Vitória/ES verificou 90% de sensibilidade e 100% de especificidade pelo método Kalazar detect®, demonstrando sua acurácia no diagnóstico de indivíduos doentes³⁵. Achado reforçado em pesquisa recente para validação do teste IT-LEISHH® (sensibilidade 93% e especificidade 97%) realizada no Maranhão, Piauí, Bahia e Minas Gerais.³⁴

Segundo pesquisa realizada em Sabará utilizando a hibridização como teste de referência, a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos foram respectivamente: 24,8 e 71% (ELISA); 26,3 e 76,3% (rk39 - ELISA); 30,1 e 63,4% (IFAT)⁴⁶, demonstrando a necessidade de estudos que esclareçam melhores métodos e procedimentos no estudo da infecção por LV em assintomáticos.

Dos vinte e três doadores RIFI positivos neste estudo, dois foram positivos no teste Elisa Chagas. Sabe-se que existe a possibilidade de reações cruzadas da RIFI para *Leishmania* com vários patógenos, inclusive com chagas^{52 53}, o que poderia explicar a positividade dos exames destes dois participantes. Entretanto, não podemos afastar a possibilidade de associação das duas sorologias positivas. A constatação de que 21 dos positivos na RIFI para LV foram negativos para Elisa Chagas nos permite mencionar que a sorologia para chagas não tem sido suficiente para também detectar a positividade para *Leishmania* na triagem sorológica de doadores de sangue. Com a melhor performance dos Kits utilizados para sorologia de chagas,

reduzindo as reações cruzadas, podemos estar deixando de detectar outros patógenos (inclusive a *Leishmania*).

O risco de transmissão transfusional da LV não fica esclarecido neste trabalho, pois a simples sorologia positiva não implica na presença da *Leishmania* viável no sangue periférico, além de não esclarecermos sobre a sua viabilidade após processamento e estocagem dos hemocomponentes. Porém também não é possível afastar este risco potencial.

Diante deste fato, é de fundamental importância discutir as implicações técnicas e éticas, uma vez que, embora a legislação não determine que a leishmaniose visceral deva ser testada em bancos de sangue, o conhecimento de uma sorologia positiva impõe aos técnicos a exclusão desta bolsa. Mediante a situação atual de expansão da leishmaniose e a ineficácia no controle da doença, cabe questionar e implementar pesquisas que respondam de maneira consistente sobre o potencial risco de transmissão transfusional em áreas endêmicas.

A legislação atual da hemoterapia Brasileira³⁸ trata de maneira genérica, no item B 5.2.6, sobre as doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue e considera inaptos permanentes os candidatos a doação que já tiveram história de LV. Na Fundação Hemominas, além de considerar inapto definitivo o doador com passado ou sintoma da doença, tem sido preconizado na rotina da triagem o exame de palpação abdominal, o que não implica na prevenção da transmissão da doença em indivíduos assintomáticos.

Estudo na França verificou que a leucodepleção pode ser uma boa medida para evitar a transmissão transfusional da LV. Ao retirar os leucócitos do sangue, estes filtros retêm patógenos intracelulares e segundo este estudo

parecem eficazes para reter leishmania²⁹. Achado confirmado por outra pesquisa que verificou, após duas semanas de estocagem do sangue, a eficácia deste método para reduzir o risco transfusional⁵⁴. Os filtros de leucócitos já são utilizados para evitar transmissão do citomegalovírus em pacientes de risco, além de outras indicações clínicas^{39 40}.

O impacto na segurança transfusional, nos estoques de sangue e, conseqüentemente, na saúde dos receptores em áreas endêmicas, deve nortear sempre as estratégias adotadas para evitar os riscos de transmissão de doenças. Não existe definição ou consenso sobre quais as melhores medidas a serem adotadas, nem certeza da significância da transmissão da LV. Testar a filtração do sangue no ato da coleta pode ser uma alternativa, assim como a possibilidade de implementar sorologia em áreas endêmicas, associar sorologia e uso de filtros de leucócitos, eleger populações de maior risco (crianças, imunossuprimidos) para serem beneficiados por medidas de prevenção da LV. Todas estas possíveis medidas merecem maiores discussões, se considerado relevante o risco de transmissão transfusional da doença.

O impacto da sorologia positiva para LV detectada neste estudo, cuja prevalência foi de 5,5% pelo método RIFI, seria de grande repercussão nos estoques de sangue que abastecem nossa população. Conhecer bem quais os melhores recursos diagnósticos para o estudo de assintomáticos é essencial para assegurarmos triagem adequada sem prejuízo do atendimento.

Devemos reforçar que a LV é uma doença grave, em que a evolução depende da resposta imunológica individual e que indivíduos imunossuprimidos apresentam maior risco de progressão e gravidade da doença.

A gestão de tantas variáveis, que implicam em riscos, inovações, custo e benefício, estoque estratégico, saúde de seres humanos, além das constantes possibilidades de transmissão de várias doenças ainda não conhecidas ou testadas na prática, é o maior estímulo para justificar e intensificar o desenvolvimento de pesquisas em nosso país. O cidadão que, hoje, necessita de transfusão de sangue, merece todo respeito, segurança e qualidade dos produtos e serviços, lembrando que aquele que hoje doa sangue, amanhã poderá vir a precisar deste gesto de desprendimento e solidariedade, capaz de salvar vidas.

Conclusão

6. CONCLUSÃO

Foi considerada a ocorrência da infecção humana assintomática por *L.L.chagasi* em amostra de doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros/MG. A prevalência encontrada foi de 5,5% pelo método imunofluorescência indireta (RIFI). Ao correlacionar os resultados da imunofluorescência com as variáveis gênero, faixa etária, procedência e número de doações, foram encontrados resultados de $p > 0,005$, portanto, sem significância estatística. Ao testar os positivos pelo Kalazar detect®, todos apresentaram resultados negativos, reforçando a baixa sensibilidade deste teste no estudo de indivíduos assintomáticos. Na correlação verificada entre a sorologia de chagas e a imunofluorescência indireta, foi encontrado $p = 0,003$, demonstrando-se, assim, significativa associação entre as duas sorologias, o que permite fazer inferência populacional.

A sorologia positiva para LV não significa a presença do parasita viável no sangue, o que implicaria em risco de transmissão transfusional. Porém, mediante os resultados encontrados e os questionamentos que apontam para este fato, faz-se necessário pesquisar este risco e possíveis medidas a serem implementadas nas rotinas dos serviços de hemoterapia.

Referências

7. REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Strategic Direction for Research – Leishmaniasis [monograph on the Internet]. Geneva: (WHO); 2005 [cited 2008 Dec. 15]. Available from: <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/direction.htm>.
2. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol. 2004;7(3):338-49.
3. Drugs for Neglected Diseases Initiative – Leishmaniasis.(citado em 2008 out). Disponível em: <http://www.dndi.org.br/Portugues/leismaniose.aspx>.
4. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2003;122p.
5. Ministério da Saúde. Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2006;60p.
6. Badaró R.; Jones TC, Lorenço R, Cerf BJ, Sampaio D, Carvalho EM, Rocha H, Teixeira R, Johnson Jr. WD. A prospective study of visceral leishmaniasis in an endemic area of Brazil. J Infect Dis 1986;154:639-49.
7. Badaró R. Progressos nas pesquisas de leishmaniose visceral em Jacobina, Bahia. Rev Soc Bras Med Trop 1988;21:159-64.
8. Nascimento MDSB. Epidemiologia da leishmaniose visceral na Ilha de São Luís-Maranhão, Brasil: análise da dinâmica da transmissão e dos fatores de risco relacionados ao desenvolvimento da doença [Tese de Doutorado]. São Paulo: Escola Paulista de Medicina, Universidade Federal de São Paulo; 1996.
9. Costa JML, Viana GMC, Saldanha ACR, Nascimento MDSB, Alvim AC, Burattini MN, *et al*. Leishmania visceral no Estado do Maranhão. A evolução de uma epidemia. Cad Saúde Pública 1995;11:321-4.
10. Ministério da Saúde (Brasil). Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose Visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. Boletim Epidemiológico 2001;6:1-11.

11. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sinan. Brasília: Ministério da Saúde. [citado 25 out 2007]. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sinanweb>.
12. Secretaria de Vigilância em Saúde. Brasília: Ministério da Saúde. [citado 12 dez 2007]. Disponível em: <http://dtr2004.saude.gov.br>.
13. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sinan. Brasília: Ministério da Saúde. [citado out 2008, jan 2009]. Disponível em: <Http://www.saude.gov.br/sinanweb>.
14. Tesh RB. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? *Am J Trop Med Hyg.* 1995;52:287-292.
15. Costa CHN, VJBF. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34: 223-8.
16. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R. *The Leishmaniasis in Biology and Medicine.* Vol. 1. London: Academic Press;1987. p. 1-120.
17. Pearson RD, Sousa AQ, Jeronimo SMB. Leishmania species: visceral (Kala-azar), cutaneous, and mucosal leishmaniasis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. *Principles and Practice of Infectious Diseases.* New York: Churchill Livingstone; 2000. p. 2831-45.
18. Deane LM. *Leishmaniose Visceral no Brasil.* Serviço Nacional de Educação Sanitária. Rio de Janeiro;1956.
19. Lainson R, Dye C, Shaw JJ, Macdonald DW, Courtenay O, Souza AA *et al.* Amazonian visceral leishmaniasis – Distribution of the vector *Lutzomyia longipalpis* (Lutz and Neiva) in relation to the fox *Cerdocyon thous* (Linn.) and the efficiency of this reservoir host as a source of infection. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990;85:135-7.
20. Silva ES, Pirmez C, Gontijo CMF, Fernandes O, Brazil RP. Visceral leishmaniasis in a crab-eating fox (*Cerdocyon thous*) in south-east Brazil. *Vet Rec.* 2000;147:421-2.
21. Sherlock IA, Miranda JC, Sadigursky M, Grimaldi Junior G. Natural infection of the opossum *Didelphis albiventris* (Marsupialia: Didelphidae) with *Leishmania donovani* in Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1984;79:511.

22. Cabrera MAA, Paula AA, Camacho LAB, Marzochi MCA, Xavier SC, Silva AV *et al.* Canine visceral leishmaniasis in Barra de Guaratiba, Rio de Janeiro, Brazil: assessment of risk factors. *Rev Inst Trop S Paulo* 2003;45:79-83.

23. Herwaldt Bárbara L. Laboratory-Acquired Parasitic Infections from Accidental Exposures. *Rev Clin Microbiol.* 2001;14(4):659-88.

24. Michalick Marilene SM. Gênero *Leishmania*. In: Neves David P, Melo Alan L, Vitor Ricardo WA. *Parasitologia Humana*. 11ª Edição. São Paulo: Atheneu; 2005. p. 41-83.

25. Low GC, Cooke W.E. *Lancet.* 1960;11:1209.

26. Luz KG, da Silva VO, Gomes EM, Machado FC, Araujo MA, Fonseca HE, *et al.* Prevalence of anti-*Leishmania donovani* antibody among Brazilian blood donors and multiply transfused hemodialysis patients. *Am J Trop Med Hyg.* 1997; 57(2):168-71.

27. Fichoux Yves le, Quaranta Jean-François, Aufeuvre Jean-Pierre, Lelievre Alain, Marty Pierre, Suffia Isabelle *et al.* Occurrence of *Leishmaniose infantum* parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. *J Clin Microbiol.* 1999;37(6):1953-7.

28. Otero AC, da Silva VO, Luz KG, Palatnik M, Pirmez C, Fernandes O, Palatnik de Souza CB. Short report: occurrence of *leishmania donovani* DNA in donated blood from seroreactive Brazilian blood donors. *Am J Trop Med Hyg.* 2000; 62(1):128-31.

29. Kyriakou DS, Alexandrakis MG, Passam FH, Kourelis TV, Foundouli P, Matalliotakis E, Maniatis AN. Quick detection of *leishmania* in peripheral blood by flow cytometry. Is prestorage leucodepletion necessary for leishmaniasis prevention in endemic areas? *Rev Transfus Med.* 2003;13(2):59-62.

30. Cardo LJ. *Leishmania*: risk to the blood supply. *Rev Transfusion Med.* 2006 Sep;46(9):1641-5.

31. Delgado O, Feliciangeli MD, Coraspe V, Silva S, Perz A, Arias J. Value of a dipstick based on recombinant rK39 antigen for differential diagnosis of American visceral leishmaniasis from other sympatric endemic diseases in Venezuela. *Parasite.* 2001;8:355-7.

32. Cunha DES. Análise do uso de frações antigênicas de *Leishmania sp* no diagnóstico imunológico da *Leishmania Visceral* e diagnóstico imunológico da *Leishmaniose Visceral* utilizando antígeno recombinante K39 através das técnicas de elisa e particle gel immunoassay-pagia (dissertação). Belo Horizonte: Centro de pesquisas René Rachou; 2001.
33. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2002; 9:951-8.
34. Assis Tália SM, Braga ASC, Pedras MJ, Barral AMP, Siqueira IC, Costa CHN *et al*. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da leishmaniose visceral humana. *Rev Epidemiol Serv Saúde*. 2008 ;17(2):107-16.
35. Carvalho SFG, Lemos ME, Corey R, Dietze R. Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis. *Am J. Trop Med. Hyg* 2003;68(3):321-4.
36. Carvalho NAV, Rocha RDR, Gontijo CMF, Reis AB, Martins-Filho OA. Citometria de fluxo no diagnóstico da leishmaniose visceral canina. *Arq Bras Med Vet Zootec*. 2006;58(4):480-8.
37. Carvalho SFG, Dierze R. Leishmaniose Visceral – Calazar. In: Cimerman S, Cimerman B (Org.). *Rev Med Trop*. 2003;1(1):65-84.
38. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 153 de 14/06/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.
39. Ministério da Saúde. Guia para uso de hemocomponentes. Secretaria de Atenção à saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde;2008;140p.
40. Razouk FH, Reiche EMV. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2004;26(2):126-134.
41. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 10 de 23/01/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.

42. Cliquet MG. Substitutos do Sangue. In: Bordin JO, Langli J, Dante M, Covas DT. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007. p. 593-9.

43. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 129 de 24/05/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.

44. Proietti ABFC, Lopes MSN, Urias EVR. Outras Doenças Infecciosas Transmissíveis pelo Sangue. In: Bordin JO, Langli J, Dante M, Covas DT. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007. p. 613-8.

45. Angulo IL. Infecções Emergentes de Importância Transfusional. In: Bordin JO, Langli J, Dante M, Covas DT. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007. p. 613-8.

46. Moreno EC, Melo MN, Antunes CMF, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR *et al.* Diagnóstico da leishmaniose visceral humana assintomática em uma área urbana do Estado de Minas Gerais, usando métodos sorológicos e biologia molecular. Rev Soc Bras Med Trop. 2006;39(5):421-7.

47. Moreno EC, Melo Maria N, Genaro O, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR, *et al.* Fatores de risco para infecção por *Leishmania chagasi* em uma área urbana do Estado de Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(6).

48. Nascimento MDSB, Souza EC, Silva LM, Leal PC, Cantanhede KL, Bezerra GFB *et al.* Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermorreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. Cad Saúde Pública. 2005;21(6):1801-7.

49. Filho MSR, Silveira FT. Epidemiologia, clínica e imunologia da infecção humana por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em area endemica de leishmaniose visceral no Pará. Rev Para Med. 2007;31(3):7-18.

50. Braz RFS, Nascimento ET, Martins DRA, Wilson ME, Pearson RD, Reed SG *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. Am Trop Med Hyg. 2002;67(4):344-8.

51. Genaro O, Costa RT, França SJC, Reis AB, Vieira EP, Arias JR *et al.* Evaluation of an immunochromatographic assay for the diagnosis for dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania chagasi* in Brazil. *Acta Parasitol Turcica*. 1997 21 Supplement 1:93.
52. Abramo C, Fontes CJ, Krettli Au. Cross-reactivity between antibodies in the sera of individuals with leishmaniasis, toxoplasmosis, and Chagas disease and antigens of the blood-stage forms of *Plasmodium Falciparum* determined by indirect immunofluorescence. *Am J Trop Med Hyg*. 1995;53(2):202-5.
53. Griemberg G, Ferrarotti NF, Svibel G, Ravelli MR, Taranto NJ, Malchiodi EL *et al.* Immunofluorescence assay with *Crithidia luciliae* for the detection of anti-DNA antibodies. Atypical images and their relationship with Chagas' disease and leishmaniasis. *Medicina (B. Aires)*. 2006;66(1):3-8.
54. Cardo LJ, Salata J, Harman R, Mendez J, Weina PJ. Leukodepletion filters reduce *Leishmania* in blood products when used at collection or at the bedside. *Transfusion*. 2006;46(6):896-902.

Produtos alcançados

Artigo 1

Artigo submetido e aprovado em 23 de fevereiro de 2009 para publicação na Revista da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia - nº 363.

Prevalência de adultos infectados por *Leishmania (Leishmania) chagasi* entre doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros

Prevalence of adults infected by L.L.chagasi among the donors of blood of the

Hemominas Foundation in Montes Claros, Minas Gerais

Elaine Veloso Rocha Urias*, Silvio Fernando Guimarães de Carvalho**, Cláudia Di Lorenzo Oliveira*, Maria de Lourdes Martins Carvalho*, Leandro de Freitas Teles*, Murilo Costa Rodrigues*** & Caroline Nogueira Maia*

* Fundação Hemominas

** Universidade Estadual de Montes Claros

*** Laboratório Macro Regional de Saúde Pública GRS/Montes Claros

Endereço para correspondência:

Dra. Elaine Veloso Rocha Urias

Fundação Hemominas/Hemocentro Regional de Montes Claros

Rua Urbino Viana, 640, Vila Guilhermina, Montes Claros, MG, CEP 39400-087

Fone/fax: (38) 3212-6777

E-mail: moc.gtecnica@hemominas.mg.gov.br

RESUMO

Objetivos: Estudar a prevalência de adultos infectados por *L:L.chagasi* entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros/MG. **Métodos:** Estudo epidemiológico, transversal e quantitativo, realizado no período de 16/09/08 a 13/11/08. Participaram da pesquisa 421 doadores aptos na triagem clínica, sendo realizada imunofluorescência indireta para *L.L.chagasi*. Aqueles que apresentaram resultados positivos foram submetidos ao teste rápido imunocromatográfico Kalazar detect®. A análise das variáveis gênero, faixa etária, procedência, número de doações, resultados sorológicos para leishmaniose e chagas; foi realizada pelos testes estatísticos qui-quadrado (χ^2), χ^2 com tendência linear e teste Fisher. Foi considerado o nível de significância de 5%. **Resultados:** O perfil da amostra foi semelhante ao perfil geral dos doadores. Os participantes, em sua maioria procedentes da zona urbana (92,7%), residentes em Montes Claros (67,9%), homens (61,3%), com faixa etária de 18 a 29 anos (53%). Em relação aos resultados sorológicos, 23 (5,5%) apresentaram positividade para RIFI e nenhum destes foi positivo no Kalazar detect®. Ao comparar os resultados da imunofluorescência indireta para Leishmaniose (LV) e a sorologia Elisa chagas, dois foram positivos para ambos os testes, sendo demonstrada correlação estatística significativa ($p=0,003$). Porém 21 foram positivos para LV e negativos para chagas. **Conclusão:** Os resultados permitiram conhecer a prevalência da infecção por *L.L.chagasi* em indivíduos assintomáticos, adultos, doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros/MG e apontam para a necessidade de maiores estudos quanto ao possível risco de transmissão transfusional da doença.

Palavras-chave: Leishmaniose visceral, doadores de sangue, assintomáticos.

ABSTRACT

Objectives: To study the prevalence of adults infected by *L.L.chagasi* among the donors of blood of the Hemominas Foundation in Montes Claros, Minas Gerais. **Methods:** Epidemiological study, transverse and quantitative, accomplished from September 16, 2008 to November 13, 2008. 421 subjects were sampled. The *L.L.chagasi* Indirect immunofluorescence test (RIFI) was run. The donors that presented positive results in RIFI were tested by the fast immunochromatographic test Kalazar detect®. The variables of gender, age, origin, number of donations, leishmania and chagas disease serum results; being studied the statistical correlations by the chi-square tests (χ^2), χ^2 with lineal tendency and Fisher test, the level of significance of 5% was considered with 95% of trust ($p < 0,05$). **Results:** The profile of the sample was similar to the donors' general profile. The participants were mostly donors from the urban area (92,7%), living in Montes Claros (67,9%), men (61,3%), between 18 and 29 years old. In relation to the serum results 23 (5,5%) presented a positive result for RIFI and none of them was positive in Kalazar detect®. When comparing the results of RIFI and the serum of chagas disease (Elisa), two were positive for both tests, demonstrating significant statistical correlation ($p=0,003$). But 21 were positive for LV and negative for chagas disease. **Conclusion:** The results have shown the prevalence of infection by *L.L.chagasi* in asymptomatic, adult and donors of blood subjects of the Hemominas Foundation in Montes Claros, Minas Gerais and point the need of further studies in the possible risk of transmission of the disease via blood transfusion.

Key-words: Visceral Leishmaniose, blood donors, asymptomatic.

Introdução

A leishmaniose visceral (LV) é apontada como doença de alta incidência, ampla distribuição, em expansão e com característica de urbanização atingindo grandes centros. Nos últimos 20 anos em várias cidades brasileiras, no Nordeste (São Luis, Natal, Aracaju), Norte (Boa Vista e Santarém), Sudeste (Belo Horizonte e Montes Claros) e Centro Oeste (Cuiabá e Campo Grande) têm sido registradas epidemias de LV¹ Devido a grande expansão geográfica, aumento do número de casos no cenário mundial, a gravidade da doença e o pouco interesse da grande indústria farmacêutica em desenvolver pesquisas na área, a leishmaniose visceral tem sido considerada pela Organização Mundial de Saúde como uma doença negligenciável, o que a coloca na situação de doença a ser priorizada pelos governos locais². Atualmente 65 países têm casos registrados e acomete todos os continentes, exceto a Oceania¹. A leishmaniose

visceral ou calazar é transmitida ao homem pela picada da fêmea do mosquito flebotomíneo *Lutzomyia longipalpis* infectado pela *Leishmania Leishmania chagasi*, forma encontrada no Brasil^{4 5}. As manifestações clínicas da doença podem variar de formas oligossintomáticas a graves. A resposta imunológica do homem à infecção ainda não está claramente definida^{6 7}. A LV se caracteriza por febre, hepatoesplenomegalia, palidez, pancitopenia, hipergamaglobulinemia e hipoalbuminemia, sendo freqüentes complicações infecciosas e hemorrágicas⁸.

O programa de controle da LV no Brasil baseia-se atualmente em três estratégias básicas: detecção e tratamento dos casos humanos, controle dos reservatórios domésticos e controle dos vetores^{9 10}. A transmissão através de transfusão sanguínea, embora possível do ponto de vista teórico, ainda não possui comprovação científica e os trabalhos publicados são contraditórios^{11 12 13 14 15 16}. A legislação brasileira de hemoterapia, RDC nº 153 de 2004, preconiza como rotina nos bancos de sangue testes sorológicos para chagas, hepatites B e C, sífilis, HTLV 1 e 2, HIV 1 e 2; não sendo recomendada sorologia para LV¹⁷. São notificados, em média, 3.374 novos casos por ano em nosso país e a incidência é de dois casos a cada 100.000 habitantes¹⁸. A região Nordeste é responsável pela grande maioria dos casos (52,9%) destacando o Maranhão como primeiro estado de maior freqüência e a região Sudeste representa 18,5% dos casos notificados¹⁹. Testes sorológicos para leishmaniose visceral apresentam boa sensibilidade. No Brasil, os mais utilizados são a imunofluorescência indireta (RIFI), considerada reagente, quando apresenta títulos iguais ou superiores a 1:80 e ELISA²⁰. A RIFI expressa os níveis de anticorpos circulantes apresentando sensibilidade de 84,61% até 100%²¹ e especificidade de 82,9%²². Uma das principais limitações da técnica é a ocorrência de reações cruzadas com leishmaniose tegumentar, chagas, malária, esquistossomose e tuberculose pulmonar²³. O teste rápido imunocromatográfico

(Kalazar detect®) apresenta sensibilidade de 67 (Sudão) a 100% (Índia). Diferenças na resposta imunológica em grupos distintos podem explicar esta variabilidade. Este teste baseia-se na reação do soro ou sangue do paciente com o antígeno K39 fixado em papel. Pode apresentar reação cruzada com malária, febre tifóide e tuberculose. Trata-se de teste de fácil execução e interpretação agilizando os resultados². O objetivo deste estudo foi verificar a prevalência de adultos infectados por *Leishmania Leishmania chagasi* entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, área endêmica de LV. Em relação aos resultados sorológicos 5,5% dos participantes apresentaram sorologia positiva para LV, mas nenhum deles foi positivo no Kalazar detect®.

Desenho e Métodos

Foi realizada estudo epidemiológico do tipo transversal com abordagem quantitativa no período de 16 de setembro a 13 de novembro de 2008 no Hemocentro Regional de Montes Claros em doadores de sangue considerados aptos clínicos segundo a RDC nº 153. Calculou-se uma amostra considerando prevalência estimada de LV de 3%, erro amostral (precisão) de 1,5% e nível de confiança igual a 95%, obtendo-se um tamanho amostral de 400 indivíduos para população aproximada de 2000 doadores/mês. Participaram da pesquisa 421 indivíduos, sendo coletada amostra de 10mL de sangue para realização dos testes sorológicos. Realizou-se triagem sorológica para LV dos doadores pelo método de imunofluorescência indireta para *Leishmania* (Biomanguinhos). Aqueles que apresentaram resultados positivos foram submetidos ao teste rápido imunocromatográfico (Kalazar Detect TM Rapid Test, Inbios International, Inc) e as bolsas de sangue destes doadores não foram liberadas para transfusão. O teste imunofluorescência indireta para *Leishmania* foi realizado no Laboratório Macro

Regional de Saúde Pública GRS/Montes Claros e o Kalazar detect® foi realizado no Hemocentro Regional de Montes Claros.

Resultados

No período em que foi realizado o estudo 1789 candidatos se apresentaram para doar sangue. Destes 1176 foram aptos na triagem clínica e obtivemos uma amostra de 421 indivíduos que concordaram em participar da pesquisa. Dos participantes, 23 apresentaram RIFI positiva para *L.L.chagasi* (tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos participantes do estudo segundo data da coleta e positividade para RIFI, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.

Data da coleta	Número de doadores aptos	Número de participantes	Número de resultados positivos RIFI
16/09/2008	72	10	00
17/09/2008	66	10	00
23/09/2008	55	10	00
24/09/2008	59	20	00
30/09/2008	84	30	01
01/10/2008	75	20	01
07/10/2008	54	25	01
15/10/2008	59	20	04
21/10/2008	82	20	03
22/10/2008	79	30	02
23/10/2008	66	30	01
28/10/2008	71	20	02
30/10/2008	63	30	00
04/11/2008	60	30	00
05/11/2008	63	30	01
06/11/2008	65	30	02
11/11/2008	39	19	00
13/11/2008	66	37	05
Total	1178	421	23

Podemos considerar que o perfil dos participantes não difere do perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros quanto ao gênero, faixa etária e procedência (tabela 2).

Tabela 2: Perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

	Variável	Porcentagem
Procedência	Montes Claros	89,40%
	Outros municípios	11,60%
	Total	100%
Região	Urbana	97%
	Rural	3%
Gênero	Masculino	57,90%
	Feminino	42,10%
	Total	100%
Faixa etária	18 a 29 anos	55,80%
	> 29 anos	44,20%
Número de Doações	01	30,00%
	02 a 10	56,00%
	> 10	14,00%
	Total	100%

Os participantes foram, na sua maioria, moradores da cidade de Montes Claros/MG (67,9%), procedentes da zona urbana (92,7%), homens (61,3%), com faixa etária de 18 a 29 anos (53%) e com número de doações de 2 a 10 (48%) (tabela 3).

Tabela 3: Perfil geral dos participantes do estudo, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.

Variável	Porcentagem	RIFI positiva
Procedência*		
Montes Claros	67,9%	15 (65,2%)
Outros municípios	32,1%	8 (34,8%)
Total	100%	23 (100%)
Região **		
Urbana	92,7%	23 (100%)
Rural	7,3%	0
Total	100%	23 (100%)
Gênero ***		
Masculino	61,3%	11 (47,8%)
Feminino	38,7%	12 (52,2%)
Total	100%	23 (100%)
Faixa etária ****		
18 a 29 anos	53%	11(47,8%)
> 29 anos	47%	12 (52,2%)
Total	100%	23 (100%)
Número de doações *****		
01	36%	5 (21,7%)
2 a 10	48%	14 (20,9%)
> 10	16%	4 (17,4%)
Total	100%	23 (100%)

* $X^2 = 0,082$; valor - p = 0,774

** p = 0,390 (teste exato de Fisher)

*** $X^2 = 1,86$; valor - p = 0,173

**** $X^2 = 0,258$; valor-p = 0,611

***** $X^2 = 2,18$; valor-p = 0,330

Em relação aos resultados sorológicos 5,5% dos participantes apresentaram sorologia positiva para LV, mas nenhum deles foi positivo no Trald (tabela 4).

Tabela 4: Descrição dos participantes do estudo segundo resultados da sorologia, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

Sorologia	Nº de Participantes	Kalazar detect Positivo	Kalazar detect Negativo
RIFI positivo	23 (5,5%)	0	23
RIFI negativo	398 (94,5%)	-	-
Total	421	0	23

Ao comparar a sorologia positiva para LV e os resultados sorológicos para Chagas (Elisa), foi observado que apenas 2 candidatos foram positivos em ambos os exames e 21 foram negativos para Chagas e positivos para LV (tabela 5). Observou-se ainda que, os dois que foram positivos em ambos os exames, apresentaram maior titulação para LV (1:80 e 1:160).

Tabela 5: Comparação entre a sorologia para Chagas e RIFI para L.V., Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008.

Chagas (Elisa)	LV (RIFI)		Total
	Negativo	Positivo	
Negativa	398	21 (91,3%)	419 (99,5%)
Positiva	0	2 (8,7%)	2 (0,5%)
Total	398 (100%)	23 (100%)	421 (100%)

Valor p= 0,003 (teste exato de Fisher)

Observou-se ainda que os dois positivos para chagas, apresentaram maior titulação para LV (1:80 e 1:160) conforme tabela 6.

Tabela 6: Comparação entre sorologia Chagas e titulação RIFI para LV, Hemocentro Regional de Montes Claros, 2008

LV (RIFI Positivo)	Chagas		
	Negativo	Positivo	Total
01:40	20 (95,2%)	0	20 (87%)
1:80	01 (4,8%)	01 (50%)	02 (8,7%)
1:160	0	01 (50%)	01 (4,3%)
Total	21 (100%)	02 (100%)	23 (100%)

Todos os doadores com RIFI positiva para *Leishmania* apresentavam-se assintomáticos na primeira avaliação.

Discussão

As doenças transmissíveis por transfusão relacionam-se a infecções que podem se tornar crônicas e levar os indivíduos infectados a um estado de portadores assintomáticos. Assim, os serviços de hemoterapia precisam adotar um conjunto de medidas preventivas de segurança, como educação da população sobre o ato de doar sangue, realização de triagem clínica e epidemiológica dos candidatos a doadores, realização de exames laboratoriais que visem à redução do risco de transmissão de doenças²³. O conhecimento da existência de janela imunológica (tempo entre o contato com o agente infeccioso e o desenvolvimento de anticorpos em níveis detectáveis nos testes sorológicos) deve ser sempre esclarecido, com o fim de coibir a doação de sangue de pessoas que porventura busquem, indevidamente, resultados de exames sorológicos para situações de risco. Outra consideração importante é o fato de que os testes utilizados para triagem de doadores possuem alta sensibilidade¹⁷, produzindo, muitas vezes, resultados falsos positivos, não sendo, portanto, realizados com finalidade de diagnóstico de doenças e, sim, como método de triagem e proteção ao receptor.

No Brasil, são efetuadas anualmente cerca de 3 milhões de doações de sangue, sendo ainda freqüentes problemas de desabastecimento²³. De acordo com a OMS, para um país manter os estoques de sangue e derivados regularizados, é ideal que 2,5% da população seja doadora de sangue. Todavia, o percentual de doadores brasileiros é de apenas 1,7% por ano, segundo dados da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Vale ainda ressaltar que temos em nosso país uma demanda reprimida de procedimentos de alta complexidade, que, se corrigida, levaria a um consumo ainda maior de sangue.

A indicação adequada dos hemocomponentes^{24 25 26} e o conhecimento das possíveis alternativas que possam evitar exposição ao sangue são medidas prioritárias que visam reduzir os riscos relacionados à prática transfusional.

Apesar dos avanços tecnológicos na busca de substitutos do sangue humano, ainda não existem produtos que o substituam por completo. A qualidade intrínseca, segurança, durabilidade, eficácia, fácil obtenção e produção têm sido perseguidas em várias pesquisas. Porém, no momento, os esforços devem ser concentrados na criação de *pool* de doadores estáveis (menor risco de janela imunológica), no aprimoramento de técnicas para seleção de doadores que envolvem triagem clínica e sorológica, no uso do sangue autólogo sempre que possível e, ainda, na indicação precisa dos vários componentes sanguíneos²³.

Evitar o risco de doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue é um desafio constante para os serviços de hemoterapia. Vários patógenos (citomegalovírus, Epstein-Barr, parvovírus B19) não pesquisados nas rotinas dos bancos de sangue²⁷, além de doenças emergentes (gripe aviária, virose do Oeste do Nilo, forma variante da doença de Creutzfeldt-Jacob) que poderiam afetar os receptores ou o aporte de doadores, precisam ser pesquisados quanto ao risco e impacto na segurança transfusional e, se necessário, considerados nas estratégias da política do sangue do país²⁸.

A leishmaniose visceral compõe este grupo de doenças em que o potencial de transmissão transfusional e sua relevância ainda não se encontram bem esclarecidos²⁷.

O presente estudo foi um primeiro passo para conhecermos no cenário da região norte mineira, área endêmica de LV, a sua prevalência entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros - Fundação Hemominas, no período de 16/09/08 a 13/11/08.

Os doadores que participaram da pesquisa foram em sua maioria homens jovens e residentes na zona urbana, coincidindo com o perfil geral dos doadores de sangue do Hemocentro.

A prevalência observada de 5,5%, pelo método RIFI, também está compatível com o que tem sido relatado em estudo populacional em Minas Gerais. Moreno ao testar 1604 moradores na população geral de Sabará/ MG, encontrou 2,4 a 5,6% de prevalência de infecção dependendo do teste sorológico empregado^{29 30}. No Maranhão verificou-se prevalência de infecção de cerca de 19,7% pelo método ELISA-CRUDE, 19,4% ELISA rk39 e 61,7% pela intradermoreação de Montenegro³¹. Outro estudo realizado no Pará constatou 12,6% de prevalência da infecção por LV na comunidade ao associar os resultados da intradermoreação de Montenegro e RIFI³².

No presente estudo, nenhum dos participantes RIFI positivos apresentou positividade no Kalazar detect®. Estudos anteriores apontam para baixa sensibilidade deste exame em indivíduos assintomáticos^{29 33} semelhante aos resultados encontrados neste trabalho.

No Brasil, quando aplicado em cães de área endêmica, a sensibilidade foi de 92% e a especificidade de 99,5%. Entretanto, o teste não foi capaz de detectar infecções nos animais com título baixo de RIFI (1:40 a 1:320)³⁴.

Estudo realizado em 2003 com 128 pacientes de Montes Claros/MG e Vitória/ES verificou 90% de sensibilidade e 100% de especificidade pelo método Kalazar detect®, demonstrando sua acurácia no diagnóstico de indivíduos doentes³⁵. Achado reforçado em pesquisa recente para validação do teste IT-LEISH ® (sensibilidade 93% e especificidade 97%) realizada no Maranhão, Piauí, Bahia e Minas Gerais.

Segundo pesquisa realizada em Sabará utilizando a hibridização como teste de referência, a sensibilidade e especificidade dos testes sorológicos foram respectivamente: 24,8 e 71% (ELISA); 26,3 e 76,3% (rk39 - ELISA); 30,1 e 63,4%

(IFAT)²⁹, demonstrando a necessidade de estudos que esclareçam melhores métodos e procedimentos no estudo da infecção por LV em assintomáticos.

Dos vinte e três doadores RIFI positivos neste estudo, dois foram positivos no teste Elisa Chagas. Sabe-se que existe a possibilidade de reações cruzadas da RIFI para *Leishmania* com vários patógenos, inclusive com chagas^{36 37}, o que poderia explicar a positividade dos exames destes dois participantes. Entretanto, não podemos afastar a possibilidade de associação das duas sorologias positivas. A constatação de que 21 dos positivos na RIFI para LV foram negativos para Elisa Chagas nos permite mencionar que a sorologia para chagas não tem sido suficiente para também detectar a positividade para *Leishmania* na triagem sorológica de doadores de sangue. Com a melhor performance dos Kits utilizados para sorologia de chagas, reduzindo as reações cruzadas, podemos estar deixando de detectar outros patógenos (inclusive a *Leishmania*).

O risco de transmissão transfusional da LV não fica esclarecido neste trabalho, pois a simples sorologia positiva não implica na presença da *Leishmania* viável no sangue periférico, além de não esclarecermos sobre a sua viabilidade após processamento e estocagem dos hemocomponentes. Porém também não é possível afastar este risco potencial.

Diante deste fato, é de fundamental importância discutir as implicações técnicas e éticas, uma vez que, embora a legislação não determine que a leishmaniose visceral deva ser testada em bancos de sangue, o conhecimento de uma sorologia positiva impõe aos técnicos a exclusão desta bolsa. Mediante a situação atual de expansão da leishmaniose e a ineficácia no controle da doença, cabe questionar e implementar pesquisas que respondam de maneira consistente sobre o potencial risco de transmissão transfusional em áreas endêmicas.

A legislação atual da hemoterapia Brasileira¹⁷ trata de maneira genérica, no item B 5.2.6, sobre as doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue e considera inaptos permanentes os candidatos a doação que já tiveram história de LV. Na Fundação Hemominas, além de considerar inapto definitivo o doador com passado ou sintoma da doença, tem sido preconizado na rotina da triagem o exame de palpação abdominal, o que não implica na prevenção da transmissão da doença em indivíduos assintomáticos.

Estudo na França verificou que a leucodepleção pode ser uma boa medida para evitar a transmissão transfusional da LV. Ao retirar os leucócitos do sangue, estes filtros retêm patógenos intracelulares e segundo este estudo parecem eficazes para leishmania¹⁵. Achado confirmado por outra pesquisa que verificou, após duas semanas de estocagem do sangue, a eficácia deste método para reduzir o risco transfusional³⁸. Os filtros de leucócitos já são utilizados para evitar transmissão do citomegalovírus em pacientes de risco, além de outras indicações clínicas^{24 39}.

O impacto na segurança transfusional, nos estoques de sangue e, conseqüentemente, na saúde dos receptores em áreas endêmicas, deve nortear sempre as estratégias adotadas para evitar os riscos de transmissão de doenças. Não existe definição ou consenso sobre quais as melhores medidas a serem adotadas, nem certeza da significância da transmissão da LV. Testar a filtração do sangue no ato da coleta pode ser uma alternativa, assim como a possibilidade de implementar sorologia em áreas endêmicas, associar sorologia e uso de filtros de leucócitos, eleger populações de maior risco (crianças, imunossuprimidos) para serem beneficiados por medidas de prevenção da LV. Todas estas possíveis medidas merecem maiores discussões, se considerado relevante o risco de transmissão transfusional da doença.

O impacto da sorologia positiva para LV detectada neste estudo, cuja prevalência foi de 5,5% pelo método RIFI, seria de grande repercussão nos estoques de

sangue que abastecem nossa população. Conhecer bem quais os melhores recursos diagnósticos para o estudo de assintomáticos é essencial para assegurarmos triagem adequada sem prejuízo do atendimento.

Devemos reforçar que a LV é uma doença grave, em que a evolução depende da resposta imunológica individual e que indivíduos imunossuprimidos apresentam maior risco de progressão e gravidade da doença.

A gestão de tantas variáveis, que implicam em riscos, inovações, custo e benefício, estoque estratégico, saúde de seres humanos, além das constantes possibilidades de transmissão de várias doenças ainda não conhecidas ou testadas na prática, é o maior estímulo para justificar e intensificar o desenvolvimento de pesquisas em nosso país. O cidadão que, hoje, necessita de transfusão de sangue, merece todo respeito, segurança e qualidade dos produtos e serviços, lembrando que aquele que hoje doa sangue, amanhã poderá vir a precisar deste gesto de desprendimento e solidariedade, capaz de salvar vidas.

Referências

1. Ministério da Saúde. Fundação Nacional de Saúde. Centro Nacional de Epidemiologia. Leishmaniose Visceral no Brasil: situação atual, principais aspectos epidemiológicos, clínicos e medidas de controle. Boletim Epidemiológico 2001;6:1-11.
2. Gontijo CMF, Melo MN. Leishmaniose visceral no Brasil: quadro atual, desafios e perspectivas. Rev Bras Epidemiol. 2004; 7(3):338-49.
3. Drugs for Neglected Diseases initiative – Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.dndi.org.br/Portugues/leishmaniose.aspx>, dezembro de 2008.
4. World Health Organization. Strategic Direction for Research – Leishmaniasis. Disponível em: <http://www.who.int/tdr/diseases/leish/direction.htm>, dezembro de 2008.
5. Lainson R, Shaw JJ. Evolution, classification and geographical distribution. In: Peters W, Killick-Kendrick R. The Leishmaniasis in Biology and Medicine. Vol. 1. London: Academic Press;1987; p. 1-120.
6. Pearson RD, Sousa AQ, Jeronimo SMB. Leishmania species: visceral (Kala-azar), cutaneous, and mucosal leishmaniasis. In: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Diseases. New York: Churchill Livingstone; 2000; p. 2831-45.
7. Michalick MSM. Gênero Leishmania. In: Neves DP, Melo AL, Vitor RWA. Parasitologia Humana. 11ª Edição. São Paulo: Atheneu; 2005; p. 41-83.
8. Pearson RD, Sousa AQ. Leishmaniose. In: Ansello LGD. Tratado de Medicina Interna. 22ª Edição. Rio de Janeiro: Elsevier; 2005; p. 2184-90.
9. Ministério da Saúde. Leishmaniose Visceral Grave: Normas e Condutas. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde 2006; 60p.
10. Tesh RB. Control of zoonotic visceral leishmaniasis: is it time to change strategies? Am J Trop Med Hyg. 1995;52:287-292.
11. Costa CHN, Vieira JBF. Mudanças no controle da leishmaniose visceral no Brasil. Rev Soc Bras Med Trop. 2001;34: 223-8.
12. Luz KG, Silva VO, Gomes EM, Machado FC, Araujo MA, Fonseca HE, *et al.* Prevalence of anti-Leishmania donovani antibody among Brazilian blood donors and multiply transfused hemodialysis patients. Am J Trop Med Hyg. 1997;57(2):168-71.
13. Fichoux Y, Quaranta JF, Aufeuvre JP, Lelievre A, Marty P, Suffia I, *et al.* Occurrence of Leishmaniose infantum parasitemia in asymptomatic blood donors living in an area of endemicity in southern France. J Clin Microbiol. 1999;37(6):1953-7.

14. Otero AC, Silva VO, Luz KG, Palatnik M, Pirmez C, Fernandes O, Souza CBP. Short report: occurrence of leishmania donovani DNA in donated blood from seroreactive Brazilian blood donors. *Am J Trop Med Hyg.* 2000;62(1):128-31.
15. Kyriakou DS, Alexandrakis MG, Passam FH, Kourelis TV, Foundouli P, Matalliotakis E, Maniatis AN. Quick detection of leishmania in peripheral blood by flow cytometry. Is prestorage leucodepletion necessary for leishmaniasis prevention in endemic areas? *Rev Transfus Med.* 2003;13(2):59-62.
16. Cardo LJ. Leishmania: risk to the blood supply. *Rev Transfusion Med.* 2006;46(9):1641-5.
17. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 153 de 14/06/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.
18. Ministério da Saúde. Manual de Vigilância e Controle da Leishmaniose Visceral. Secretaria de Vigilância em Saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde; 2003; 122p.
19. Secretaria de Vigilância em Saúde. Sinan. Brasília: Ministério da Saúde. Disponível em: <http://www.saude.gov.br/sinanweb>, outubro de 2008 e janeiro de 2009.
20. Delgado O, Feliciangeli MD, Coraspe V, Silva S, Perz A, Arias J. Value of a dipstick baseado n recombinant rK39 antígenen for differential diagnosis of American visceral leishmaniasis from other sympatric endemic diseases in Venezuela. *Parasite.* 2001;8:355-7
21. Cunha DES. Análise do uso de frações antigênicas de Leishmania sp no diagnóstico imunológico da Leishmania Visceral e diagnóstico imunológico da Leishmaniose Visceral utilizando antígeno recombinante K39 através das técnicas de elisa e particle gel immunoassay-PAGIA(Diamed). Centro de pesquisas René Rachou, 2001. Monografia para conclusão do programa de vocação científica da FIOCRUZ.
22. Sundar S, Rai M. Laboratory diagnosis of visceral Leishmaniasis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002;9:951-8.
23. Cliquet MG. Substitutos do Sangue. In: Bordin José O, Langli Junior, Dante M, Covas Dimas T. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007; p. 593-9.
24. Ministério da Saúde. Guia para uso de hemocomponentes. Secretaria de Atenção à saúde, Brasília: Editora do Ministério da Saúde;2008;140p.
25. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 10 de 23/01/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.
26. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC 129 de 24/05/04. Brasília; Diário Oficial da União; 2004.

27. Proietti ABFC, Lopes MSN, Urias EVR. Outras doenças infecciosas transmissíveis pelo sangue. In: Bordin José O, Langli Junior, Dante M, Covas Dimas T. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007; p. 525-31.
28. Angulo IL. Infecções Emergentes de Importância Transfusional. In: Bordin José O, Langli Junior, Dante M, Covas DT. Hemoterapia Fundamentos e prática. 1ª edição. São Paulo:Atheneu; 2007; p. 613-8.
29. Moreno EC, Melo MN, Antunes CMF, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR *et al.* Diagnóstico da leishmaniose visceral humana assintomática em uma área urbana do Estado de Minas Gerais, usando métodos sorológicos e biologia molecular. Rev Soc Bras Med Trop. 2006; 39(5):421-7.
30. Moreno EC, Melo Maria N, Genaro O, Lambertucci JR, Serufo JC, Andrade ASR, *et al.* Fatores de risco para infecção por *Leishmania chagasi* em uma área urbana do Estado de Minas Gerais. Rev Soc Bras Med Trop. 2005;38(6).
31. Nascimento MDSB, Souza EC, Silva LM, Leal PC, Cantanhede KL, Bezerra GFB *et al.* Prevalência de infecção por *Leishmania chagasi* utilizando os métodos de ELISA (rK39 e CRUDE) e intradermoreação de Montenegro em área endêmica do Maranhão, Brasil. Cad Saúde Pública. 2005; 21(6):1801-7.
32. Filho MSR, Silveira FT. Epidemiologia, clínica e imunologia da infecção humana por *Leishmania (Leishmania) infantum chagasi* em area endemica de leishmaniose visceral no Pará. Rev Para Med. 2007;31(3):7-18.
33. Braz RFS, Nascimento ET, Martins DRA, Wilson ME, Pearson RD, Reed SG *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. Am Trop Med Hyg. 2002;67(4):344-8.
34. Genaro O, Costa RT, Silva JCF, Reis AB, Vieira EP, Arias JR, *et al.* Evaluation of an immunochromatographic assay for the diagnosis for dogs experimentally and naturally infected with *Leishmania chagasi* in Brazil. Acta Parasitol Turcica 1997; 21 (Supl.1): 93.
35. Guimarães CSF, Moreira LE, Corey R, Dietze R. Performance of recombinant K39 antigen in the diagnosis of Brazilian visceral leishmaniasis Am J. Trop Med. Hyg. 2003; 68(3):321-4.
36. Abramo C, Fontes CJ, Krettli Au. Cross-reactivity between antibodies in the sera of individuais with leishmaniasis, toxoplasmosis, and Chagas disease and antigens of the blood-stage forms of Plasmodium Falciparum determined by indirect imunofluorescence. Am J Trop Med Hyg. 1995;53(2):202-5.
37. Griemberg G, Ferrarotti NF, Svibel G, Ravelli MR, Taranto NJ, Malchiodi EL *et al.* Immunofluorescence assay with Crithidia luciliae for the detection of anti-DNA antibodies. Atypical images and their relationship with Chagas' disease and leishmaniasis. Medicina (B. Aires). 2006;66(1):3-8.

38. Cardo LJ, Salata J, Harman R, Mendez J, Weina PJ. Leukodepletion filters reduce Leishmania in blood products when used at collection or at the bedside. *Transfusion*. 2006;46(6):896-902.
39. Razouk FH, Reiche EMV. Caracterização, produção e indicação clínica dos principais hemocomponentes. *Rev Bras Hematol Hemoter*. 2004;26(2):126-134.

Apêndice 1:

Termo de consentimento livre e esclarecido

APÊNDICE I**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

TÍTULO DA PESQUISA: TRANSMISSÃO DA *LEISHMANIA (LEISHMANIA) CHAGASI* POR TRANSFUSÃO SANGUÍNEA: UM ESTUDO DO POTENCIAL DE RISCO TRANSFUSIONAL.

INSTITUIÇÕES:

FUNDAÇÃO HEMOMINAS- Hemocentro Regional de Montes Claros

UNIMONTES - UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

ORIENTADOR: Doutor Silvio Fernando Guimarães de Carvalho

Fone: (38)-32248200

PESQUISADORA: Elaine Veloso Rocha Urias

Fone: (38)-88258571

(38)-32126777

ATENÇÃO!

Antes de definir se concorda ou não em participar desta pesquisa, você deve compreender os seus objetivos e os procedimentos que serão realizados.

Este estudo pretende verificar a frequência de indivíduos infectados por leishmania entre os doadores de sangue do Hemocentro Regional de Montes Claros e verificar se a leishmania (responsável pelo calazar) pode ser encontrada no sangue, pois geralmente ela se encontra em outros locais (baço, fígado, medula óssea, etc).

A Leishmaniose visceral ou calazar é uma doença caracterizada por febre, crescimento do baço e fígado, anemia, pode apresentar sangramentos e

infecções associadas. Geralmente é transmitida ao homem através da picada de um mosquito (flebotomíneo) que sugou sangue de cães ou raposas contaminados pela leishmania.

Poderão participar desta pesquisa doadores de sangue, aptos na triagem clínica, durante o período de sua realização.

PROCEDIMENTOS

Sua participação neste estudo terá as seguintes etapas:

- Inicialmente serão feitos esclarecimentos e será coletada a assinatura deste termo de consentimento livre e esclarecido daqueles que concordarem em participar da pesquisa.
- Coletaremos amostra de sangue para testes de leishmaniose ao final da doação, não sendo necessária uma nova punção venosa. Esclarecemos que a picada da veia pode causar leve dor e raramente pode ocorrer inchaço no local ou pequeno sangramento.
- Seus resultados serão entregues para você por correio ou você será convocado por carta para recebê-los no Hemocentro.
- Se você apresentar teste positivo, esclarecemos que pessoas infectadas podem ou não evoluir para doença e, portanto, o teste positivo não significa doença. Você será encaminhado ao serviço de referência do Hospital Universitário Clemente Farias para esclarecimento diagnóstico.

Os resultados deste estudo serão mantidos em sigilo, sendo informados apenas ao participante. A publicação dos resultados será feita em conjunto, não permitindo a identificação individual. Você tem garantia de quaisquer

esclarecimentos pelos pesquisadores responsáveis, antes e durante o curso da pesquisa.

DECLARO QUE LI E ENTENDI AS INFORMAÇÕES E CONCORDO EM PARTICIPAR DESTA PESQUISA. ESTOU CIENTE QUE POSSO A QUALQUER MOMENTO DESISTIR DE CONTINUAR E QUE NÃO TEREI NENHUM PREJUÍZO PERANTE A FUNDAÇÃO HEMOMINAS.

Nome:

Assinatura:

Endereço:

Telefone:

Data:

Pesquisadora -Elaine Veloso Rocha Urias

Apêndice 2:

Convocação

APÊNDICE II**CONVOCAÇÃO**

Montes Claros, __/ __/2008

Prezado Sr(a).....,

Solicitamos comparecimento ao Hemocentro Regional de Montes Claros para esclarecimentos e orientações referentes aos resultados dos exames realizados para pesquisa “Transmissão da *Leishmania (Leishmania) chagasi* por transfusão sanguínea: um estudo do potencial de risco transfusional.”

Horário: 8:00 às 11:00 h – terça e quinta feira

14:00 às 16:00 h – quarta feira

Qualquer dúvida contactar com a pesquisadora pelo telefone: (38) 32126777.

Atenciosamente,

Pesquisadora: Elaine Veloso Rocha Urias

Apêndice 3:

Resultados de exames laboratoriais

APÊNDICE III

Resultados de exames laboratoriais

Pesquisa: “Transmissão da *Leishmania (Leishmania) chagasi* por transfusão sanguínea: um estudo do potencial de risco transfusional.”

Pesquisadora: Elaine Veloso Rocha Urias

Nome do participante: _____

Data: ___/___/___

Informamos que os exames realizados para pesquisa de leishmania (calazar) apresentaram resultados não reativos.

Imunofluorescência: não reativo

Kalazar detect®: não reativo

Elaine V. R. Urias - Pesquisadora

CRM/ MG2404

Apêndice 4:

Planilha de resultados de exames sorológicos
para leishmania

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)