

ORIENTAÇÃO TÉCNICA SDP/IOM/FUNED N° 001/2019

Teste rápido imunocromatográfico LSH Ab ECO Teste da Eco diagnóstica para o imunodiagnóstico da leishmaniose visceral (LV)

1. Descrição do teste diagnóstico:

Imunoensaio de fluxo lateral para detecção de imunoglobulinas da classe IgG anti-rk39 para o diagnóstico imunológico da leishmaniose visceral humana (LV), produzindo resultados dentro de 10 minutos. Segundo o fabricante, o teste pode ser realizado em amostras de soro, plasma e sangue de punção digital ou coletado com anticoagulante (EDTA, citrato ou heparina). Contudo, o teste rápido LSH Ab ECO foi avaliado pelo Serviço de Doenças Parasitárias-SDP/FUNED apenas com amostras de soro. Nesta avaliação, o teste rápido LSH Ab ECO apresentou especificidade igual a 1 (IC95% 0,93 – 1), o que está de acordo com a alta especificidade da proteína rK39 relatada na literatura ². Não houve reação cruzada com nenhuma das amostras utilizadas neste estudo, incluindo amostras de pacientes com casos confirmados para doença de Chagas e toxoplasmose. A sensibilidade apresentada pelo TRI LSH ab ECO foi 0,93 (IC95% 0,82 – 0,97). É importante lembrar que para pacientes imunocomprometidos ou menores de dois anos de idade, o valor da sensibilidade poderá ser inferior aos encontrados nestas avaliações. Os exames parasitológicos, como a pesquisa direta do parasita em aspirado da medula óssea em lâmina e/ou a investigação do DNA de *Leishmania* spp por técnicas de biologia molecular são mais indicados nesses casos.

2. Critérios para uso do teste diagnóstico:

O teste LSH Ab ECO somente deverá ser realizado em pacientes com suspeita clínica para LV, pois a sorologia reativa deve ser interpretada como evidência de contato prévio do paciente com o agente infeccioso, não correspondendo necessariamente à doença ativa. A sorologia permanece reativa após o tratamento de LV por período indeterminado. Segundo o fabricante, pode haver reações falso positivas em amostras contendo fator reumatoide e em amostras de pacientes com malária. Os sinais clínicos para definição de caso suspeito para LV, em pacientes de qualquer idade, provenientes ou não de área endêmica, que devem ser avaliados pelo profissional médico são os seguintes:

- 1- Febre de duração igual ou superior a 7 dias associada à esplenomegalia.
- 2- Febre de duração igual ou superior a 7 dias associada à hepatomegalia.
- 3- Febre de duração igual ou superior a 7 dias, associada a qualquer citopenia (anemia, leucopenia, plaquetopenia ou pancitopenia), palidez e emagrecimento.

O tratamento deverá ser iniciado, preferencialmente, após o diagnóstico confirmado, sendo recomendada a associação da clínica à epidemiologia e aos exames laboratoriais.

3. Procedimentos

3.1. Componentes do *kit* diagnóstico

- Tiras testes seladas individualmente;
- Tampão diluente;
- Pipeta capilar.

Observação: Não estão incluídos neste *kit* diagnóstico: micropipeta, ponteiras, dispositivo para punção digital, cronômetro e tubos de coleta.

3.2. Cuidados

- Não use o dispositivo teste após a data de validade indicada na embalagem;
- Não use o teste se a embalagem de alumínio estiver danificada;
- Não reutilize os testes;
- Todos os reagentes devem estar à temperatura ambiente antes de iniciar os procedimentos;
- Use equipamentos de proteção individual: jalecos, luvas descartáveis e óculos de proteção quando estiver manipulando as amostras;
- Umidade e temperatura podem afetar os resultados de maneira adversa;
- Todas as amostras humanas devem ser consideradas potencialmente infectantes. Recomenda-se que os reagentes e as amostras do paciente sejam tratadas de acordo com as normas de segurança de risco biológico 2 (NB2).

3.3. Armazenamento e estabilidade

3.3.1. Armazenamento do *kit* diagnóstico

- Armazenar os componentes do teste em temperatura entre 2°C e 30°C até a data de validade indicada na embalagem de alumínio selada;
- O teste deve permanecer na embalagem selada até o momento do uso;
- Não congelar;

- Não usar o *kit* se tiver evidência de contaminação microbiológica ou precipitação no tampão;
- Para realização do ensaio, utilizar os componentes do teste (tampão e dispositivo individualizado) após atingirem temperatura ambiente.

3.3.1. Armazenamento das amostras

- Conservar o soro em temperatura de 2°C a 8°C por até 5 dias, ou a -20°C, caso não realize o exame imediatamente.

3.4. Coleta e Manuseio das Amostras

3.4.1. Coleta de soro

- Coletar um volume mínimo de 2 ml de sangue periférico em tubo com tampa vermelha, sem anticoagulantes, por punção venosa;
- Após coagulação, retirar o soro de dentro do tubo coletor e colocá-lo em um novo tubo. Pode-se realizar a centrifugação para separar o soro.

3.4.1. Coleta de sangue ou plasma

- Coletar o sangue total por punção digital ou punção venosa em tubo com tampa roxa, azul ou verde (contendo EDTA, citrato ou heparina, respectivamente);
- O sangue coletado por punção venosa com anticoagulante também pode ser centrifugado para obtenção do plasma;
- Não usar sangue hemolizado.

OBSERVAÇÃO: Para efetiva coleta de sangue em polpa digital:

- Limpar o dedo escolhido com o material apropriado para desinfecção e esperar secar;
- Manter a mão do paciente na posição horizontal e massagear o dedo em direção à ponta para facilitar o fluxo de sangue;
- Fazer um pequeno furo e massagear levemente o dedo para que saia uma gota de sangue com volume razoável para coleta. Evitar levantar muito o dedo mantendo-o sempre na horizontal;

- Não se deve continuar apertando o local da punção digital, evitando-se que a gota de sangue escorra, o que poderá dificultar a coleta.

3.5. Realização do teste

- Os componentes do *kit* e as amostras a serem testadas deverão estar à temperatura ambiente (15°C-30°C).
- Preencher o protocolo de trabalho elaborado em seu laboratório.
- Abrir a embalagem e remover a tira teste, identificando-a com o código da amostra.
- Colocar a tira teste em uma superfície limpa e plana ou em posição vertical em um tubo de ensaio.
- Com o auxílio de uma micropipeta ou pipeta capilar (fornecida pelo *kit*) adicionar 20µL do soro/plasma ou 1 gota de sangue (10µL) na almofada da tira teste, abaixo das setas.
- Se o soro, plasma ou sangue for aplicado na tira teste horizontalmente sobre uma superfície plana, pegar a tira pela etiqueta verde e colocar na vertical, com a seta apontada para baixo, em um tubo de ensaio ou de micropoços contendo 2-3 gotas (150µL) do tampão diluente. Se o soro, plasma ou sangue for aplicado na tira teste verticalmente, adicionar 2-3 gotas (150µL) do tampão diluente na base dos micropoços ou tubo de ensaio (Figura 1).
- Ler o resultado do teste em 10 minutos. Resultados interpretados após 10 minutos podem não ser precisos.

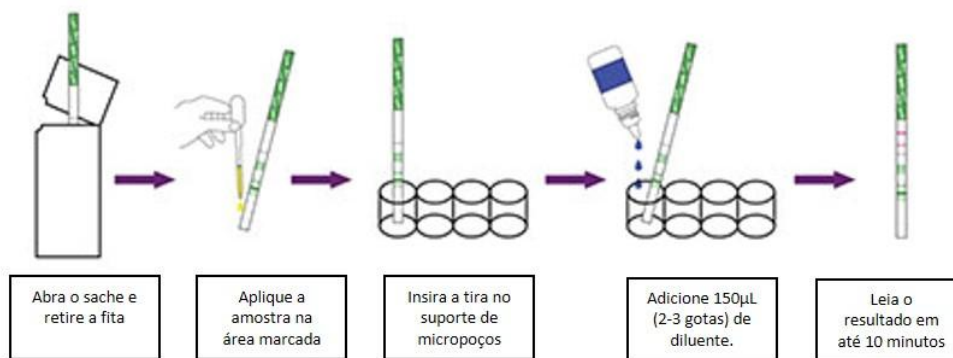


Figura 1 – Procedimento de realização do teste rápido LSH Ab ECO Teste de forma vertical.

3.6. Interpretação dos resultados

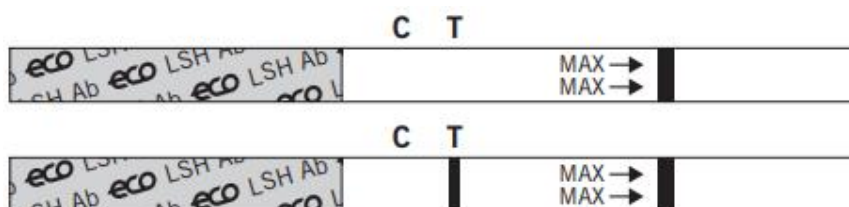
- Resultado reagente: presença da linha controle (linha C) e a da linha teste (linha T).** A presença da linha teste, mesmo em coloração fraca, indica resultado reagente.



b) Resultado não reagente: presença apenas de linha C. Considerar a investigação por outras etiologias. Caso persista a suspeita clínica, particularmente em pacientes imunocomprometidos, entrar em contato com o Laboratório Central de Saúde Pública – LACEN para continuar a investigação laboratorial.



c) Resultado inválido: ausência de linha C. Repetir o teste com uma nova tira.



Atenção: sempre que possível realizar a leitura do teste utilizando fonte luminosa direta. Presença de linhas tênues devem ser considerados reagentes.

4.Requisitos de distribuição

A distribuição do teste deverá ser realizada após definição de critério de elegibilidade pela Vigilância em Saúde do Estado (SESMG) em conjunto com a Vigilância em Saúde do regional de saúde (SRS/GRS) e do município. As unidades de saúde serão elencadas conforme a avaliação dos critérios. Para que o teste rápido seja disponibilizado ao profissional médico, este deverá realizar a notificação do caso em Ficha do SINAN devidamente preenchida, além do pedido médico.

Consideração importante:

Deve-se realizar a liberação dos resultados de teste rápido no Gerenciador de Ambiente Laboratorial-GAL, mesmo nas unidades de atendimento descentralizadas, para garantir agilidade na comunicação dos resultados e, conseqüentemente, rapidez nas decisões dos clínicos e dos serviços de vigilância em saúde.

Fluxo de solicitação do *kit* e relatório de uso

- Unidade que realiza o teste cadastra e libera os resultados no Gerenciador de Ambiente Laboratorial-GAL.
- Se verificada necessidade, a unidade deverá solicitar a reposição dos testes através do e-mail para a URS de referência.

- Se verificada necessidade, a URS deverá solicitar a reposição dos testes através de email para sdp@funed.mg.gov.br com cópia para e-mail: stefania.gazzinelli@saude.mg.gov.br

LACEN/FUNED autoriza a retirada do quantitativo de testes solicitados para URS's que apresentaram demanda.

5. Referências Bibliográficas

INSTITUTO OCTÁVIO MAGALHÃES - FUNED. Laboratório de Referência Nacional em Diagnóstico da Leishmaniose Visceral. Controle de Qualidade de Kits para Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Humana. Avaliação do teste rápido imunocromatográfico LSH ab ECO da ECO Diagnóstica para o imunodiagnóstico da leishmaniose visceral humana (LVH). Relatório Técnico. Belo Horizonte. 5p. Julho de 2019.

MACHADO DE ASSIS, T.S.; BRAGA, A.S.C.; PEDRAS, M.J.; BARRAL, A.M.P., SIQUEIRA, I.C.; COSTA, C.H.N.; COSTA, D.L.; HOLANDA, T.A.; SOARES, V.Y.R.; BIÁ, M.; CALDAS, A.J.M.; ROMERO, G.A.S.; RABELLO, A. Validação do teste imunocromatográfico rápido IT-LEISH® para o diagnóstico da Leishmaniose Visceral Humana. *Epidemiol. Serv. Saúde*, Brasília, 17(2):107-116, 2008.

MACHADO DE ASSIS TS, RABELLO A, WERNECK GL. Latent class analysis of diagnostic tests for visceral leishmaniasis in Brazil. *Trop Med Int Health*, 17(10):1202-7, 2012.

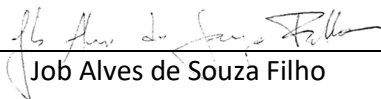
MACHADO DE ASSIS, T.S; RABELLO, A.; WERNECK, G.L. Predictive Models for the Diagnostic of Human Visceral Leishmaniasis in Brazil. *Plos*, 6 (2), 2012.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, Manual de vigilância e controle da Leishmaniose visceral. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde., 120p. 2006. 120p.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Leishmaniose visceral: recomendações clínicas para redução da letalidade. Brasília: Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde. 78p. 2011. 78 p.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Visceral leishmaniasis rapid diagnostic test performance, Special Programme for Research and Training in Tropical Diseases, 2011.

PREFEITURA MUNICIPAL DE BELO HORIZONTE- Nota Técnica da Gerencia de Epidemiologia 01/2010- Assunto: Teste rápido por imunocromatografia para diagnóstico da leishmaniose visceral humana. Belo Horizonte. Janeiro de 2010.



Job Alves de Souza Filho

Biólogo

CRBIO 098852/Masp 1379535-6



José Ronaldo Barbosa

Farmacêutico/Bioquímico

CRF 11810/Masp 556624-5



Fernanda Alvarenga Cardoso Medeiros

Farmacêutica/Bioquímica

CRF 18085 /Masp 1168428-2



Jacqueline Araújo Domingos Iturra

Farmacêutica/Bioquímica

CRF 17986 /Masp 1216879-5

Belo Horizonte, 27 de novembro de 2019