

Doações

A Biblioteca da Sociedade Brasileira de Dermatologia agradece as seguintes doações:

Stella Felipe de Freitas. Dissertação de Mestrado defendida em 2007.

Dissertação

□ **Padronização e formulação do custo da PCR-RFLP para o diagnóstico de leishmaniose tegumentar em papel de filtro.** Dissertação de Mestrado defendida em 2007. Área de concentração: Clínica Médica. Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto (SP), Brasil.

Autora: Stella Felipe de Freitas

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Maria Ferreira Roselino

Resumo: A leishmaniose tegumentar Americana (LTA), nas formas cutâneas ou mucosa, é endêmica no Brasil. Nos últimos anos, o Ministério da Saúde registrou média de 35.000 casos novos de LTA em praticamente todos os estados do país, sendo sua crescente a cada ano. Na região nordeste do estado de São Paulo, incluindo Ribeirão Preto, a LTA é autóctone. Na tentativa de um diagnóstico precoce e seguro da doença associaram-se ao exame clínico-epidemiológico exames subsidiários, como a Polymerase Chain Reaction (PCR) e PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP), que permitem a identificação da espécie de leishmania presente na amostra. Identificamos em nosso laboratório, por PCR, as espécies *L. (V.) braziliensis* e *L. (L.) amazonensis* em amostras de pele ou de mucosa de pacientes com LTA. Dessa forma, os objetivos principais deste estudo foram: (1) padronizar a técnica de PCR-RFLP para a identificação da espécie de leishmania em amostras de pele ou de mucosa, coletadas em papel de filtro na forma de imprint, e (2) calcular o custo individual deste exame laboratorial. A população de estudo contou com 67 amostras de pacientes atendidos no HC-FMRP-USP, 28 amostras de pacientes atendidos no hospital Universitário de Brasília – D.F. e 2 amostras

da UNIFESP, totalizando 97 amostras. Das 65 amostras na forma de imprint de pacientes com diagnóstico clínico de LTA atendidos no HC-FMRP-USP, no Hospital Universitário de Brasília – D.F. e na UNIFESP, 54 (83%) foram de *L. (V.) braziliensis*; quatro (7,4%) foram identificadas como *L. (V.) amazonensis*. Das 97 amostras na forma de *imprint* 32 foram coletadas de pacientes com diagnóstico ou suspeita clínica de outras doenças de pele clinicamente semelhantes à LTA, atendidos no HC-FMRP-USP, foram coletadas nas formas de imprint e biópsia. Destes pacientes, 18 apresentaram PCR negativa para leishmaniose e 14 amostras cujos diagnósticos clínicos foram: Bazin, hanseíase, paracoccidiodomicose, ectima, úlcera indefinida, farmacodermia e histoplasmose, apresentaram PCR-RFLP positiva todas identificadas como *L. (V.) braziliensis*. Ressalta-se a facilidade no envio e conservação de amostras na forma de imprint, destacando sua utilidade em pesquisas de campo e localidades distantes de um centro especializado. Para o cálculo do custo da PCR-RFLP como método diagnóstico para LTA realizou-se pesquisa de preços (em moeda corrente) de equipamentos, materiais de consumo e materiais permanentes. Ainda devem-se levar em consideração os custos diretos e indiretos, fixos e variáveis, e gastos com mão-de-obra, que influenciam diretamente o custo final do procedimento laboratorial. Quanto ao custo do exame pode-se demonstrar que existe a possibilidade de que um laboratório de rotina de médio porte, equipado com materiais, instalações e equipamentos básicos, possa realizar o referido teste molecular, ficando este calculado em U\$ 22,97. Este valor de exame desde a eluição da amostra na forma de imprint em papel de filtro em água a 90°C para obtenção do DNA, até a identificação após a PCR-RFLP com o uso das duas endonucleases: Hae III e Bsr I. O tempo médio de realização e conclusão da identificação do agente etiológico ficou em torno de dois dias considerando-se oito horas diárias de trabalho de mão-de-obra especializada. Finalmente, demonstrou-se a viabilidade da realização de um teste molecular na rotina laboratorial, sendo este de grande valia na rápida e específica identificação da espécie de leishmania envolvida nesta zoonose de importância epidemiológica.