

6. LV e o Médico Veterinário

6.1. Como pode ser realizado o diagnóstico clínico diferencial da LV canina?

A seguinte tabela resume o diagnóstico diferencial da LV canina:

Sinais de LV	Outras causas possíveis
sangramento no focinho	trauma
linfadenopatia	linfoma; leucemia
ulceração/nódulos cutâneos ou peribucais	vírus; outras infecções ou traumas
nódulos subcutâneos	cistos sebáceos
dermatite e perda de pelo (depilação)	pulgas, outros ectoparasitas (como sarna); inflamação cutânea induzida por alimentos (dermatite); doença supra-renal
unhas alongadas e deformadas (onicogribose)	uso insuficiente das unhas (por exemplo, cão confinado em apartamento)
anemia	desnutrição; endoparasitas; intoxicação alimentar; carrapatos; pulgas
emagrecimento	perda de apetite (anorexia); inanição; endoparasitas

6.2. Como coletar amostras de cães para diagnóstico sorológico?

(a) *Para o exame de aglutinação direta (TAD):*

Colete duas gotas de sangue da borda da orelha do animal, em papel de filtro Whatman n° 3, usando lanceta. Cada gota deverá fazer um círculo separado, com um centímetro de diâmetro.

Escreva o nome do cão, o número de código e a data em cada folha de papel de filtro.

Deixe as gotas de sangue secar a temperatura ambiente e, a seguir, coloque cada folha num envelope de plástico ou recipiente selado separado, ou

as duas folhas num só envelope ou recipiente, com um pedaço de papel limpo e seco separando as folhas de papel de filtro.

Essas folhas de papel de filtro podem ser armazenadas a temperatura ambiente durante uma semana; na geladeira, a 4 °C, durante meses; e no congelador, a -20 °C, durante anos. Uma das gotas de sangue será utilizada para o diagnóstico e a outra arquivada para referência futura ou novo teste.

Algumas vezes, o método de coleta de gotas de sangue é usado para outros testes sorológicos, como o teste de imunofluorescência indireta de anticorpos (IFI) e o teste imunoenzimático (ELISA) (ver parágrafo (b), a seguir).

No TAD, o uso de soro (ver parágrafo (b), a seguir) costuma produzir melhores resultados.

(b) *Para o teste de imunofluorescência indireta de anticorpos (IFI) e o teste imunoenzimático (ELISA):*

Retire aproximadamente 1 a 2 ml de sangue venoso com seringa e agulha estéreis e coloque o sangue num recipiente estéril sem anticoagulante. Deixe o sangue coagular, retire o soro, descarte as células vermelhas e armazene o tubo de ensaio na geladeira, a 4 °C, ou a -20 °C, se for necessário armazená-lo por mais tempo.

(c) *Para o teste de lâmina de formol-gel:*

Também é possível usar soro nesse ensaio. Não é específico para a LV, mas detecta a hiperglobulinemia, freqüentemente associada à LV.

6.3. Como coletar amostras de cães para o diagnóstico parasitológico?

Pode-se coletar as seguintes amostras para exame parasitológico.

(a) *Linfonodo.* Qualquer linfonodo superficial pode ser utilizado, mas o do joelho (linfonodo poplíteo) ou o nódulo anterior à escápula (linfonodo pré-escapular) são os de primeira escolha. Utiliza-se uma agulha estéril para puncionar o linfonodo (Diapositivo 37). Pegue o linfonodo entre o polegar e os outros dedos, introduza uma agulha n° 21, ligada a uma seringa de 5 ml, no linfonodo, esprema ligeiramente o linfonodo várias vezes, ou desloque a agulha

levemente várias vezes, e depois retire-a. Faça um esfregaço com o aspirado de linfonodo numa lâmina de vidro limpa e seque-o rapidamente, como, por exemplo, esfregando o lado inferior da lâmina com o dedo, para aquecer o vidro ligeiramente e evaporar qualquer umidade na amostra. É muito importante que a amostra não contenha sangue ou, então, que o sangue não seja usado ao preparar o esfregaço.

- (b) *Medula óssea.* Aspirar medula óssea da ponta do esterno, usando seringa de 5 ou 10cc e agulha N° 20 ou 21. O esfregaço de medula óssea é preparado numa lâmina de vidro limpa e secado ao ar (conforme indicado acima, para o aspirado de linfonodo).
- (c) *Pele.* Biópsia usando anestesia local. Retira-se um pequeno fragmento de tecido (por exemplo, 2mm x 2mm x 2mm de profundidade) usando bisturi e pinça estéreis, ou um “punch” estéril. Utiliza-se uma folha limpa e seca de papel de filtro para absorver qualquer exsudato de sangue. Faz-se uma impressão por aposição da face interna do fragmento sobre uma lâmina de vidro limpa, e seca-se o esfregaço ao ar. Recomenda-se fazer a biópsia em áreas em que a pele parece anormal ou alterada (por exemplo, com perda de pelo, descamação, descamação, ou muito áspera). Com freqüência, a doença afeta o focinho, a borda da orelha e a base do rabo, sendo apropriado fazer a biópsia nesses locais.
- (d) *Pele, mediante escarificação.* A pele é raspada, se necessário; limpa com etanol a 70 % e escarificada com lâmina de bisturi estéril até aumentar a linfa dérmica (exsudato). Esfrega-se o exsudato numa lâmina de microscopia e seca-se ao ar.
- (e) *Nariz.* A secreção intranasal é coletada com um chumaço de algodão. Esfrega-se o chumaço de algodão firmemente no interior do nariz do animal, a fim de se obter exsudato da mucosa, o qual é esfregado numa lâmina de microscopia e secado ao ar.

6.4. Como é realizado o exame microscópico dos aspirados e das biópsias?

Os esfregaços secos são fixados, imediatamente, com álcool metílico puro (metanol a 100 %) durante dois minutos, e a seguir corados pelo Giemsa, em pH 7 - 7.2. O álcool metílico deve ser armazenado em frascos bem fechados, a fim de prevenir a absorção de água.

Os esfregaços devem ser corados pelo Giemsa, conforme descrito no Apêndice 5.

Examine os esfregaços corados pelo Giemsa usando microscópio com objetiva de imersão em óleo de 100X. As amastigotas de *Leishmania* são organismos redondos ou ovais muito pequenos, cerca de 3µm x 5µm, que são encontrados dentro e fora das células fagocíticas (macrófagos). Cada amastigota contém um núcleo vermelho-lilás, cinetoplasto menor, com cor mais acentuada, e citoplasma azul claro. A presença de núcleo e cinetoplasto nesses organismos permite o diagnóstico de LV.

Além disso, se as condições permitirem a preparação de meio apropriado de cultura (conforme descrito no Apêndice 4), coloque material de aspirado de linfonodo ou medula óssea em cultura asséptica. Se as culturas não estiverem contaminadas com bactérias ou fungos, será possível detectar promastigotas flagelados nadando livremente nas culturas, 7 – 14 dias após a inoculação do meio com o aspirado. É muito mais difícil fazer culturas com o material de biópsia de pele. Nesses casos, é necessário, primeiramente, limpar bem a pele com álcool a 70 % em que foram dissolvidos alguns flocos de iodo e, a seguir, limpar novamente o local com álcool a 70 %, antes de se fazer a biópsia, com total assepsia.

6.5. Como é efetuado o diagnóstico sorológico?

Os exames sorológicos mais úteis são o de formol-gel (teste de aldeído) em tubos de ensaio ou lâminas de microscopia; o exame de aglutinação direta (TAD); a imunofluorescência indireta (IFI); e os testes imunoenzimáticos (ELISA ou Dot-ELISA). Esses exames são descritos, em detalhe, nos Apêndices 6 (teste de formol-gel), 7 (TAD), 8 (IFI) e 9 (ELISA).

Os testes de formol-gel e aglutinação direta (contanto que se use uma fonte padronizada confiável do antígeno TAD) podem ser realizados fora do laboratório, nos centros de atenção primária de saúde. O IFI e o ELISA exigem instalações laboratoriais e material mais sofisticados. Entretanto, estão sendo desenvolvidos testes rápidos ELISA ou de dipstick, para uso em centros de atenção primária de saúde, ou em casa.

6.6. Como podem ser tratados os cães infectados?

Não há tratamento comprovado para se obter a cura permanente dos cães. Na Europa, o seguinte esquema de tratamentos repetidos é utilizado algumas vezes para obter melhora clínica.

Antimônio pentavalente: 5 mg/kg/dia, durante 14 – 30 dias, repetido a intervalos de 5 – 6 meses.

Na maioria dos casos, a doença recidiva após cada série de tratamento. Esse método pode induzir resistência dos parasitas de *Leishmania* ao antimônio pentavalente. Assim, os cães constituiriam um reservatório para a infecção humana.

Recomenda-se, portanto, que os medicamentos utilizados para tratar as infecções humanas não sejam utilizados nos cães, a fim de evitar o desenvolvimento de parasitas resistentes.

6.7. Como impedir que os cães infectados infectem os flebótomos?

Não há, atualmente, qualquer método eficaz para impedir que os cães infectados infectem os flebótomos. Nos cães, o uso de coleiras, sabonetes e shampoos e a borrifação com piretróides ainda não são eficazes.

6.8. Como proteger os cães da infecção?

Não existe qualquer método para proteger os cães nas áreas endêmicas. A única maneira de proteger o cão da infecção pelo parasita é retirá-lo da área endêmica.

6.9. Quais são os critérios para eliminação de cães infectados?

Observe que, em algumas áreas endêmicas de LV humana, a LV canina não ocorre e, portanto, nestes casos (Índia, Sudão), os cães não são considerados reservatórios relevantes da infecção humana (ver Apêndice 2).

Em muitas áreas endêmicas, existem políticas governamentais e legislação que determinam a eliminação dos cães infectados pela LV.

Em geral, todo cão com parasitologia positiva deve ser eliminado, uma vez que pode constituir reservatório da infecção para os flebótomos e fonte da doença humana.

Nas áreas endêmicas de LV humana, recomenda-se, com freqüência, que todos os cães com sorologia positiva sejam eliminados, uma vez que são, certamente, portadores ativos da infecção e podem contribuir à disseminação da doença humana.

Na Europa, os cães são alguma vezes tratados, repetidamente, com antimônio pentavalente. Não é considerado apropriado, contudo, que a mesma droga empregada no tratamento da infecção humana seja usada na terapia dos cães, uma vez que isso poderá resultar em parasitas resistentes à droga (ver parágrafo 6.6).

Em muitas áreas endêmicas, existem limitações financeiras à implementação das políticas governamentais e do princípio de eliminação universal de cães com parasitologia positiva. Além disso, faltam reagentes e material para a eliminação humanitária desses animais (Seção 7).

6.10. Como e a quem se devem notificar os casos de LV canina?

As infecções caninas de LV devem ser notificadas à autoridade local de saúde pública ou veterinária, a fim de fornecer informações epidemiológicas importantes sobre a distribuição e possível disseminação da doença (ver Seção 8).

6.11. Que medidas de acompanhamento devem ser consideradas pelo médico veterinário (para informar e proteger a comunidade)?

Os médicos veterinários devem contribuir à elaboração e distribuição de material informativo (folhetos, cartazes, material para a mídia) que informe os donos de cães infectados e suas famílias a respeito da epidemiologia da LV, o prognóstico da LV canina e os riscos potenciais à saúde humana. Por outra parte, os donos de outros cães na área endêmica devem ficar cientes do risco potencial e das conseqüências da LV canina.

Além disso, os veterinários deveriam contribuir à educação sanitária da população e participar das atividades comunitárias.

6.12. Quais são os serviços e o material mínimo/especial necessários?

Para o exame microscópico dos esfregaços corados: microscópio com objetiva de imersão em óleo de 50X ou 100X, lâminas de microscopia, bandejas para corar, seringas (10 ou 20 ml), agulhas, cloreto de sódio, fosfato disódico hidrogenado, corante de Gierusa.

Além disso, são necessários reagentes e material de diagnóstico sorológico da LV canina (ver Apêndices 6 – 9).