

3. LV e o Diagnóstico Laboratorial

3.1. Como é realizada a microscopia para diagnóstico laboratorial?

O ideal seria que os esfregaços de aspirados ou biópsias (ver Seção 2), provenientes de centros de saúde pública ou médicos de família, fossem examinados no dia de chegada ao laboratório. Se os exames só puderem ser realizados no dia seguinte, as lâminas devem ser armazenadas secas, em recipientes fechados, a temperatura ambiente.

Quando os esfregaços são preparados no próprio laboratório, devem ser secados rapidamente (por exemplo, esfregando o lado inferior da lâmina com o dedo, para aquecer o vidro ligeiramente e evaporar qualquer umidade) e, a seguir, fixados em álcool metílico puro (metanol a 100 %), durante um minuto. O álcool metílico deve ser armazenado em frascos perfeitamente tampados, a fim de prevenir a absorção de água da atmosfera.

Core as lâminas com Giemsa, conforme descrito no Apêndice 5.

Examine os esfregaços corados pelo Giemsa usando uma objetiva de imersão em óleo de 100X. As amastigotas de *Leishmania* são muito pequenas, arredondadas ou ovaladas, cerca de 3µm x 5µm, e são detectados no interior ou exterior das células fagóticas (macrófagos). Cada amastigota é formada por um núcleo de cor vermelho-lilás, cinetoplasto menor, de cor mais pronunciada e citoplasma azul claro. No caso da LV, a característica que estabelece o diagnóstico é a presença de núcleo e cinetoplasto nesses organismos (Diapositivos 25, 26 e 27).

Em aproximadamente 50 % dos pacientes gravemente imunossuprimidos, como os indivíduos com infecção intercorrente pelo HIV, as amastigotas de *Leishmania* podem ser detectadas mediante exame de esfregaços finos ou gota grossa de sangue periférico.

Com freqüência, a sensibilidade do exame parasitológico pode ser aumentada colocando assepticamente o aspirado ou material de biópsia num meio de cultura e examinando o meio após alguns dias. [O Apêndice 4 contém uma descrição da preparação e inoculação do meio de cultura.] A desvantagem desse método é não poder fornecer um diagnóstico imediato. Além disso, se os técnicos de laboratório não forem bastante habilidosos na preparação e inoculação do meio com o material do aspirado ou da biópsia, as culturas podem ser facilmente contaminadas por bactérias ou fungos. Em geral, a

Leishmania cresce na cultura como promastigotas flagelados, que nadam livremente no meio, embora também possa se dividir em agrupamentos de amastigotas (Apêndice 4, Diapositivo 28).

3.2. Quais são os sinais hematológicos associados à LV?

Os exames hematológicos laboratoriais úteis na detecção dos sinais de LV são o hematócrito, para determinar o volume de hemácias sedimentadas, ou volume globular (VG); a determinação de hemoglobina (Hb); a contagem de leucócitos (Apêndice 5); e determinação da proteína sérica total.

Esses exames podem indicar:

Anemia, especialmente em casos de LV grave.

Diminuição do número de leucócitos (leucopenia), com contagem de leucócitos totais inferior $2.0 \times 10^9/l$.

Aumento na proteína sérica total (Diapositivo 29).

Uma taxa de sedimentação de eritrócitos muito alta (TSE) e número reduzido de plaquetas (trombocitopenia), que levam a tempo de coagulação prolongado.

3.3. Que exames sorológicos são úteis no diagnóstico de LV?

Os exames sorológicos disponíveis são o de formol-gel (teste de aldeído) em tubos de ensaio ou lâminas (útil na ausência de outros exames); o exame de aglutinação direta (TAD); o teste de imunofluorescência indireta (IFI); e o teste imunoenzimático (ELISA). Esses exames são descritos, em detalhe, nos Apêndices 6 (teste de formol-gel), 7 (TAD), 8 (IFI) e 9 (ELISA) (Diapositivos 30, 31, 32 e 33).

Os testes de formol-gel e aglutinação direta (contanto que se use uma fonte padronizada confiável de 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.

3.4. Que métodos de diagnóstico devem ser usados no acompanhamento dos pacientes tratados?

Na ausência de melhora clínica e/ou hematológica no paciente tratado, ou nos casos de recidiva clínica, será necessário repetir os testes de diagnóstico parasitológico, a fim de determinar se o parasita ainda está presente. Os pacientes com parasitologia positiva devem ser tratados com um esquema terapêutico modificado, uma droga de segunda escolha, ou uma combinação de drogas (ver Seção 4).

No caso de pacientes com boa evolução clínica, uma resposta alérgica de hipersensibilidade celular retardada positiva (intradermoreação de Montenegro; Apêndice 10, diapositivo 34) confirmará a cura.

3.5. Quais são os serviços e o material mínimo/especial necessários para o diagnóstico laboratorial?

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

Os Apêndices 4 – 10 apresentam outros materiais e serviços necessários para os exames parasitológicos, sorológicos e hematológicos.