

Módulo 3

Diagnóstico

Diagnóstico

APRESENTAÇÃO DO MÓDULO

No módulo 3 vamos detalhar como deve ser realizado o diagnóstico da LTA. Vamos discutir sobre aspectos básicos para composição do diagnóstico, que devem ser seguidos a fim de não haver confusão e atrasos. Abordaremos a importância do exame físico e da investigação epidemiológica nesse contexto e vamos apresentar os exames complementares utilizados para o diagnóstico da doença, com destaque para a importância da adequada coleta e encaminhamento das amostras.

Vimos que a Leishmaniose é uma realidade no Brasil e, portanto, precisamos estar aptos a reconhecer esta doença. Neste módulo pretendemos apresentar alguns elementos que podem se constituir em critérios para o sucesso do diagnóstico.

Você quer ver? São condutas bem simples, mas que quando bem empregadas conduzem de fato à confirmação ou exclusão do diagnóstico. Estamos falando de três aspectos básicos que compõem o diagnóstico:

1. Uma boa história clínica e epidemiológica;
2. Não queimar etapas na sequência de solicitação dos exames;
3. Colher e encaminhar corretamente os espécimes clínicos.

Vamos, então, por partes. Para fazer o diagnóstico clínico de Leishmaniose precisamos interrogar sobre o modo de início da lesão, o tempo de evolução e a epidemiologia. Como na maior parte dos casos a pessoa apresenta uma lesão ulcerosa nos braços, pernas ou face, precisamos saber se foi decorrente de trauma, picada de inseto ou de origem desconhecida.



- Qual dos três modos de aparecimento da lesão você acha que é o mais relatado?

Os três podem ser relatados, porém ter sido picado por um inseto não é o mais comum, pois entre a picada não percebida e a lesão passa-se pelo menos três semanas, o tempo do período de incubação.

Na maioria das vezes o paciente com Leishmaniose desconhece o que originou sua lesão. O que o leva ao médico é justamente a estranheza em relação àquela ferida. Ele às vezes até supõe ter sido uma picada de inseto, pois a lesão se inicia como uma pápula pruriginosa, mas em seguida, com o desenvolvimento

MÓDULO 3

da úlcera ele já não sabe “o que é aquilo”, uma ferida que não dói, mas também não fica boa.

Por isso em alguns lugares do Brasil a Leishmaniose é popularmente conhecida como “ferida brava”. Quando a pessoa relata que sofreu uma picada de mosquito, coçou o local, o qual em seguida ficou vermelho e, em 48h surgiu uma ferida, ela não está relatando a evolução natural da Leishmaniose, mas de uma possível piодermite ou ectima. O relato de trauma precedendo a lesão de Leishmaniose não invalida totalmente a hipótese, mas torna-a muito remota e deve remeter ao diagnóstico diferencial com esporotricose. Podemos minimizar estas pequenas dúvidas acrescentando a pergunta sobre o tempo de evolução.

A Leishmaniose é uma doença que se instala lentamente, tem um período de incubação e tende a estabilização ou melhora depois de alguns meses. O paciente costuma chegar com 3 a 4 meses de evolução e frequentemente este é seu único problema.

Pacientes apresentando lesões crônicas, dolorosas, de anos de evolução, com fundo fibrinonecrótico, contorno irregular, localizadas no terço distal das pernas, associadas a história de diabetes ou hipertensão arterial, não devem ser submetidos à investigação para Leishmaniose antes da correta abordagem terapêutica para úlceras de origem vascular.

E por último, é imprescindível que esteja registrado na ficha do doente sua história epidemiológica. Sem os dados epidemiológicos nada do que foi dito acima tem valor. Para que haja Leishmaniose, a pessoa tem que ter sido exposta a um ambiente onde existam as condições de transmissão do parasita, logo precisamos interrogar sobre o possível local de infecção, isto é, onde a pessoa estava ou esteve antes do aparecimento da doença.

Quanto melhor for a sua capacidade de observar e colher dados clínicos e epidemiológicos, maior será sua capacidade de fazer o diagnóstico. Utilize todos os seus conhecimentos sobre o modo de transmissão da doença. Quando for conversar com o doente, peça que descreva onde esteve, interogue sobre a existência de outras pessoas com quadro semelhante, pergunte se já ouviu falar de Leishmaniose. O diagnóstico depende muito mais da clínica do que dos exames. Com uma boa história clínica e epidemiológica você terá mais da metade do diagnóstico feito.

Além de ajudar a formular a hipótese diagnóstica, esta informação é fundamental para o preenchimento da ficha de notificação, pois é a partir daí que serão desencadeadas as medidas de vigilância epidemiológica e controle. Lembrar que, nos casos de lesão mucosa, consideramos como o provável local de infecção o lugar onde a pessoa adquiriu a lesão primária da Leishmaniose, ou seja, aquela que deixou a cicatriz suspeita. Isso porque a Leishmaniose mucosa é, na maioria das vezes, uma lesão secundária.

Em continuidade ao processo do diagnóstico buscamos a confirmação laboratorial.

No caso da Leishmaniose esta etapa costuma ser meio frustrante, pois a confirmação parasitológica não é fácil. Por isso é **imprescindível não queimar etapas na sequência de solicitação dos exames**.

Entre os exames complementares realizados para a confirmação da Leishmaniose, temos os testes imunológicos e os parasitológicos. Como a infecção por *Leishmania* provoca no organismo uma resposta imune celular, os testes sorológicos não são recomendados para a complementação diagnóstica, pois eles avaliam apenas a resposta imune humoral. Com exceção dos casos de lesões mucosas, os pacientes de forma cutânea apresentam uma resposta de anticorpos muito fraca e irregular que em nada ajuda no diagnóstico. Portanto, a pesquisa de anticorpos para *Leishmania* não está indicada na LTA.

1. Teste de Montenegro

O teste de Montenegro é o primeiro exame a ser solicitado em caso de suspeita de LTA.

A reação intradérmica de Montenegro (IDRM), conhecida também como Teste de Montenegro, é uma reação de hipersensibilidade retardada que revela a presença de resposta imune celular ao parasita. Uma vez que a pessoa tenha sido infectada por *Leishmania* ou picada por flebótomo contendo antígenos de *Leishmania*, ela pode reagir ao teste de Montenegro.

Vimos na Unidade 2 do Módulo 1 que após a picada infectante, muitas *Leishmânias* morrem e nem sempre o parasita se estabelece causando doença. Entretanto o sistema imune é estimulado e o teste de Montenegro torna-se reator.

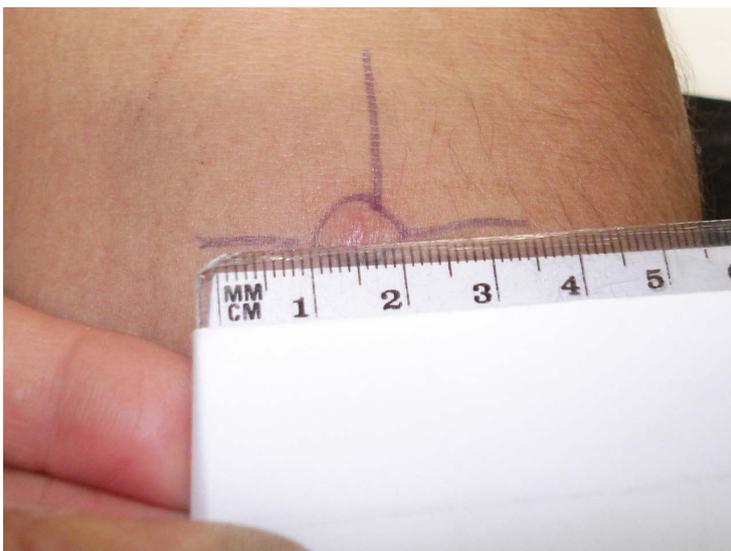
O teste é considerado positivo ou reator quando o diâmetro da pápula, formada em 48h no local da injeção intradérmica, mede 5 mm ou mais. A positividade da IDRM permanece pela vida toda nos indivíduos infectados e nos doentes, mesmo depois da cura da lesão.



- Que valor então poderia ter um teste que não discrimina doentes de infectados?

Os pacientes com lesões ativas tendem a apresentar reações fortes, com mais de 10 mm de diâmetro (**Figura 27**), enquanto os demais apresentam reações limítrofes. Destacam-se no grupo dos fortes reatores os pacientes com lesões mucosas, os quais podem apresentar reações tão intensas que chegam a produzir bolhas e área de isquemia e necrose no ponto inoculação.

Figura 27. Teste de Montenegro positivo medindo 10 mm no seu maior diâmetro.



Fonte: Elaborado pelo autora.

Estas reações necrótico-flictenulares corroboram o diagnóstico e evoluem com a formação de uma pequena ulceração que se assemelha à lesão primária. Quando isto acontece a IDRМ é dita isomorfa (**Figura 28**). Nos demais casos, a interpretação da positividade da reação de Montenegro deve se somar ao quadro clínico e epidemiológico, pois embora ela não confirme o diagnóstico quando positiva, fornece um forte indício e indica que sim, o paciente foi infectado e aquela é uma lesão que pode ser Leishmaniose.

Figura 28. Reação de Montenegro isomorfa com lesão ulcerada no ponto de inoculação do reagente decorrente de isquemia e necrose, em paciente com lesão mucosa e passado de Leishmaniose cutânea há 20 anos.



Fonte: Elaborado pelo autora.

A reação de Montenegro negativa torna improvável a hipótese de Leishmaniose e outros diagnósticos devem ser investigados. Por este motivo ela deve ser o primeiro exame a ser realizado a partir da suspeita clínica. Existem exceções? Sim, pacientes co-infectados com HIV em condição de baixa imunidade, outros casos de imunodepressão e os portadores da forma cutânea difusa.

A confirmação de um caso de Leishmaniose pode ser feita em bases clínicas e epidemiológicas somadas a um teste de Montenegro positivo ou além destas, complementada por exames parasitológicos. A demonstração do parasita pode ser obtida através de exame direto, histopatológico, isolamento do parasita em cultura ou por detecção do DNA parasitário através da reação em cadeia da polimerase (PCR). Identificar o parasita é o ideal para o estabelecimento do diagnóstico em uma doença parasitária. No entanto, no caso da LTA e, sobretudo nas infecções por *Leishmania (V.) braziliensis*, a demonstração do parasita é bastante difícil e fica pior ainda quanto maior for o tempo de evolução da lesão. Esta dificuldade fica mais evidenciada nos casos de lesão mucosa, que são infecções de longa duração e uma enorme pobreza parasitária nos tecidos.

Existem vários métodos para a obtenção do diagnóstico parasitológico e vamos descrever cada um deles.

2. Exame “Raspado”

Com o raspado começa a investigação parasitológica.

O exame mais simples para a demonstração do parasita é o raspado. Para a sua execução são necessárias duas lâminas de vidro novas e limpas (desengorduradas) e uma lâmina de bisturi. Depois da higienização da borda da lesão, retirada de crostas e realização de botão anestésico, procede-se à raspagem com a face não cortante da lâmina de bisturi.

Ela deve ser feita sob a borda interna da úlcera, obtendo-se linfa e algum tecido, que são esfregados em lâmina de vidro, corados e examinados ao microscópio para procura de formas amastigotas de *Leishmania*.

Figura 29. Realização do exame de raspado.



Fonte: Elaborado pelo autora.

Não é possível identificar a espécie de *Leishmania* pelo exame direto. A identificação da espécie só pode ser feita a partir do isolamento em meio de cultura ou pela PCR. O raspado da lesão pode ser colhido em nível ambulatorial e não demanda centro cirúrgico.

A simplicidade do procedimento compensa seu baixo rendimento, em torno de 43% de positividade. É, portanto, uma boa opção quando não se tem condições de realizar biópsia de pele, porém **não se aplica aos casos de lesão mucosa**.

3. Biópsia de pele

É o procedimento mais complexo, porém de grande valia para complementar o diagnóstico clínico-epidemiológico.

O segundo procedimento para demonstração do parasita é a biópsia da lesão, indicada em todos os casos. A obtenção do fragmento de biópsia nos fornece duas oportunidades básicas para a demonstração do parasita: o *imprint* e o histopatológico.

A técnica do *imprint* permite utilizar o fragmento obtido na biópsia como se fosse um carimbo sobre uma lâmina de vidro. Este procedimento transfere células e parasitas para a lâmina, a qual depois de corada é examinada ao microscópio para pesquisa de formas amastigotas.

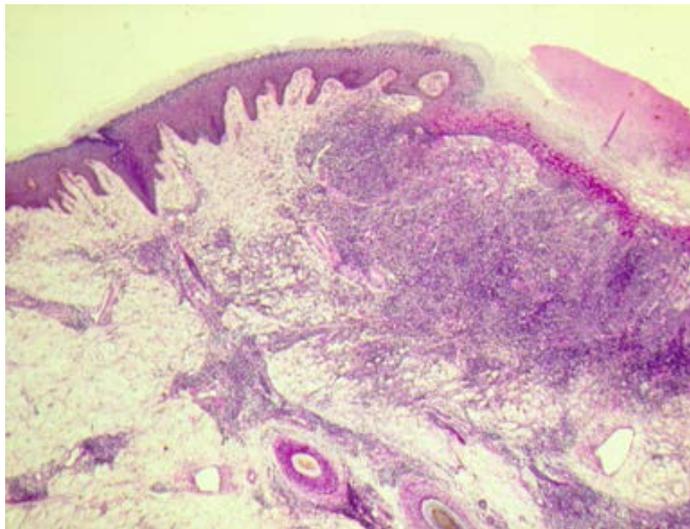
O resultado da pesquisa parasitológica feita desta maneira é bem mais rápido do que o histopatológico. Seria o equivalente a um exame citológico do tecido. Seu rendimento nas formas cutâneas é de 82% de positividade. Não é possível fazê-lo nas biópsias mucosas, nas quais o fragmento é exíguo, sempre muito coberto de sangue além de se caracterizar pela pobreza de parasitas.

A análise do histopatológico nos fornece duas informações importantes: permite confirmar a presença do parasita e conhecer o tipo de processo inflamatório presente. Como na Leishmaniose o modo de instalação da doença é lento, o tipo de infiltrado inflamatório observado é o inflamatório crônico granulomatoso ou com esboço de granulomas.

Este infiltrado localiza-se na derme e tende a ser mais focal do que difuso. O patologista pode ou não, dependendo da sua experiência, conseguir identificar formas amastigotas de *Leishmania* na amostra (**Figuras 30 e 31**).

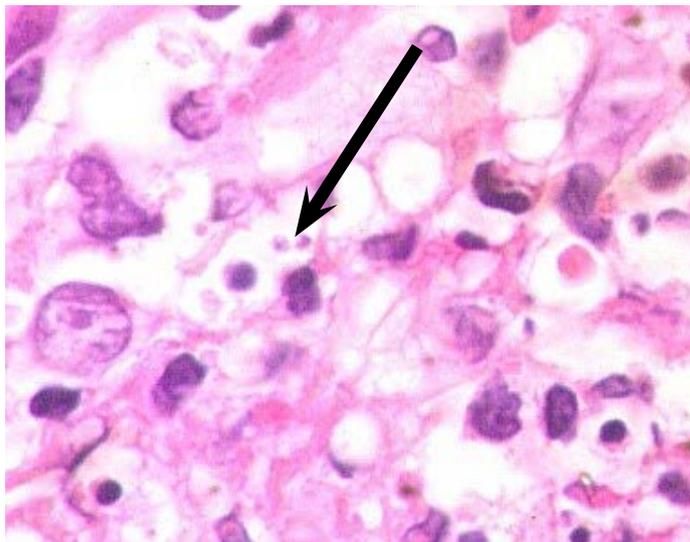
MÓDULO 3

Figura 30. Denso infiltrado inflamatório na derme sob área de epiderme ulcerada.



Cedido por: Dr. Manoel Paes de Oliveira Neto INI-FIOCRUZ- RJ.

Figura 31. Presença de duas formas amastigotas de *Leishmania* em meio ao infiltrado inflamatório, indicadas pela seta (imagem aumenta de 100x).



Cedido por: Dr. Manoel Paes de Oliveira Neto INI-FIOCRUZ- RJ.

Observe como é difícil para o patologista conseguir visualizar o parasita que mede cerca de 3 μ m x 6 μ m de diâmetro. Para ter certeza que de fato se trata de uma forma amastigota é preciso ainda que ele veja o núcleo e cinetoplasto, pois as formas amastigotas confundem-se com o fungo *Histoplasma capsulatum*.

Em média o histopatológico fornece 49% de positividade. Porém, ainda que os parasitas não sejam vistos, o infiltrado inflamatório crônico somado aos dados clínicos e epidemiológicos, é compatível com Leishmaniose e pode ser utilizado para confirmação do diagnóstico e notificação do caso. A presença de neutrófilos, polimorfonucleares, formação de abscessos, proliferação vascular, não é sugestivo de Leishmaniose.

Além destas duas possibilidades de se fazer o diagnóstico parasitológico através da biópsia, o aproveitamento do fragmento pode ser melhor ainda se tivermos a oportunidade de isolar o parasita em cultura ou fazer a detecção do seu DNA.

Esta última técnica, conhecida como PCR, permite fazer o diagnóstico nos casos em que os métodos parasitológicos anteriores foram negativos, estando disponível por meio de convênio entre instituições de referência. Verifique no Setor de vigilância sanitária do seu município ou na Secretaria Municipal de Saúde a possibilidade da realização do exame aí no seu local de trabalho. O isolamento em cultura não é feito de rotina na rede pública e sim em instituições de pesquisa.



- Qual seria então a melhor abordagem diagnóstica na LTA?

A melhor abordagem começa com uma história clínica que contemple a história epidemiológica do doente. Havendo respaldo clínico e epidemiológico, solicita-se a reação intradérmica de Montenegro (IDRM). Ela vai servir para balizar as condutas subsequentes. Se a IDRM for positiva, há indicação de continuar a investigação para Leishmaniose com a coleta dos exames que poderão fazer a confirmação parasitológica – raspado e biópsia.

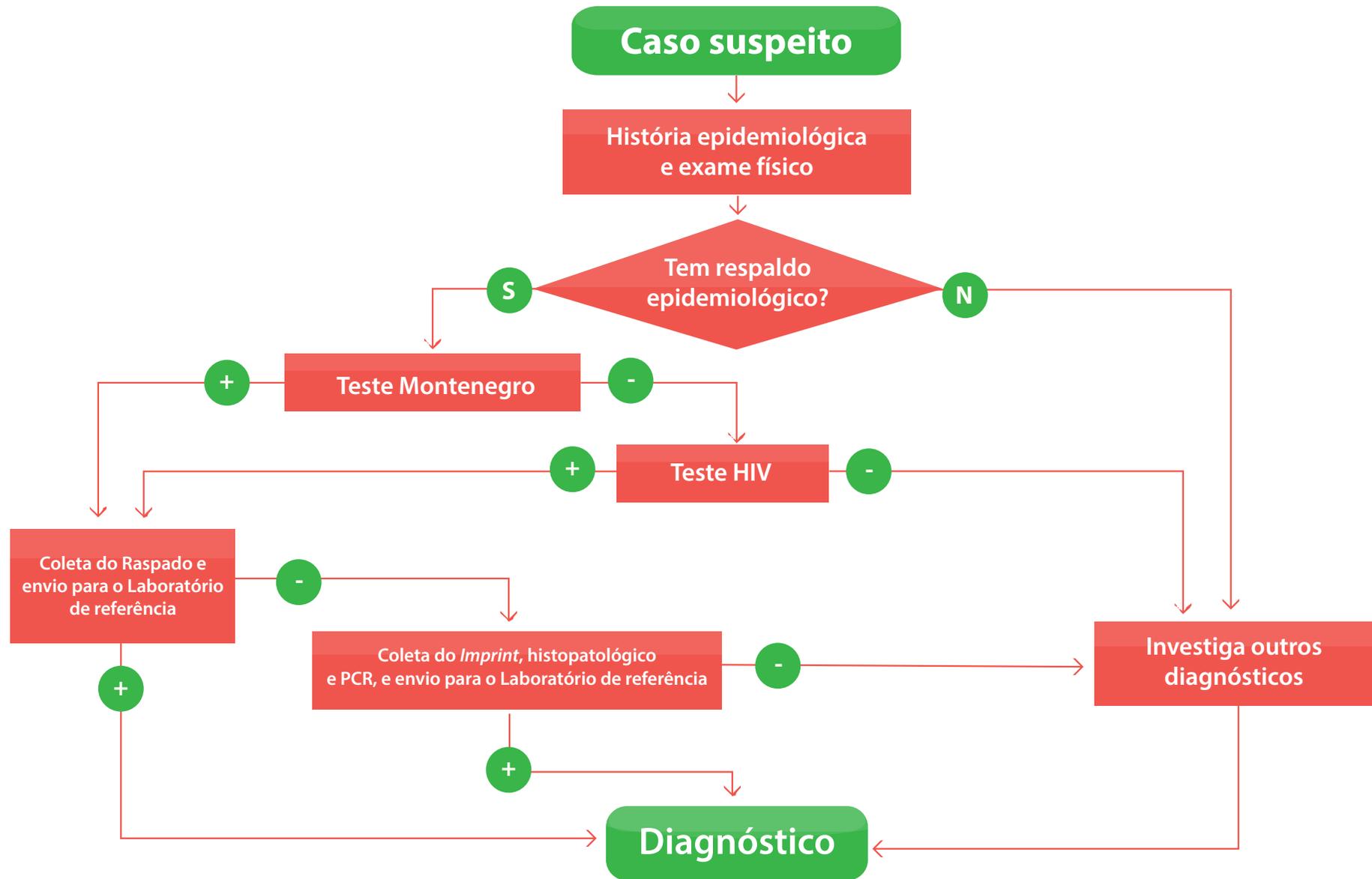
Se a IDRM for negativa, investigam-se outros diagnósticos ou co-infecção pelo HIV. No caso de portadores de lesão mucosa, nos quais dificilmente se chega ao diagnóstico parasitológico, o diagnóstico de Leishmaniose será eminentemente clínico-epidemiológico e por exclusão.

Nestes casos deve-se solicitar paralelamente, RX de tórax e PPD para afastar tuberculose e imunodifusão dupla para afastar paracoccidiodomicose e histoplasmose.

A realização dos exames na sequência apresentada permite que sigamos uma lógica de raciocínio na qual acolhemos a queixa e o quadro clínico do doente (história epidemiológica e exame físico), verificamos se houve infecção (teste de Montenegro), buscamos a confirmação parasitológica (raspado, *imprint*, histopatológico, PCR) e fechamos o diagnóstico. Fugir desta sequência costuma confundir e atrasar o diagnóstico e o tratamento.

O fluxograma apresentado na **Figura 32** resume a sequência e os passos necessários para realização do diagnóstico da LTA.

Figura 32. Fluxograma para diagnóstico da LTA.



Fonte: Elaboração própria.

Como já comentamos anteriormente, os testes diagnósticos utilizados na LTA não detectam 100% dos casos positivos e por isso, o exame físico e a investigação epidemiológica tem especial destaque no diagnóstico diferencial da doença. O **Quadro 1** apresenta a porcentagem de rendimento dos testes apresentados.

Quadro 1. Rendimento dos principais exames utilizados para o diagnóstico da LTA em SC.

Intradermorreação de Montenegro (IDRM)	Raspado	<i>Imprint</i>	Histopatológico	PCR
(68/69) 98,5%	(77/180) 42,8%	(147/179) 82,3%	(65/132) 49,2%	(172/179) 97,8%

*entre parênteses: número de exames positivos sobre o total de realizados.

Fonte: Elaboração própria.

Que tal agora um passo-a-passo com dicas para evitar os principais erros cometidos na coleta dos exames?

Começemos pela Intradermorreação de Montenegro. O sucesso da IDRM depende tanto da aplicação, como da leitura. Como o nome indica, o antígeno utilizado deve ser injetado intradérmico e não subcutâneo. Injeta-se 100 µl da solução utilizando uma seringa de 1 ml, ou seja, injeta-se 0,1 ml intradérmico na face ventral do antebraço.

Sempre anotar em qual antebraço foi aplicado. A aplicação correta produz uma pápula esbranquiçada no momento da injeção (**Figura 33**), que arde um pouco. Na figura o local foi circundado por riscos tracejados de caneta esferográfica apenas para delimitar a região onde foi aplicado o teste e facilitar a leitura.

Figura 33. Pápula pálida formada logo após a aplicação da Intradermorreação de Montenegro.



Fonte: Elaboração própria.

MÓDULO 3

Deve-se orientar o paciente para não coçar o local nem aplicar nenhum medicamento. Esta pápula vai regredir e, em até 48h, auge da reação, outra pápula eritematosa vai se formar de intensidade variável conforme o sistema imune e a forma clínica. Pacientes com lesões mucosas apresentam reações extremamente fortes. Existem situações excepcionais nas quais não é possível fazer a aplicação no antebraço, como por exemplo, no caso de atrofia cutânea senil, em que o líquido injetado se dispersa e não forma pápula. Nesta situação pode ser usada a região escapular para aplicação do teste. Após 48 h da aplicação da IDRM o doente retorna à unidade de saúde para que seja feita a leitura da reação.

O método mais sensível para se perceber onde começa a endureção é a utilização de uma caneta esferográfica. A cerca de 3 cm de distância do eritema visível, começamos a riscar com a caneta, a qual rola sobre a pele produzindo um risco de tinta em direção à pápula até que sentimos uma leve resistência quando começa a endureção e ela pára de riscar. São feitos quatro riscos perpendiculares os quais vão delimitar os diâmetros da pápula.

Com o auxílio de uma régua milimetrada medem-se os diâmetros transversal e longitudinal e considerase como resultado final o valor do maior diâmetro. Para registrar e arquivar este resultado pode-se fazer a transferência desta leitura para o papel do pedido do exame, umidecendo-o com álcool 70% e aplicando-o sobre os riscos da leitura por alguns segundos. Ao levantarmos o papel o desenho estará transferido, permitindo uma futura verificação. Veja a demonstração da aplicação e leitura na **Figura 34**.

Figura 34. Leitura da IDRM.



Fonte: Elaborado pela autora.

Observe como a utilização da esferográfica sensibiliza a leitura, revelando que a induração pode começar antes do eritema que é percebido apenas com os olhos. Vemos ainda, sobre o eritema, uma pequenina área mais brilhosa que corresponde ao início de uma flictena.

Em relação ao **raspado** é importante que seja realizado após a cuidadosa retirada das crostas do local onde será colhido e que as lâminas de vidro estejam limpas.

MÓDULO 3

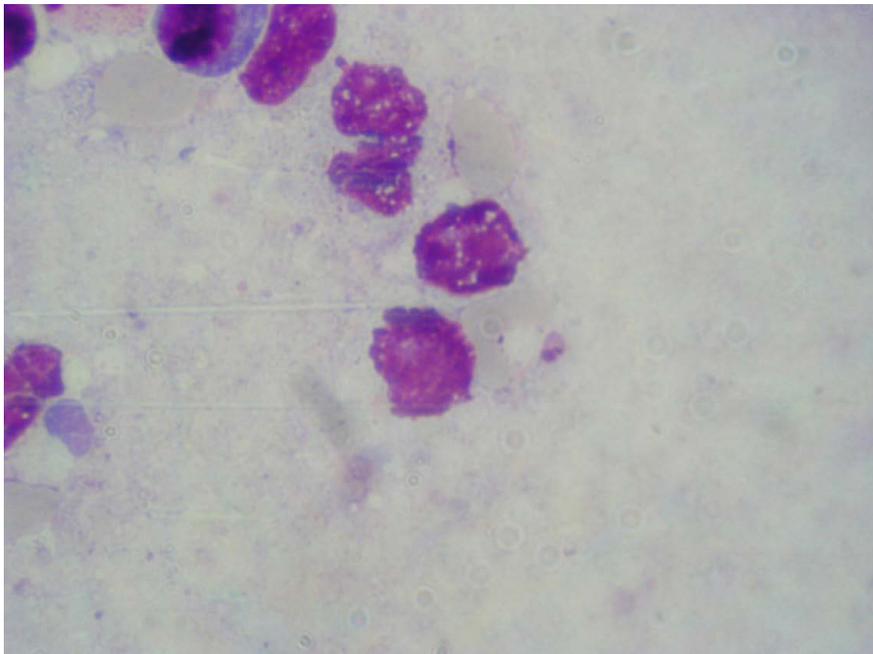
No que diz respeito à **coleta da biópsia**, o importante é a escolha da lesão a ser biopsiada. Caso haja mais de uma lesão, o ideal é escolher a mais recente e de mais fácil acesso. Evitar biopsiar lesões infectadas. Se necessário, tratar primeiro a infecção secundária para evitar complicações do procedimento e melhorar o rendimento.

O fragmento deve ser obtido da borda da lesão de modo que contenha também uma pequena amostra da pele sadia e do fundo da úlcera. Além disto, deve ser profundo o suficiente para trazer uma boa porção da derme, local do parasitismo. Após a obtenção do fragmento, ele deve ser seccionado ao meio no sentido longitudinal e esta superfície de corte é que será carimbada sobre a lâmina de vidro para fazer o **imprint**.

A **Figura 35** mostra um *imprint* bem feito, onde podemos observar uma amastigota de formato ovalado, sendo possível identificar com clareza seu núcleo e cinetopasto. Já a **Figura 36** mostra um *imprint* de má qualidade, com a presença de grumos de hemácias e artefatos.

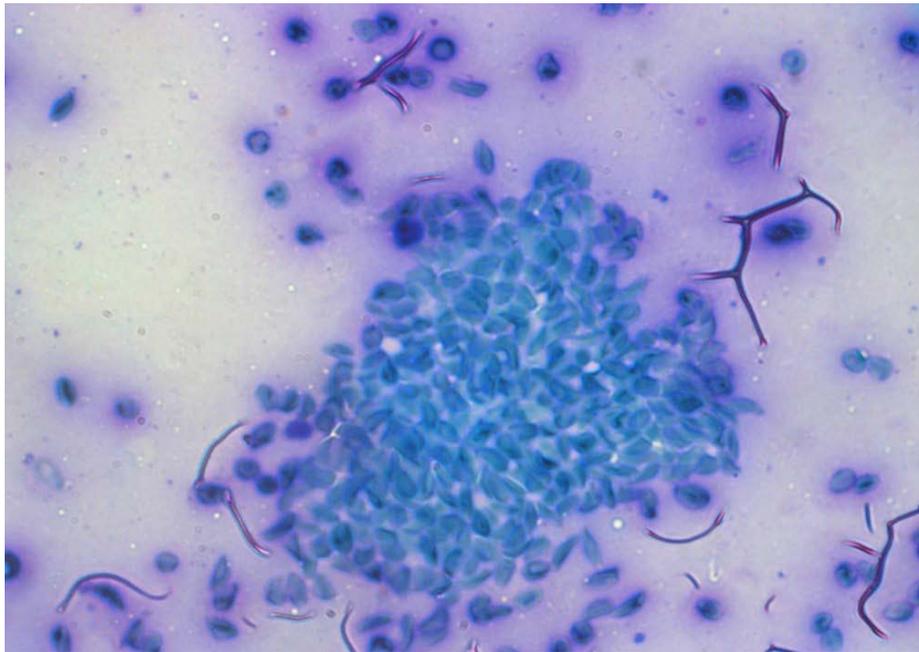
Para um bom rendimento do *imprint* é fundamental que a lâmina seja nova e limpa para não prejudicar a coloração e, que a superfície do fragmento que toca a lâmina não esteja encharcada de sangue.

Figura 35. *Imprint* bem feito.



Cedido por: Prof. Mário Steindel – MIP/UFSC.

Figura 36. *Imprint* de má qualidade, apresentando grumos de hemácias e artefatos.



Cedido por: Prof. Mário Steindel – MIP/UFSC.

Depois da utilização deste fragmento colocá-lo em um frasco com formol para o **exame histopatológico**. A outra metade será seccionada transversalmente e colocada em álcool 70 para a PCR e, quando houver possibilidade, em salina com antibiótico para cultura. Todo material obtido, inclusive as lâminas de raspado e *imprint* devem ser encaminhados ao laboratório de referência.

Você deve verificar junto a Secretaria Municipal de Saúde e a vigilância Sanitária do seu município, onde serão realizados o teste de Montenegro e a coleta de amostras para os exames parasitológicos, quais os procedimentos que devem ser realizados pelas unidades básicas de saúde e como deverão ser realizados os encaminhamentos dos pacientes. Os fluxos dos municípios diferem entre si, dependendo do seu porte, estrutura disponível e adesão ou não ao Programa de Controle da LTA.

SAIBA MAIS

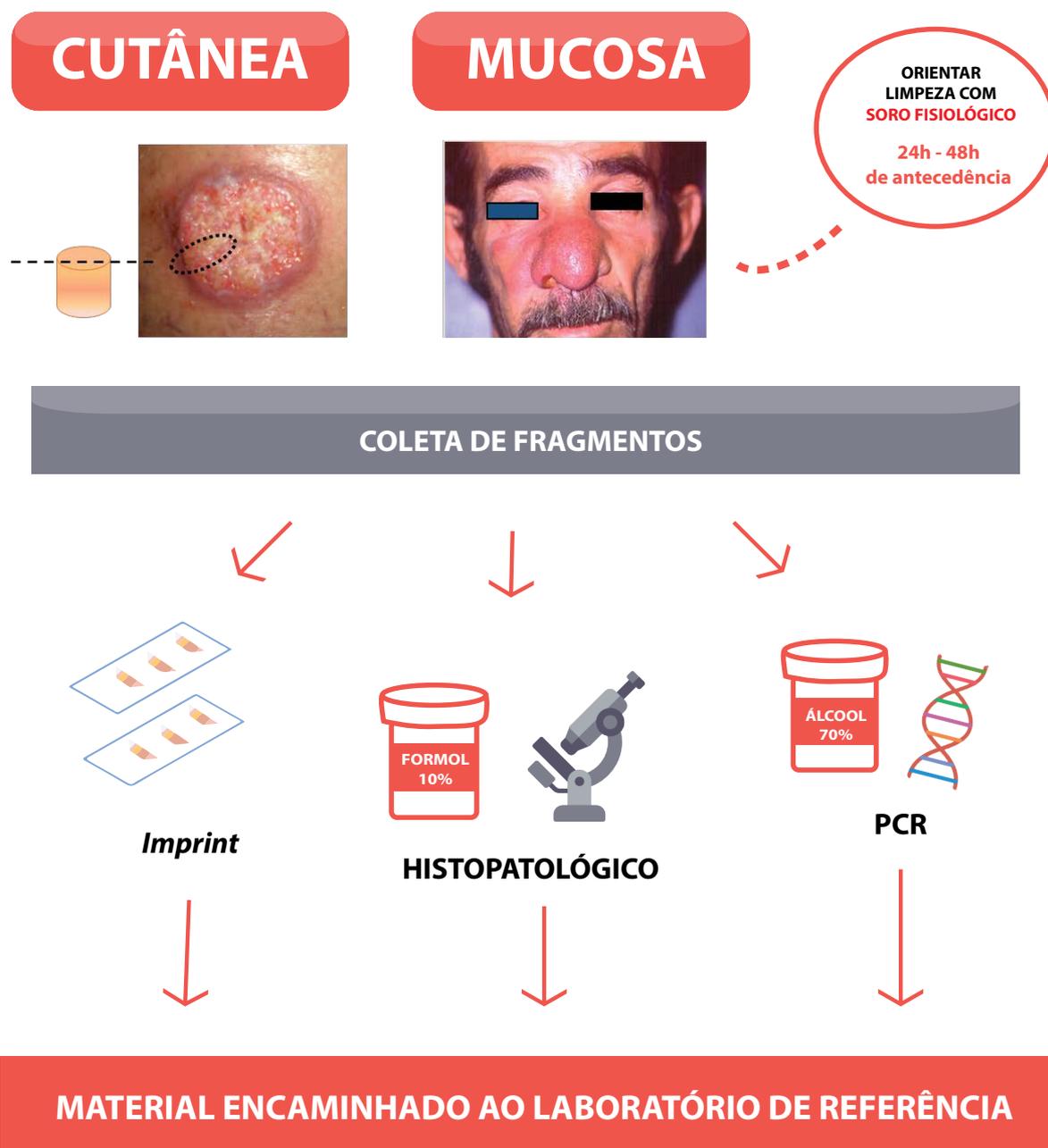
Conheça o formulário para encaminhamento de amostras para exames de LTA do LACEN laboratório de referência para os municípios de Santa Catarina, clicando sobre o link:

http://lacen.saude.sc.gov.br/arquivos/requisicoes/LEISHMANIOSE_Tegumentar.pdf

MÓDULO 3

No caso de **lesões mucosas**, orientar a limpeza das cavidades nasais com soro fisiológico de 24 a 48h antes do procedimento para reduzir ao máximo a presença de crostas. Colher dois ou três fragmentos de mucosa, evitando áreas de transição pele/mucosa. Se possível, deitar o fragmento em papel seda alinhando-o com cuidado, dobrando o papel sem dobrar o fragmento, colocando-o no formol para que seja fixado adequadamente e facilite a análise do patologista. O outro fragmento pode ser encaminhado para PCR em álcool 70. Não há necessidade de preservar a forma. Do mesmo modo que para as lesões cutâneas o material deve ser encaminhado ao laboratório de referência, como mostra o esquema da **Figura 37**:

Figura 37. Modo de encaminhamento dos fragmentos de biópsia de pele e mucosa.



Fonte: Elaboração própria.

MÓDULO 3

O momento da suspeita diagnóstica é também a ocasião para fazermos a notificação compulsória do caso. Esta etapa é muito importante, pois é através da notificação que o Ministério da Saúde programam a distribuição de insumos e medicamentos.

Portanto não hesite em entrar em contato com a Vigilância Epidemiológica do seu município quando estiver diante de um caso suspeito. Quanto mais tivermos conhecimento de onde está havendo transmissão melhor poderemos nos preparar para atender bem às pessoas.

Na próxima unidade vamos conversar sobre o manejo terapêutico do **Glucantime®**.

CONCLUSÃO

Agora você já concluiu o módulo 3!

Nesse módulo aprendemos que o diagnóstico da LTA é um processo complexo, uma vez que a doença pode ser facilmente confundida com outras patologias. O clínico com essa atribuição deve estar bem preparado para realizá-lo o mais rápido o possível, seguindo um processo lógico, que envolve a investigação clínica e a realização de exames complementares, possibilitando o diagnóstico e início de tratamento mais rápidos, que diminuem o risco de sequelas para o paciente.

No próximo módulo vamos aprender a tratar a LTA, conhecendo as abordagens terapêuticas disponíveis.

