

OBSERVAÇÕES SOBRE A HEMOCULTURA EM MEIO LIT, PARA TRYPANOSOMA CRUZI, SEGUNDO MOURÃO E MELLO (1975)

Anis RASSI (1), Vicente AMATO NETO (2) e Raquel Lopes de OLIVEIRA (3)

RESUMO

Com base em casuística constituída por pacientes acometidos de doença de Chagas, em fases aguda, subaguda e crônica, foram realizadas observações sobre a hemocultura, em meio LIT, destinada à pesquisa do *Trypanosoma cruzi* e executada segundo normas propostas por MOURÃO & MELLO. Como dedução fundamental, ficou percebido que esse procedimento laboratorial não se mostrou efetivo no que concerne à etapa crônica da parasitose, contrariando os resultados alvissareiros comunicados pelos dois pesquisadores citados. Atualmente, sobretudo em virtude de indagações em curso, relacionadas com a terapêutica específica da doença de Chagas, seria auspicioso contar com eficiente hemocultura, capaz de dispensar os trabalhosos e por vezes inconsistentes préstimos proporcionados pelo xenodiagnóstico; entretanto, a propósito, é lícito frisar que as animadoras verificações de MOURÃO & MELLO necessitam de reavaliações, por não terem sido confirmadas nas investigações agora relatadas.

INTRODUÇÃO

Para confirmação do diagnóstico da fase crônica da doença de Chagas são usadas, com maior frequência, provas sorológicas. Outros processos, tais como inoculação em animais, xenodiagnóstico e hemocultura, merecem empregos menos comuns porque envolvem execução laboriosa ou têm sensibilidade distante da ideal.

Atualmente a terapêutica específica da infecção pelo *Trypanosoma cruzi* está bastante em foco e vários grupos de pesquisadores dedicam-se a esse tema. Na verdade, a questão até mesmo já ultrapassou, intempestivamente, o âmbito das necessárias observações científicas e assumiu caráter assistencial, sem deliberações seguras que deveriam decorrer das investigações em curso. De qualquer forma, os estudos acerca do tratamento antiparasitário em tela reque-

rem, acima de tudo, comprovação de que o parasitismo foi, em determinadas circunstâncias, efetivamente combatido por composto ativo. Essa verificação depende fundamentalmente da utilização do xenodiagnóstico, que constitui tipo de exame inegavelmente pleno de percalços, ligados por exemplo à criação dos insetos, à demora para obtenção do resultado, à repugnância demonstrada por alguns pacientes e à falta de padronização. Diante desse panorama, afigura-se justificada a procura de uma tática alternativa e, particularmente, o revigoramento do interesse pela hemocultura.

No que concerne à fase crônica da doença de Chagas, a hemocultura tem propiciado, através de diferentes estudiosos do assunto, resultados muito variáveis, que vão desde os decep-

Universidade Federal de Goiás. Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina e Instituto de Patologia Tropical

(1) Professor-adjunto do Departamento de Clínica Médica

(2) Professor-titular de Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

(3) Do Instituto de Patologia Tropical

cionantes até os intensamente animadores. Cremos que alguns fatores, entre os quais lembramos a modalidade de meio de cultura (Bonacci, LIT, N.N.N. e Warren), a quantidade de sangue semeado e o manuseio enriquecedor prévio do mesmo, o número de tubos e as repetições do exame relativamente a um determinado enfermo, ajudam a explicar as disparidades^{1,2,3,4,5,6,7,9}.

Comunicação de MOURÃO & MELLO⁸ pareceu-nos alvissareira. Recorrendo a apenas dois tubos, removendo o plasma e lavando os elementos figurados do sangue, para eliminar ou reduzir a ação de substâncias nocivas ao desenvolvimento do *T. cruzi*, os pesquisadores mencionados conseguiram expressivos resultados, em investigação pertinente à etapa crônica da doença de Chagas. Com uma só hemocultura ocorreu 30% de positividade e, por meio de reiteração da prova, a taxa correspondente a evidenciações do parasito chegou até 71,4%, trazendo fato marcante. A essa eficiência, é preciso acrescentar, segundo MOURÃO & MELLO⁸, a praticidade e a fácil execução do procedimento.

Diante dessas importantes constatações, decidimos analisar o valor da tática em doentes sob nossos cuidados e acometidos de doença de Chagas, em fases evolutivas diversas. Acima de tudo, pretendemos decidir se a nova conduta pode, realmente, prestar auxílio de melhor qualidade, permitindo substituição do xenodiagnóstico em apreciações referentes ao tratamento específico da infecção devida ao *T. cruzi*.

MATERIAL E MÉTODOS

Executamos as hemoculturas exatamente como MOURÃO & MELLO⁸ preconizaram. Suplementalmente, semeamos sangue em um terceiro tubo contendo o meio de cultivo e 1 ml com preparação de corticóide composta de 2 mg de dexametasona em 30 ml de solução fisiológica. Na mesma data da retirada do sangue praticamos xenodiagnóstico com 40 ninfas de terceiro e quarto estádios de *Triatoma infestans*. Ainda mais, em 16 oportunidades colocamos no LIT "pool" de fezes de triatomíneos correspondentes a xenodiagnósticos positivos em exame praticado 30 dias após o repasto; em 1 a 2 ml de solução fisiológica pusemos o material conseguido em seguida à expressão abdominal e, provi-

denciado contato com penicilina e tiabendazol durante 15 minutos, praticamos semeadura em quatro tubos com 5 ml de meio, para análises semanais até terminar período de um mês. Acerca dessas providências por último explicadas, destacamos que os xenodiagnósticos tiveram lugar em seis indivíduos na fase aguda, em dois na subaguda e em oito na crônica, como informamos outrossim que as fezes foram colocadas nos referidos tubos de 39 a 117 dias depois de terem sido os triatomíneos aplicados sobre a pele.

A adição do corticóide deve ser encarada como desprezenciosa atitude indagativa. O hormônio tem capacidade de influir na multiplicação de microrganismos *in vivo* e igual participação não é esperável automaticamente *in vitro*. Como ele é estimulador da síntese protéica enveredamos por essa consideração paralela, sem qualquer intenção de maior porte, mesmo porque essa ação muito provavelmente tem relação com dose conveniente, ainda não estipulada. Frisamos outrossim que as fezes de insetos tiveram a aplicação descrita só para testar a validade do meio, em ambiente onde não contávamos com camundongos ou outros animais infectados pelo *T. cruzi*; as culturas com elas promovidas não envolveram, então, qualquer intuito de comparação. É imperioso deixar claro que essas duas providências entraram em cena ao lado do objetivo fundamental constituído pela hemocultura e, jamais, podem ser focalizadas como caracterizadoras ou prioritárias no âmbito da pesquisa empreendida.

A seguir especificamos detalhes sobre as caustísticas que utilizamos.

Fase aguda — Número de casos: nove; idades: de dois a 32 anos; sexo: quatro e cinco masculino e feminino, respectivamente; exames dos tubos realizados, sem uniformidade, desde dez até 36 dias após a semeadura, em duas ou quatro ocasiões e sem intervalos regulares, sendo que positividade à análise inicial tornava dispensável o prosseguimento da prova.

Fase subaguda (presença de manifestações remanescentes da aguda e pesquisas negativas, por processos diretos, do *T. cruzi* no sangue periférico) — Número de casos: dois; idades: 35 e 36 anos; sexo: masculino; exames dos tubos realizados como relatamos no parágrafo anterior.

No que diz respeito aos pacientes em fases aguda e subaguda, levamos a efeito só uma hemocultura relativamente a cada um deles.

Fase crônica — Número de casos: 24; idades: de 11 a 55 anos e, muito mais comumente, de 27 a 47; sexo: 11 e 13 masculino e feminino, respectivamente; número de hemoculturas: quatro relativamente a 23 pacientes e três a um, com pausa de um mês, e, só excepcionalmente, de um mês e meio; exames dos tubos realizados em três ocasiões, com intervalos regulares de 15 dias, sucedendo o primeiro um mês após a sementeira.

RESULTADOS

As nossas verificações encontram-se adiante relatadas.

Fase aguda — Número de casos com hemocultura positiva: seis; número de casos com hemocultura negativa: três; correspondência de positividade entre hemocultura e xenodiagnóstico: duas vezes; discordância de positividade entre hemocultura e xenodiagnóstico, sendo aquela positiva e este negativo: três vezes; discordância de positividade entre hemocultura e xenodiagnóstico, sendo aquela negativa e este positivo: três vezes; observação: em um caso o xenodiagnóstico não foi realizado.

Fase subaguda — A hemocultura relativa aos dois casos foi negativa e o xenodiagnóstico positivo.

Fase crônica — Todas as hemoculturas foram negativas, enquanto que um dos xenodiagnósticos, entre quatro, em relação a oito casos resultou positivo, tendo o mesmo ocorrido com dois dos quatro imanescentes a outro paciente.

As culturas com corticóide só foram positivas em correspondência com a fase aguda e em exata coincidência com as hemoculturas sem adição de esteróide ao meio.

Fezes de triatomíneos que sugaram pessoas cujos estádios da enfermidade eram os agudo, subagudo e crônico, conduziram a sete positivities em 16 tentativas e mantiveram vínculo com essas três épocas, indiferentemente.

Em uma pequena quantidade de tubos sobreveio contaminação bacteriana, impediente de procura conclusiva do *T. cruzi*. Também certos xenodiagnósticos ficaram um pouco prejudicados, pela morte de discreto número de triatomí-

neos. Parece-nos que esses acontecimentos podem ser interpretados como inexpressivos no âmbito das ilações que estabelecemos.

DISCUSSÃO

As constatações antes expostas deixam bem claro que não confirmamos os bons e animadores resultados conseguidos por MOURÃO & MELLO⁸ e tocantes à fase crônica da doença de Chagas. Ao contrário, com o sangue de pacientes nessa etapa da protozoose não obtivemos exames positivos, estabelecendo notória diferença com o que informaram os dois pesquisadores aludidos.

Quanto aos estádios agudo e subagudo, ocorreram hemoculturas positivas na primeira e negativas na segunda, se bem que o sucedido nesta etapa dispensa comentários, em face ao pequeno número de tentativas realizadas. O comprovado na fase inicial envolve algum interesse, mas é lícito rememorar que mesmo nesse período de parasitemia geralmente bem elevada não detectamos o protozoário em três ocasiões.

As positivities apuradas relativamente à fase aguda demonstram a correção do nosso trabalho sob o ponto de vista técnico. Entretanto, elas não criam perspectivas alentadoras, uma vez que necessitamos de aprimoramento justamente em trabalhos referentes ao estádio crônico, ligados sobretudo a diagnóstico etiológico e controle de cura de tratamento específico.

O xenodiagnóstico comportou-se como a hemocultura no que concerne à fase aguda e suplantou-a quando considerados os poucos casos de acometimento subagudo; contudo, ao ser focalizada a forma crônica da doença de Chagas, o exame efetuado com triatomíneos revelou-se sem dúvida melhor.

A especulação levada a cabo com corticóide não proporcionou qualquer subsídio especial ou suplementar. Por seu turno, as culturas com "pool" de fezes de "barbeiros" documentaram também, mormente, a efetividade do meio e da conduta tática, não tendo conduzido sistematicamente a positivities, apesar do ponto de partida representado pelo encontro do *T. cruzi* nos exames dos insetos antes cumpridos.

Como dedução final e mais proeminente, frisamos que a eficiência da hemocultura por nós focalizada requer judiciosa ponderação. Novos

estudos poderão conduzir a melhor juízo sobre ela; porém, de nossa parte, cremos que são contestáveis as deduções de MOURÃO & MELLO⁸, de molde a arrefecer o entusiasmo gerado pelas informações que eles divulgaram.

SUMMARY

Observations on blood culture in LIT medium for *Trypanosoma cruzi* according to MOURÃO & MELLO (1975)

Blood from acute, subacute and chronic patients with Chagas' disease was cultured in LIT medium for *Trypanosoma cruzi* isolation. Blood cultures were performed according to MOURÃO & MELLO method. The main conclusion was that such laboratory procedure did not show any efficacy as far as the chronic form of the disease is concerned, whereas the above Authors did obtain favourable results. Nowadays, since there is a lot of work going on related to the specific treatment of the disease, it would be useful to have an efficient blood culture method in cases of the chronic form of the disease to avoid the handicaps of xenodiagnosis. However, it should be emphasized that the promising observations of MOURÃO & MELLO deserve undoubtedly further investigation.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALBUQUERQUE, R. D. R.; FERNANDES, L. A. R.; FUNAYAMA, G. K.; FERRIOLLI FILHO, F. & SIQUEIRA, A. F. — Hemoculturas seriadas com meio de War-

ren em pacientes com reação de Guerreiro Machado positiva *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14: 1-5, 1972.

2. CHIARI, E. & BRENER, Z. — Contribuição ao diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na fase crônica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8: 134-138, 1966.
3. FERNANDES, J. F. & CASTELLANI, O. — Perspectiva de vacinação contra a moléstia de Chagas. Apresentado na XVI Reunião Anual da Sociedade Brasileira para o Progresso da Ciência, realizada em Ribeirão Preto, Estado de São Paulo, Brasil, em 1964.
4. FREITAS, J. L. P. — Contribuição para o estudo do diagnóstico da moléstia de Chagas por processos de laboratório. [Tese]. Fac. Med. Univ. São Paulo, 1947.
5. FREITAS, J. L. P. — O diagnóstico de laboratório da moléstia de Chagas. *Rev. Clín. São Paulo* 28: 1-10, 1952.
6. FREITAS, J. L. P. — Processos de laboratório para diagnóstico da moléstia de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 4: 135-147, 1958.
7. MOURÃO, O. G. — Diagnóstico parasitológico da doença de Chagas na fase crônica. Método para avaliação da terapêutica no homem. [Tese]. Belo Horizonte, Fac. Med. Univ. Minas Gerais, 1966.
8. MOURÃO, O. G. & MELLO, O. C. — Hemoculturas para o diagnóstico parasitológico na fase crônica da doença de Chagas. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 9: 183-188, 1975.
9. PIFANO, C. F. — El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas en fase crônica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Arch. Venezol. Patol. Trop. Parasit. Med.* 2: 121-156, 1954.

Recebido para publicação em 7/5/1980.