LIOFILIZAÇÃO DO PLASMA: MEDIDA CAPAZ DE EVITAR A TRANSMISSÃO DA DOENÇA DE CHAGAS EM BANCOS DE SANGUE

Vicente AMATO Neto⁽¹⁾, Hermann LEONHARDT⁽²⁾
e Hertha Bárbara Wüllert Telles de SOUZA⁽³⁾

RESUMO

Plasma de camundongos infetados com cepa altamente virulenta do *Trypanosoma cruzi* foi liofilizado e injetado em outros animais da mesma espécie, os quais não contraíram a parasitose, em oposição ao que sucedeu com os que receberam o referido componente sanguíneo previamente não submetido à técnica em questão.

Consideraram os Autores plenamente conclusivos os resultados que obtiveram e, dessa forma, julgaram que a liofilização do plasma representa recurso satisfatório para prevenir a transmissão da doença de Chagas em Bancos de Sangue.

INTRODUÇÃO

Para ser evitada a transmissão da doença de Chagas por transfusão de sangue é necessária a adoção de diversas medidas. Assim, conveniente interrogatório dos candidatos à doação de sangue e realização da prova de fixação do complemento, com os sangue dessas pessoas, através do emprêgo de técnica digna de confiança, representam providências aconselháveis e indispensáveis.

No entanto, a fim de que riscos concernentes à possibilidade de transmissão não existam e fazendo com que significativas quantidades de sangues, doadas, não sejam perdidas, a adição de violeta de genciana, conforme preconizaram NUSSENZWEIG & col.¹, passou a constituir medida de indiscutível valor prático. Sobre tal aspecto é auspicioso referir que em algumas regiões do Brasil, nas quais a execução sistemática do

exame laboratorial citado afigura-se impossível, o corante é colocado em todos os frascos de sangue, indistintamente.

Com o intuito de evitar a perda de razoável percentagem de doadores, mais ou menos elevada de acordo com as regiões onde estão instalados os Bancos de Sangue, julgamos oportuno e conveniente verificar se a liofilização do plasma pode eliminar a presença do *Trypanosoma cruzi* e, dessa maneira, possibilitar a transfusão desse componente sanguíneo, mesmo quando fornecido por indivíduo com doença de Chagas.

MATERIAL E METODOS

De camundongos com cerca de 25 dias de idade, infetados pela cepa Y do *Trypa-*

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas (Prof. João Alves Meira) e Departamento de Parasitologia (Prof. Antônio Dácio Franco do Amaral), São Paulo, Brasil

- (1) Docente-livre de Clínica de Doenças Tropicais e Infecciosas
- (2) Médico-veterinário da Secretaria da Agricultura do Estado de Minas Gerais. Ex-professor adjunto da Cadeira de Higiene Rural da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Minas Gerais, Brasil
- (3) Técnica de Laboratório do Departamento de Parasitologia

nosoma cruzi, obtivemos sangue contendo em média oito parasitas por campo microscópico (450 ×), o qual foi misturado com solução anticoagulante ACD. Para 10 ml de sangue, usamos 4 ml da preparação referida.

Após 48 horas de permanência em geladeira, a 4°C, nos recipientes contendo sangue não coagulado não houve separação, por sedimentação espontânea, de razoáveis quantidades de plasma. Por êsse motivo, realizamos centrifugação, a 4°C, em aparelho apropriado, a 1.000 r.p.m., durante dez minutos. Foi o plasma, então, imediatamente submetido à liofilização e, também, sem essa providência prévia, inoculado em camundongos.

Em cada camundongo, de um lote de dez, inoculamos pela via intraperitoneal 0,2 ml de plasma não liofilizado; nesse material estavam presentes, ao exame a fresco (450 ×), três tripanossomos, em média, por campo.

Para a liofilização, utilizamos em cada frasco, 1 ml de plasma. O processo consistiu em pré-congelamento a -40°C e início da liofilização a -40°C, com 100 μ de vácuo, chegando a -18°C no primeiro estágio; no segundo estágio, a temperatura foi elevada gradativamente até +60°C.

A cada frasco juntamos 1 ml de solução fisiológica e, a seguir, inoculamos 0,2 ml, sempre pela via já citada, em cada camundongo de um grupo de 20.

Detalhes acêrca das características da mencionada cepa de *Trypanosoma cruzi* foram referidos por PEREIRA DA SILVA & NUSSENZWEIG².

RESULTADOS

As pesquisas do *Trypanosoma cruzi* no sangue dos animais inoculados com plasma não liofilizado foram sistematicamente positivas 11 dias após. Além disso, decorridos 12 e 13 dias em relação à data das inoculações, tais camundongos encontravam-se mortos, como decorrência da infecção.

Em nove oportunidades, desde 13 até 53 dias depois das inoculações, examinamos o sangue dos camundongos que receberam intraperitonealmente o plasma liofilizado, sem termos evidenciado a presença do flagelado.

Êsses animais sobreviveram e, 48 horas após a última pesquisa, foram reinoculados com sangue contendo *Trypanosoma cruzi*, proveniente de camundongos infetados e contendo mais ou menos dez parasitas por campo microscópico (450 ×).

As reinoculações causaram intensas infecções nos animais, já detectadas oito dias após, através de exames a fresco de seus sangues. No 12.º dia, estavam todos os camundongos mortos.

DISCUSSÃO

Os resultados que obtivemos demonstraram claramente que a liofilização do plasma seguramente eliminou, dêsse constituinte sanguíneo, o *Trypanosoma cruzi*.

Convém destacar que duas condições presentes na experimentação que levamos a efeito habitualmente não incidem, com idênticas intensidades, nas situações rotineiras de trabalho em Bancos de Sangue. São elas representadas pela virulência acentuada da cepa do flagelado utilizada e, especialmente, a intensa infecção dos camundongos que forneceram as amostras de sangue positivas. É possível que êsses fatores estejam presentes em amostras de sangue doadas por determinados indivíduos, mas evidentemente tal circunstância é improvável, sobretudo se levarmos em conta que comparecem aos Bancos de Sangue, como candidatos a doadores, em geral pessoas com a fase crônica da doença de Chagas. De qualquer maneira, a situação segundo a qual trabalhamos enfatiza mais a conclusão de que a liofilização do plasma torna a transfusão do recurso terapêutico em aprêço isenta do risco de transmissão da doença de Chagas.

A adição da violeta de genciana aos sangues a serem transfundidos não tem sido aceita, sem reservas, por alguns hemoterapeutas. Os motivos determinantes dessa atitude não são, felizmente, de ordem médica; envolvem tão somente explicações baseadas em fatos cientificamente não significativos, tais como desejo de não fugir do que é tradicional e aspecto azulado concedido a material a ser injetado, por exemplo. Em determinadas regiões do Brasil, nas quais a infecção chagásica é altamente incidente,

não é possível executar rotineiramente reações de fixação do complemento seletivas; assim, a violeta de genciana é juntada, sem qualquer triagem prévia, a tôdas as amostras de sangue coletadas. Nesses lugares, o procedimento sempre foi bem aceito por transfusionistas e receptores. A propósito, REZENDE & col.³, em relação a ampla casuística que puderam coletar, em Goiânia, destacaram a inocuidade do processo profilático em questão.

Evidentemente, transfusões, em curtos períodos, de grandes quantidades de sangue com violeta de genciana, como pode suceder no tratamento de intensas hemorragias, encerram o risco concernente ao possível desencadeamento de manifestações colaterais indesejáveis, uma vez que elevadas quantidades do corante são então injetadas. No entanto, tais situações, obviamente excepcionais, são evitáveis, desde que convenientemente levadas em conta.

As reinoculações dos animais que não contraíram a infecção, após terem recebido plasma liofilizado, prestaram informação valiosa. Como eles morreram em virtude de injeção de sangue contendo o parasita, podemos aceitar o fato como demonstrativo de que não restou imunidade concedida por eventual infecção anterior, o que atesta a inexistência do *Trypanosoma cruzi* no plasma liofilizado.

Observações cuidadosas, praticadas em Bancos de Sangue, poderão confirmar o valor da liofilização do plasma como medida capaz de evitar a transmissão da doença de Chagas. É bastante desejável que elas sejam executadas.

Para os especialistas em hemoterapia que relutam em não concordar com o emprêgo da violeta de genciana, a liofilização do plasma representa importante recurso optativo, capaz de evitar a perda de ponderá-

veis e preciosas quantidades de sangues doados.

SUMMARY

Lyophilization of plasma: measures capable of preventing the transmission of Chagas' disease in Blood Banks

Plasma of mice infected with a highly virulent strain of *Trypanosoma cruzi* was lyophilized and injected in other animals of the same specie, which did not contract the disease, in opposition to the group which received the infected plasma not treated by the technique above.

The Authors considered the results highly satisfactory and concluded about the efficacy of the lyophilized plasma in preventing the transmission of Chagas' disease in Blood Banks.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. NUSSENZWEIG, V.; AMATO Neto, V.; PEDREIRA DE FREITAS, J. L.; NUSSENZWEIG, R. S. & BIANCALANA, A. — Molestia de Chagas em Bancos de Sangue. *Rev. Hosp. Clín. Fac. Med. Univ. São Paulo* 10:265-283, 1955.
2. PEREIRA DA SILVA, L. H. & NUSSENZWEIG, V. — Sobre uma cêpa de *Trypanosoma cruzi* altamente virulenta para o camundongo branco. *Folia Clin. Biol.* (São Paulo) 20:191-208, 1953.
3. REZENDE, J. M.; ZAPELLI, W. & BAFFUTO, M. — Emprêgo da violeta de genciana em Banco de Sangue como método de rotina na profilaxia da doença de Chagas. Apresentado no *Primeiro Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, realizado em Juiz de Fora, Estado de Minas Gerais, de 28 a 30 de janeiro de 1965.

Recebido para publicação em 24/1/1966.