

## MÉTODO DE STROUT UTILIZANDO DIFERENTES VELOCIDADES DE CENTRIFUGAÇÃO NO DIAGNÓSTICO DA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS

Antonio Emanuel e Cleudson Nery de Castro

*Empregando-se o método de Strout, analisou-se a eficácia de três diferentes velocidades de centrifugação (19 G, 165 G e 640 G) na avaliação da parasitemia de 20 chagásicos em fase aguda. Realizaram-se 309 exames nos 20 pacientes, com média de 15 exames para cada caso. Os exames realizados a 19 G evidenciaram a menor eficácia enquanto os realizados a 165 G e 640 G mostraram-se igualmente eficazes.*

Palavras-chaves: Método de Strout. Doença de Chagas aguda.

O diagnóstico da fase aguda da doença de Chagas implica no encontro de tripanossomas no sangue periférico. Entre os procedimentos que se utilizam para detectá-los, rapidamente, o método de Strout<sup>4</sup>, modificado por Flores<sup>3</sup>, é considerado o mais eficaz. Contudo, sendo realizado como foi descrito por aqueles autores, boa parte dos parasitos deixam de ser visualizados. A partir desta observação, procuramos verificar uma maneira mais apropriada de se realizar o método. Este trabalho relata o resultado de nossas observações utilizando centrifugação em três diferentes velocidades.

### MATERIAL E MÉTODOS

De 1980 a 1981, acompanhamos 20 pacientes com forma aguda da doença de Chagas, no Hospital *Presidente Médici*, DF, todos diagnosticados pelo encontro do tripanossoma no sangue periférico e internados para tratamento clínico. Quinze eram do sexo masculino e cinco do sexo feminino. A idade variou de 1 a 65 anos, com média de 27 anos. Quanto à profissão, 10 eram lavradores e duas eram domésticas; os oito restantes eram menores de idade. Quanto à procedência, 18 eram da Bahia, um de Goiás e um de Minas Gerais.

Empregando-se o método de Strout<sup>4</sup>, modificado por Flores<sup>3</sup>, avaliamos a parasitemia, seriadamente, em cada um dos pacientes, duas a três vezes por semana, em dias diferentes. Além da clássica centrifugação a 165 G, usada por Flores<sup>3</sup>, avaliamos os resultados a 19 G e a 640 G. Ao todo estudamos 122 amostras de sangue, com média de seis para cada paciente, tomadas antes e durante o tratamento (Tabela 1). Destas, 71 serviram para estudo comparativo das três diferentes velocidades e em 102 foram analisados somente centrifugação a 165 G e 640 G.

Para cada exame colhíamos, em média, 10 ml de sangue e deixávamos coagular e retraindo espontaneamente. Cinco a oito horas após a colheita, separávamos o soro, ao qual deixávamos, propositalmente, um pouco de hemácias, e procedíamos à primeira

centrifugação a 19 G, por 5 minutos. O sobrenadante de 100 amostras desta primeira rotação era subdividido, em partes iguais, em dois tubos: um era rodado a 165 G, durante 10 minutos e o outro a 640 G; pelo mesmo tempo; as 22 amostras restantes, após centrifugação a 19 G, foram novamente centrifugadas, somente a 165 G ou a 640 G. As hemácias facilitavam a focalização ao microscópio e a visualização dos tripanossomas.

Depois de processadas as centrifugações, os sedimentos eram examinados. Ao todo, examinamos 89 sedimentos obtidos a 19 G: 19 antes do tratamento e 70 no decorrer dele; 105 obtidos a 165 G: 20 antes do tratamento e 85 durante ele; e 115 a 640 G: 22 antes do tratamento e 93 na vigência dele (Tabela 1).

Tabela 1 - Número de exames pelo método de Strout, realizados antes e depois de iniciado o tratamento, em três diferentes forças centrífugas

Força centrífuga	Número de Exames		Total
	Antes	Depois	
19 G	19	70	89
165 G	20	85	105
640 G	22	93	115

Os sedimentos examinados foram colocados em lâmina, cobertos com laminula de 24x32 mm observados, ao microscópio de luz, com o aumento de 400x. Com o sedimento do primeiro centrifugado eram examinados 50 campos: 10 nas proximidades de cada ângulo da laminula e 10 no centro. Com o sedimento dos dois outros centrifugados também se examinava, inicialmente, 50 campos de cada um deles, obedecendo-se à mesma distribuição anteriormente citada. Caso fossem negativos, examinávamos mais 300 campos de cada lâmina.

### RESULTADOS:

*Centrifugação 19 G* - Antes do tratamento, 12 (63,1%) das 19 pesquisas realizadas evidenciaram o *T. cruzi*, com uma média de 16,5 parasitos por exame (Tabela 2). Durante o tratamento, apenas 15 (21,4%) dos exames realizados continuaram positivos (Tabela 3).

Tabela 2 – Resultado dos exames realizados pelo método de Strout em 20 pacientes com Chagas agudo, antes do tratamento.

Nº do caso	Força centrífuga								
	19 G			165 G			640 G		
	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos
2							1	1	35
3	1	0		1	1	17	1	1	45
4							1	1	17
5	1	0		1	1	30	1	1	40
6	1	0		1	0		1	1	4
7							1	1	1
8	1	1	1	1	1	6	1	1	3
9	2	1	1	1	0		2	2	3
10	1	1	13	2	2	242	1	1	62
11	1	0		2	1	1	1	0	
12	1	0		1	1	4	1	1	1
13	1	1	13	1	1	60	1	1	66
14	1	1	4	1	1	11	1	1	88
15	1	1	76	1	1	104	1	1	48
16	2	2	7	2	2	9	2	2	21
17	1	1	3	1	1	11	1	1	3
18	1	1	75	1	1	25	1	1	32
19	2	1	1	2	2	7	2	2	2
20	1	1	4	1	1	2	1	1	4
Total	19	12(63,1%)	198	20	17(85%)	529	22	21(95,4%)	475

Tabela 3 – Resultado dos exames feitos pelo método de Strout em 20 pacientes com Chagas agudo, após início do tratamento.

Nº do caso	Força centrífuga								
	19 G			165 G			640 G		
	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos	Exames Realizados	Exames Positivos	Nº de Parasitos
1	2	0		5	1	36	6	1	24
2	4	1	4	10	4	9	10	7	21
3	2	0		7	5	19	8	5	33
4				1	1	8	2	1	4
5				1	0		1	0	
6	2	0		2	0		2	1	2
7				1	0		3	0	
8	7	3	10	9	2	11	9	3	7
9	2	0		2	0		2	0	
10	7	4	131	7	4	273	7	4	209
11	3	0		2	0		2	0	
12	5	0		6	2	5	6	2	7
13	5	2	11	5	2	27	5	2	37
14	7	0		7	2	6	6	3	17
15	6	3	56	6	3	103	6	3	88
16	5	1	1	5	1	1	5	1	1
17	3	0		3	0		3	0	
18	3	1	2				3	1	14
19	4	0		4	0		4	0	
20	3	0		3	0		3	0	
Total	70	15 (21,4%)	215	86	27(31,3%)	498	93	34 (36,5%)	464

**Centrifugação a 165 G** – Os parasitos foram encontrados em 17 (85,0%) dos 20 exames realizados antes do tratamento (Tabela 2) e em 27 (31,3%) dos 86 feitos depois dele (Tabela 3). Nos 17 exames positivos antes do tratamento encontrou-se uma média de 31,1 tripanossomas por exame (Tabela 2).

**Centrifugação a 640 G** – Dos 22 exames realizados antes do tratamento, 21 (95,4%) foram positivos, com média de 22,6 parasitos por exame (Tabela 2). Dos 93 exames realizados após o tratamento 34 (36,5%) ainda permaneceram positivos (Tabela 3).

**Comparação dos resultados nas três velocidades de centrifugação** – Das 71 amostras de soro examinadas nas três velocidades de centrifugação, 23 (32,3%) foram positivos a 19 G, 31 (43,6%) a 165 G e 36 (50,7%) a 640 G (Tabela 4). Das 102 examinadas a 165 G e 640 G, foram positivas 42 (41,1%) e 50 (49,0%), respectivamente (Tabela 5).

Em cinco casos, considerados negativos ao se examinar os 50 campos iniciais das três velocidades encontramos 1 a 2 parasitos ao examinar os 300 campos restantes.

Em dois exames a parasitemia só foi detectada no sedimento obtido a 19 G, e em 15 oportunidades foi negativa nesta velocidade e positiva nas duas outras.

Tabela 4 – Resultado do método de Strout em 71 amostras de soro examinadas após diferentes centrifugações.

Força centrífuga	Positividade
19 G	23 (32,3%)
165 G	31 (43,6%)
640 G	36 (50,7%)

Tabela 5 – Resultados do método de Strout em 102 amostras de soro examinadas a 165 G e 640 G.

Força centrífuga	Positividade
165 G	42 (41,1%)
640 G	50 (49,0%)

### COMENTÁRIOS

O exame do creme leucocitário é o método mais freqüentemente utilizado para a pesquisa direta do *T. cruzi* em casos agudos de doença de Chagas e aquele em que se obtém maior grau de positividade. Entretanto, o método de Strout<sup>4</sup>, modificado por Flores<sup>3</sup> mostrou-se superior aos demais quando realizado comparativamente<sup>2</sup>. Efetuando-se uma velocidade "lenta" a 165 G por 3 minutos e, em seguida, uma velocidade rápida do sobrenadante a 640 G, por 1 minuto, como recomendado pelos autores, comprovamos haver sedimentação de grande número de parasitos na centrifugação inicial. Como eles examinavam apenas o sedimento da segunda centrifugação, por certo, perdiam a chance de detectar boa parte dos parasitos e, até mesmo, de não encontrá-los.

Os exames realizados no sedimento obtido a 19 G foram os que evidenciaram menor índice de

positividade, menor número de parasitos e negativação mais precoce. Entretanto, em duas oportunidades foi o único meio de se comprovar a existência de parasitismo.

As pesquisas realizadas após centrifugação a 165 G e 640 G, não só elevaram o número de exames positivos, como apresentaram maior média de parasitos por exame.

Em duas oportunidades observamos aspecto interessante: a recentrifugação do sobrenadante obtido a 165 G a 640 G e vice-versa, ainda evidenciou parasitos no sedimento de cada uma delas. Isto mostra que ambas as centrifugações, realizadas em 10 minutos, são insuficientes para sedimentar os tripanossomas existentes no soro, pelo menos em alguns casos, o que seria ideal. Vale ressaltar que o número de parasitos encontrados neste terceiro sedimento foi sempre bem pequeno, quando comparado com o segundo.

Como dissemos, o método de Strout é o mais eficaz para a identificação de tripanossomas no sangue periférico, em pacientes com a forma aguda da doença de Chagas. A melhor maneira de proceder a sua realização nos parece ser como agora descrevemos: uma centrifugação realmente lenta, a 19 G durante 5 minutos. Esta centrifugação separa a maior parte das hemácias e perde menos parasitos do que a centrifugação a 165 G. Após a centrifugação inicial de 19 G, então centrifugamos o sobrenadante a 165 G ou 640 G por 10 minutos e examinamos o sedimento. Desse modo obtivemos 100% de possibilidade nos casos examinados, enquanto Cedillos e cols<sup>1</sup> obtiveram apenas 70% empregando a técnica clássica.

### SUMMARY

Using Strout's method we determined the efficacy of three different centrifuge speeds (19 G, 165 G and 640 G) to evaluate the level of parasitemia in 20 patients with acute Chagas' disease. The technique was performed 309 times an average of 15 tests for each patient. The highest centrifuge speed was most efficacious in detecting circulating trypanosomes.

Key words: Strout's method. Acute Chagas' disease.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cedillos RA, Dimas D, Hernandez AY. Blood concentration method in the diagnosis of Chagas' disease. Revista Latino Americana de Microbiologia 12: 200-203, 1970.
2. Cerisola, JA, Rohwedder, R, Segura, EL, Prado, CE, Alvarez M, Martini GJW. El xenodiagnóstico. Ministerio de Bien Estar Social. Bueno Aires, outubro 1974.
3. Flores MA, Trefos A, Paudes AR, Ramos AY. El método de concentración de Strout en el diagnóstico de la fase aguda de la enfermedad de Chagas. Boletín Chileno de Parasitología 21: 38-39, 1966.
4. Strout RG. A method for concentrating hemoflagellates. Journal of Parasitology 48: 100, 1962.