

A REAÇÃO DE PRECIPITINA NA FASE AGUDA DA DOENÇA DE CHAGAS

J. PELLEGRINO¹, Z. BRENER² e R. JACOMO³

Em 1944, MUNIZ e FREITAS (¹) extraíram, de formas de cultura do *Schizotrypanum cruzi*, segundo o método de FULLER (²), uma fração polissacarídea, a qual se comportou como excelente precipitinogêneo. Em 6 casos agudos de doença de Chagas a reação de precipitina, feita com esta fração, foi positiva. Em trabalho posterior, MUNIZ (³) mostrou a importância desta prova de laboratório no diagnóstico da doença de Chagas, na fase aguda. Em 33 pacientes observados nesta fase da moléstia, a reação de precipitina foi positiva em todos.

No presente trabalho apresentaremos os dados que nos foi dado coligir nos anos de 1948 a 1950.*

MATERIAL E MÉTODOS

Casos de doença de Chagas. Contrôles

A reação de precipitina foi feita em 48 casos agudos de doença de Chagas, sendo 47 demonstrados pelo encontro do *S. cruzi* no sangue periférico e 1 pelo xenodiagnóstico. A idade dos pacientes variou de 8 meses a 28 anos, sendo que 36 tinham idade inferior a 15 anos. A reação de precipitina foi também praticada em 48 pacientes com esquistosomose crônica, demonstrados parasitológicamente. Como controle fez-se a reação em 50 indivíduos normais e em 11 casos de lepra, 1 de tuberculose ganglionar, 10 de esquistossomose, 1 de blastomicose sul-americana, 1 de pênfigo foliáceo, 2 de bouba, 18 de leishmaniose tegumentar americana e 1 de sífilis.

Preparação do antígeno

Para o isolamento da fração polissacarídea de formas de cultura do *S. cruzi* foi usado o método de FULLER (²) com as modificações introduzidas por MUNIZ e FREITAS (¹).

As formas de cultura, decorridos 7 dias após o repique, foram filtradas em gaze fina e algodão, com a finalidade de separar fragmentos de agar acaso des-

^{1, 2} Serviço Nacional de Malária, Instituto de Malariologia, Belo Horizonte.

³ Médico em Uberaba, Minas Gerais.

* Agradecemos ao Dr. E. DIAS a oportunidade de têmos podido praticar a reação de precipitina em doentes de Bambuí.

prendidos do meio de cultivo. Após lavagens sucessivas em soro fisiológico por meio de centrifugações, adicionavam-se 3 ml de formamida para cada 1 ml de massa úmida de flagelados. A suspensão era agitada, colocada em um "baker" e aquecida em banho de glicerina a 150°C durante 15 minutos. Após resfriamento, eram adicionados 10 ml de álcool clorídrico (95 partes de álcool absoluto e 5 partes de ácido clorídrico 2N). Depois de agitar a suspensão várias vezes, no período de 20 minutos, o precipitado formado era separado por centrifugação. Ao sobrenadante eram adicionados 20 ml de acetona e, após um repouso de 20 minutos, o precipitado formado era separado por centrifugação, desprezando-se o sobrenadante. O resíduo foi colocado em câmara de vácuo até a evaporação completa da acetona. Ao precipitado seco foram adicionados 8 ml de soro fisiológico, ajustando-se o pH para 7,0-7,2 pela prova de toque, usando-se para isso uma solução fraca de carbonato de sódio. A suspensão foi deixada na geladeira durante uma noite e, no dia seguinte, centrifugada por 30 minutos a 3 000 r.p.m. O líquido sobrenadante, límpido, contendo o precipitino-gêneo, foi ampulado e conservado em geladeira.

Técnica da reação e leitura dos resultados

Foi utilizada a técnica do anel. O soro a ser examinado era pipetado e colocado no fundo de tubos com 2 a 3 mm de diâmetro interno, de modo a formar uma coluna de 1 a 2 cm de altura, deixando-se em seguida escorrer pelas paredes do tubo, lentamente, o precipitino-gêneo (solução *stock* da fração polissacarídea) até formar, sobre o soro, outra coluna mais ou menos idêntica. Para cada reação foi feito um tubo testemunho substituindo-se o precipitino-gêneo por soro fisiológico.

Os tubos eram deixados à temperatura ambiente e a leitura feita após 2 horas. O seguinte critério foi adotado para a leitura dos resultados: +, formação de um anel tênue, porém perfeitamente distinto, no limite de separação dos dois líquidos; ++++, anel denso com cerca de 1 mm de espessura. Os graus intermediários foram anotados com ++ e +++.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As tabelas I e II resumem os resultados das reações de precipitina feitas em 48 casos agudos de doença de Chagas. O único paciente em que a reação foi negativa apresentava, na ocasião do exame, edema bipalpebral do olho direito, gânglios cervicais e sub-maxilares direitos muito infartados, febre e linfocitose. O exame de sangue a fresco foi negativo. O xenodiagnóstico, praticado na mesma ocasião, foi positivo. É interessante notar que nos pacientes em que a reação foi praticada em diferentes períodos, a mesma se manteve positiva, em todos os casos, até 3 meses de doença. De um modo geral, as reações foram precoces e intensas, formando-se o anel nos primeiros 5 minutos. Entretanto, em 4 dos 6 pacientes em que a reação foi praticada na primeira semana (tabela I), os resultados foram menos evidentes, formando-se um anel tênue, mais tardiamente. Em todos os casos o tempo de doença correspondeu ao período decorrido desde o aparecimento dos primeiros sintomas até a realização do exame.

A reação de precipitina praticada em 48 pacientes com esquizotripanose crônica, comprovada parasitologicamente, foi positiva em 8 (16,6%). Em todos os casos tomados como contrôles a reação foi negativa.

Os nossos resultados confirmam as verificações de MUNIZ e FREITAS (1) e MUNIZ (3) que, em 33 pacientes na fase aguda, obtiveram 100% de resultados positivos e em 211 na fase crônica, apenas 18% de positividade. Em nossas mãos, a reação de precipitina apresentou também grande especificidade, tendo sido negativa mesmo em pacientes com leishmaniose tegumentar americana (4).

A reação de precipitina feita com a fração polissacarídea do *S. cruzi* representa, pois, um valioso método auxiliar de diagnóstico na fase aguda da doença de Chagas. Como a reação se manteve positiva nos primeiros meses de doença, inclusive na fase em que o *S. cruzi* dificilmente poderia ser encontrado pelo exame de sangue a fresco, fica evidente que a reação de precipitina representa, também, um método importante na triagem de casos iniciais de infecção esquizotripanósica.

RESUMO

A reação de precipitina com a fração polissacarídea isolada de formas de cultura do *S. cruzi* pelo método de FULLER foi feita em 48 casos agudos de doença de Chagas usando-se a técnica do anel. A reação foi positiva em 47 casos. No único paciente em que a reação foi negativa (11 dias de doença) e que apresentava sinal de Romã e xenodiagnóstico positivo, o exame de sangue a fresco, efetuado na mesma ocasião, também foi negativo. Em 5 pacientes a reação de precipitina foi praticada na primeira semana de doença, tendo sido os resultados positivos. A reação de precipitina foi também praticada em 48 casos crônicos resultando positiva em 8 casos (16,6%).

Foi salientado o valor da reação de precipitina no diagnóstico da doença de Chagas durante a fase aguda e na triagem de casos recentes de infecção esquizotripanósica.

SUMMARY

The precipitin test in the acute stage of Chagas' disease

The precipitin test with a polysaccharide fraction isolated from culture forms of *Schizotrypanum cruzi* (Fuller's method) was performed in 48 patients with acute Chagas' disease. The test was positive in 47 cases.

The test was also performed in 48 chronic cases of Chagas' disease. Only 8 patients (16.6%) reacted positively.

The importance of the precipitin test as an auxiliary method for diagnosis and as a means for screening recent cases of Chagas' disease was emphasized.

BIBLIOGRAFIA

- I — MUNIZ, J. & FREITAS, G — 1944 — Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. II — Isolamento de polissacarídeos de *Schizotrypanum cruzi* e de outros Tripanosomídeos, seu comportamento nas reações de precipitação, de fixação do complemento e de hipersensibilidade. Os tests de flocação (sublimado e formol-gel). *Rev. Brasil. Biol.*, 4 (4):421-438.

- 2 — FULLER, A. T. — 1938 — The formamide method for the extraction of polysaccharides from haemolytic streptococci. *Brit. J. Exp. Path.*, 19 (2):130-139.
- 3 — MUNIZ, J. — 1947 — Do valor da reação de precipitina no diagnóstico das formas agudas e subagudas da doença de Chagas (Trypanosomiasis americana). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 45 (3):537-549.
- 4 — PELLEGRINO, J. & BRENER, Z. — 1951 — A reação de precipitina com a fração polissacarídea isolada de formas de cultura da *Leishmania brasiliensis* e do *Schizotrypanum cruzi*, na leishmaniose tegumentar americana. *Arq. Saúde Pública da Secr. Saúde e Assist. de Minas Gerais*, 2 (1):56-62.

TABELA I
 Reação de precipitina com a fração polissacarídea do *S. cruzi*
 feita em 48 casos agudos de doença de Chagas

CASO	Idade (anos)	Procedência (Localidades do Estado de Minas Gerais)	Tempo de doença	Resultados
1.....	5	Córrego D'Anta	17 dias * 80 > 97 >	++++ ++++ ++
2.....	2	Bambuí	17 dias * 54 > 8 meses	++++ ++++
3.....	7	Uberaba	9 dias *	++++
4.....	15	S. Ant. Monte	17 dias *	++++
5.....	3	Bambuí	30 dias * 70 >	++++ ++
6.....	4	Bambuí	7 dias * 9 > * 20 > 34 > 88 > 6 meses 8 > 20 >	+++ ++++ ++++ ++++ ++++ ++++ +++ ++ —
7.....	3	Bambuí	6 dias * 25 > 65 > 6 meses 7 >	++ ++++ ++++ — —
8.....	1	Córrego D'Anta	5 dias * 7 > *	++ ++++
9.....	10	Bambuí	20 dias * 75 >	++++ ++++
10.....	2	Bambuí	30 dias * 14 meses	++++ —
11.....	7	Bambuí	28 dias * 3 meses	++++ ++++
12.....	1	Bambuí	21 dias *	++++
13.....	1	Uberaba	34 dias *	++++
14.....	16	Bambuí	31 dias * 8 meses	++++ ++
15.....	8	Uberaba	16 dias * 18 > *	++++ ++++
16.....	28	Uberaba	27 dias * 40 >	++++ ++++
17.....	4	Campo Florido	18 dias *	++++
18.....	1	Pafns	20 dias *	++++
19.....	18	Bambuí	14 dias *	+++
20.....	24	Bambuí	20 dias *	++++
21.....	5	Bambuí	13 dias * 6 meses	++++ ++
22.....	3	Uberaba	20 dias *	++++
23.....	1	Santa Juliana	15 dias *	++++
24.....	2	Uberaba	15 dias *	++++
25.....	1	Uberaba	15 dias *	++++

TABELA I — (continuação)

Reação de precipitina com a fração polissacarídea do S. cruzi feita em 48 casos agudos de doença de Chagas

CASO	Idade (anos)	Procedência (Localidades do Estado de Minas Gerais)	Tempo de doença	Resultados
26.....	3	Conceição Alagoas	10 dias *	++++
27.....	15	Conceição Alagoas	20 dias *	++++
28.....	6	Uberaba	8 dias *	++
29.....	20	Conceição Alagoas	20 dias * 35 >	++++ ++++
30.....	21	Uberaba	33 dias *	++++
31.....	8 meses	Uberaba	30 dias *	++++
32.....	11	Conceição Alagoas	15 dias *	++
33.....	15	Uberaba	16 dias *	++++
34.....	3	Iguatama	22 dias *	++++
35.....	6	Bambuí	32 dias *	++++
36.....	12	Iguatama	30 dias *	++++
37.....	2	Iguatama	18 dias *	++++
38.....	6	Pafns	10 dias *	++++
39.....	6	Pafns	10 dias *	++++
40.....	12	Uberaba	21 dias *	++++
41.....	26	Conceição Alagoas	9 dias *	++++
42.....	10	Uberaba	10 dias *	++++
43.....	43	Conceição Alagoas	22 dias *	++++
44.....	3	Uberaba	8 dias *	++++
45.....	7	Uberaba	39 dias *	++++
46.....	18	Sacramento	20 dias *	++++
47.....	3	Uberaba	15 dias *	++++
48.....	5	Abateté	11 dias **	—

* Exame de sangue positivo para *S. cruzi*.

** Exame de sangue a fresco negativo. Sinal de Romãna. Xenodiagnóstico positivo.

TABELA II

Resultados de 73 reações de precipitina feitas em 48 casos agudos de doença de Chagas em diferentes períodos

PERÍODO DA DOENÇA	Número de reações	Reações positivas
1. ^a semana.....	6	6
2. ^a à 4. ^a semana.....	37	36
De 1 a 3 meses.....	19	19
De 3 a 6 meses.....	5	4
Mais de 6 meses.....	6	2