



## DIAGNÓSTICO DA AMEBÍASE CRÔNICA

### II. Estudo comparativo da eficiência do método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, em amostras sucessivas de fezes normalmente emitidas, e do exame de fezes obtidas mediante catártico, usados sós ou combinadamente \*

Mauro Pereira BARRETTO

#### RESUMO

A comparação da eficiência relativa do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica e do exame direto do material a fresco ou corado pelo Lugol, leyada a efeito em 50 pacientes com amebíase crônica, cujas fezes foram colhidas durante a retossigmoidoscopia, mostrou a incontestável superioridade do primeiro processo. Isto porque, embora a porcentagem de positividade para os cistos da *E. histolytica* não difira significativamente, nos preparados corados pelo Lugol e nos esfregaços corados pela hematoxilina, êstes revelam trofozoítas em maior número de casos do que os preparados a fresco.

A pesquisa de cistos e trofozoítas em esfregaços corados pela hematoxilina, confeccionados com fezes normalmente passadas e com material obtido mediante purgativo e enema, em três grupos de indivíduos comprovadamente infestados, mostrou que os resultados fornecidos pelo material colhido após purgativo (76,5%) são muito superiores àqueles fornecidos pelas fezes normalmente passadas (50,6%) ou por material obtido mediante enema (58,7%); isto se deve à maior frequência de trofozoítas nas fezes de indivíduos submetidos a um purgativo.

O exame feito pelo método de centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, em três amostras sucessivas de fezes de 85 pacientes comprovadamente infectados, amostras estas colhidas com intervalos de quatro dias, deu os seguintes resultados: 1.º exame: 67,1%, 2.º exame: 69,4% e 3.º exame: 63,5%. O primeiro e o segundo exame revelaram em conjunto 78,8% dos casos e os três exames sucessivos 91,8% dos casos.

A associação do exame de material obtido por purgativo em esfregaços corados pela hematoxilina com o exame pelo método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco em uma, duas ou três amostras sucessivas de fezes normalmente eliminadas por 85 indivíduos comprovadamente infectados deu os seguintes resultados globais: uma amostra: 90,6%, duas amostras: 94,1%, e três amostras: 97,6%. As diferenças entre êstes resultados não são significantes. Os resultados fornecidos pela centrífugo-flutuação no sulfato de zinco em três amostras sucessivas, isto é, 91,8%, não diferem significativamente daqueles fornecidos pela centrífugo-flutuação em uma amostra de fezes normais, associada ao exame de material obtido por purgativo e corado pela hematoxilina, isto é, 90,6%. Isto posto, devemos adotar como norma, para o diagnóstico da amebíase crônica, o método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco em três amostras sucessivas de fezes normalmente eliminadas e colhidas com quatro dias de intervalo, porque o uso de purgativo representa um inconveniente para o doente, sendo mesmo con-

\* Trabalho do Departamento de Parasitologia (Diretor: Prof. M. P. Barretto), Faculdade de Medicina, Ribeirão Preto, SP.

traíndico em certos casos, e porque o exame de fezes obtidas por purgativo é mais complicado e trabalhoso. Só quando o doente não pode permanecer à disposição do laboratorista para a realização de três exames de fezes, separados por um intervalo de quatro dias, é que se deve recorrer à centrífugo-flutuação em uma só amostra de fezes normalmente passadas seguida do exame de material obtido mediante purgativo.

## INTRODUÇÃO

Parece que foi DOBELL<sup>18</sup> o primeiro autor a encarecer a necessidade de repetição dos exames de fezes para o diagnóstico da amebíase. Trabalhos posteriores de BROWN<sup>16</sup>, JAMES<sup>23</sup>, MAGATH<sup>24</sup>, ANDREWS<sup>8</sup>, SVENSSON & LINDERS<sup>30</sup>, BUNDENSEN & col.<sup>17</sup> e outros vieram confirmar aquêlo ponto de vista.

Com a introdução do método de concentração de cistos pela centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, por FAUST & col.<sup>21</sup>, novas investigações sôbre o assunto foram realizadas, agora baseadas em um método muito superior aos até então em uso. Assim, empregando uma combinação da centrífugo-flutuação com o exame direto de preparados corados pelo Lugol ou com o exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, SAWITZ & FAUST<sup>26</sup> verificaram que a probabilidade de se obter um caso positivo de infecção pela *E. histolytica* era, respectivamente, de 21% e 36%, quando uma única amostra de fezes era examinada. Examinando, porém, seis amostras sucessivas, aquelas probabilidades se elevavam para 76% e 93%, respectivamente.

Em trabalho paralelo, AMARAL & PIRES<sup>5</sup> examinaram 300 presidiários, entre os quais 118 se achavam parasitados; usando apenas o método da centrífugo-flutuação, obtiveram os seguintes resultados positivos: com um exame: 64 casos ou 54,2%; com dois exames: 88 casos ou 74,6%; com três exames: 105 casos ou 89,0%; com quatro exames: 115 casos ou 97,5% e com cinco exames: 118 casos ou 100,0%. Ao exame da sexta amostra não mais encontraram casos que não tivessem sido revelados pelo exame de amostras colhidas anteriormente. Resultados até certo ponto semelhantes foram obtidos por AMARAL,<sup>1</sup> AMARAL, PONTES & PIRES<sup>6</sup> e AMARAL & PIRES<sup>4</sup>, que verificaram que o

exame de seis amostras de fezes colhidas sucessivamente revelou a totalidade dos eliminadores de cistos.

Outras contribuições mostrando a necessidade do emprêgo da centrífugo-flutuação, só ou associada ao exame direto das fezes frescas ou coradas pelo Lugol ou pela hematoxilina férrica, em amostras colhidas em dias sucessivos, foram trazidos por BELTRAN<sup>13</sup>, TOBIE & col.<sup>31</sup> e outros.

Por outro lado, diversos autores têm salientado o valor da administração de purgativo salino para aumentar a percentagem de positividade dos exames de fezes. Assim, segundo MAGATH<sup>24</sup>, 75% das infecções são descobertas por um único exame de fezes obtidas mediante o uso do sulfato de magnésio, enquanto apenas um terço dos casos é evidenciado pelo exame de fezes normalmente emitidas pelo paciente. As verificações de ANDREWS<sup>8</sup> são ainda mais sugestivas, pois mostram que 88,9% dos casos são positivados por um exame de fezes obtidas mediante catártico. O uso de purgativo é recomendado também por SVENSSON & LINDERS<sup>30</sup>, GREENWAY & CASTEX<sup>22</sup>, BELTRAN & LARENAS<sup>14</sup> e outros.

Tendo em vista a grande eficiência do método de Faust e col. e o aumento de positividade das fezes condicionado pelo uso de catártico, SAWITZ & HAMMERSTRON<sup>27</sup> procuraram associar a centrífugo-flutuação ao uso de purgativo. Verificaram que o método da centrífugo-flutuação aliado ao exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, usado em três amostras sucessivas de fezes normalmente passadas revelou cerca de 51% de casos positivos; fazendo, em seguida, um exame de fezes obtidas mediante purgativo salino, a positividade se elevou para cerca de 90%.

AMARAL & PIRES<sup>5</sup> em um estudo de 127 presidiários, entre os quais encontraram 64 parasitados, verificaram que 98,5% dos casos foram revelados pelo uso do método da centrífugo-flutuação em duas amostras sucessivas de fezes, seguido do exame de material obtido por purgativo salino e corado pela hematoxilina férrica. Como a quase totalidade dos casos positivos foi evidenciada pela mencionada combinação, recomendamos-na como norma prática para o diagnóstico da amebíase crônica.

Mais recentemente, AMARAL<sup>2</sup>, modificando um pouco seu esquema anterior, sugeriu um exame pelo método de Faust e col. em fezes normalmente emitidas, seguido do exame, em esfregaços corados pela hematoxilina, de fezes obtidas mediante purgativo salino; isto porque: a) 15 casos negativados pelo tratamento e seguidos durante vários meses, sempre deram resultados negativos; b) 10 casos positivos, examinados durante dois a quatro meses, sempre mostraram parasitas.

Analisando os trabalhos citados verificamos que: 1) no estudo estatístico realizado por SAWITZ & HAMMERSTRON<sup>27</sup> a fórmula usada para o cálculo da eficiência do método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco não é a mais indicada, como assinalam TOBIE & col.<sup>31</sup>; 2) a percentagem de positividade fornecidas por êste método nas mãos de AMARAL & PIRES<sup>4</sup>, isto é, 48,5% ao primeiro exame, é muito pequena, bem inferior às registradas por TOBIE & col.<sup>31</sup>, BARRETTO<sup>9</sup> e outros, em indivíduos comprovadamente infectados pela *E. histolytica*; muito inferiores são ainda os resultados de SAWITZ & HAMMERSTRON<sup>27</sup> que, em exames de três amostras sucessivas pelo método de Faust e col. combinado com o exame de preparações coradas pela hematoxilina férrica só obtiveram cerca de 51%; 3) o critério adotado por AMARAL<sup>2</sup> não é muito seguro principalmente porque baseado em número muito pequeno de observações; 4) nos trabalhos referido os autores não fazem distinção entre a *E. histolytica* e a *E. hartmanni*, a nosso ver espécies distintas.

Resolvemos, por isto, dentro do programa de estudo do valor de técnicas de exames que traçamos, verificar o valor da combina-

ção do método da centrífugo-flutuação com o exame de fezes obtidas mediante purgativo, usando: a) número adequado de indivíduos; b) pacientes sabidamente parasitados; c) portadores da *E. histolytica*.

Ao iniciarmos as investigações neste sentido um problema surgiu, relativo ao exame do material obtido por purgativo. Pareceu-nos que devêssemos usar esfregaços de fezes corados pela hematoxilina férrica. Como, porém, vários autores advogam o uso de preparações não permanentes, sob a alegação de que duas preparações dêste tipo — uma sem coloração e outra corada pelo Lugol, dão resultados superiores aos fornecidos pelos esfregaços corados pela hematoxilina (BELTRAN<sup>13</sup>), resolvemos fazer um estudo prévio neste sentido.

Por outro lado, procuramos comparar a positividade dos esfregaços corados pela hematoxilina e a do método da centrífugo-flutuação, em fezes naturalmente emitidas ou conseguidas mediante uso de purgativo salino e de enema, uma vez que o enema de retenção é aconselhado por diversos autores (FAUST<sup>20</sup>).

#### MATERIAL E MÉTODOS

Para a comparação da eficiência do exame direto de material a fresco ou corado pelo Lugol com a do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, utilizamos fezes colhidas por retossigmoidoscopia em pacientes com amebíase crônica, assintomáticos ou não. O exame a fresco sem coloração foi realizado imediatamente após a colheita. A confecção de esfregaços e sua fixação em líquido de Schaudinn ou de Bouin foram feitas nas mesmas condições, segundo a técnica de BARRETTO & SILVA<sup>10</sup>; êstes esfregaços foram, depois mordençados na solução de alumínio de Lang e corados pela hematoxilina ácida de Markey e col., segundo a técnica de BARRETTO & ZACO<sup>11</sup>. O exame de preparados corados pelo Lugol foi realizado entre duas e três horas após a colheita de fezes.

Para a comparação da eficiência do método da centrífugo-flutuação em amostras sucessivas de fezes normais, associada ao exa-

me de fezes obtidas mediante purgativo, utilizamos uma série de pacientes assintomáticos comprovadamente parasitados. Três amostras sucessivas, colhidas com intervalo de quatro dias, como aconselha FAUST<sup>19, 20</sup> foram examinados pelo método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco. Um a três dias depois do último exame administramos aos pacientes 30 g de sulfato de sódio; com a parte líquida das fezes, logo depois de eliminadas, confeccionamos esfregaços que foram fixados e corados pela hematoxilina férrica, como atrás ficou indicado. Em seguida as fezes foram homogeneizadas e uma amostra foi submetida à centrifugo-flutuação no sulfato de zinco.

Uma série adicional de pacientes recebeu um enema de cerca de um litro de solução fisiológica aquecida. As fezes obtidas desta maneira foram tratadas como as conseguidas mediante purgativo.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

Comparando a eficiência do exame direto do material a fresco corado pelo Lugol com a do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 50 pacientes cujas fezes foram colhidas por retossigmoidoscopia, obtivemos os resultados apresentados no quadro I.

QUADRO I

Resultados obtidos na comparação do exame direto a fresco e após coloração pelo Lugol com o exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 50 pacientes.

Método	Forma			
	Trofozoítas		Cistos	
	+	%	+	%
Só direto .....	—	—	1	2,0
Só esfregaço .....	9	18,0	3	6,0
Ambos .....	2	4,0	21	42,0
Total direto .....	2	4,0	22	44,0
Total esfregaço ...	11	22,0	24	48,0
Total geral .....	11	22,0	25	50,0

A análise destes resultados mostra a incontestável superioridade do exame de preparações coradas pela hematoxilina férrica para a pesquisa de trofozoítas. Além disto, necessário é ressaltar, o diagnóstico de trofozoítas nestas preparações é muito mais rápido, fácil e seguro. Por outro lado, a confecção de esfregaços e sua fixação para posterior coloração dispensam a realização do exame a fresco, logo após a colheita das fezes, o que nem sempre é possível. É verdade que a feitura de esfregaços tem seus inconvenientes, quando as fezes não são colhidas no laboratório ou em hospital. Nestas condições, ela pode ser substituída pela fixação de uma porção de fezes em líquido de Schaudinn ou Gilson, como aconselham AMARAL & MAYRINK<sup>3</sup> e BARRETTO<sup>9</sup>. Temos comparado esfregaços feitos diretamente a partir de fezes frescas com preparações confeccionadas com material previamente fixado e não temos encontrado diferenças. A única desvantagem é que, para a obtenção de bons preparados de fezes previamente fixadas "in toto", é necessário fazer uma lavagem desta em água, centrifugar, diluir o material em soro, confeccionar o esfregaço e refixar em Schaudinn ou Gilson.

De qualquer modo é importante o exame das fezes em esfregaços corados pela hematoxilina. Isto porque, como assinalam ANDERSON & col.<sup>7</sup>, é conceito errôneo de muitos laboratoristas, o de que os trofozoítas só ocorrem em pacientes com diarréia ou desenteria. De fato, não é raro o encontro destas formas em fezes pastosas e mesmo no induto mucoso que se encontra em fezes formadas, particularmente em casos de lesões retossigmoidianas.

Quanto aos cistos, a análise dos resultados apresentados no quadro I, pelo teste de MacNemar, mostra que não há diferenças significantes entre os preparados corados pelo Lugol e os esfregaços corados pela hematoxilina férrica. Se bem que o diagnóstico nestes esfregados seja mais fácil e seguro, a complexidade técnica não justifica seu emprêgo.

Nossos resultados não concordam com os de BELTRAN & LARENAS<sup>14</sup> que, examinando fezes obtidas mediante purgativo, obtiveram maior percentagem de positividade nos pre-

parados a fresco ou corados pelo Lugol do que nos esfregaços corados pela hematoxilina. Este resultado é tanto mais estranhável quando se considera que, nas fezes liquefeitas mediante catártico, os trofozoítas são mais freqüentes e, às vêzes, os únicos presentes (quadro III) e quando se tem em mente que o diagnóstico de trofozoítas a fresco, nestas condições, é muito mais precário e difícil. Nossos resultados não concordam também com os de BELTRAN<sup>13</sup> que, em fezes normalmente passadas, observou menor percentagem de positividade dos esfregaços corados pela hematoxilina. Eles concordam, porém, com os de SAWITZ & FAUST<sup>26</sup> e outros que obtiveram resultados semelhantes aos nossos.

Ainda em relação ao exame de esfregaços corados pela hematoxilina, cumpre-nos mencionar que, em trabalho anterior (BARRETTO<sup>9</sup>), no qual comparamos os resultados do método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco com os fornecidos pelo exame de esfregaços (quadro IV) houve um erro de tabulação dos dados. Por isto aproveitamos o ensêjo para apresentar, no quadro II, os resultados corretos.

pela hematoxilina para a pesquisa de cistos em pacientes com amebíase crônica.

Procurando agora verificar a eficiência do exame de esfregaços corados pela hematoxilina, em fezes passadas normalmente e em material obtido mediante purgativo ou enema, apresentamos os resultados obtidos no quadro III.

A análise dêste quadro mostra que os resultados globais fornecidos pelo exame do material obtido mediante purgativo, isto é, 76,5%, são significativamente superiores àqueles fornecidos pelo exame de fezes normalmente passadas, isto é, 50,6%.

A superioridade do exame do material obtido por purgativo se deve, como demonstram os resultados do quadro III, à presença de trofozoítas em número muito maior de casos; se bem que os cistos apareçam com maior freqüência nas fezes normais (48,2% dos casos) do que nas fezes eliminadas após catártico (32,9% dos casos), a freqüência de trofozoítas nas primeiras é de 20,0% e nas segundas ascende a 72,9%.

Os resultados por nós obtidos em material colhido após purgativo são idênticos aos

#### QUADRO II

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de Faust e col. e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica em 105 casos de infecção pela *E. histolytica* (correção do quadro II de BARRETTO, 1960).

Método	Resultados positivos		Observações
	N.º	%	
Só Faust .....	21	20,0	cistos: 1,9; trofozoítas: 2,9
Só hematoxilina .....	5	4,8	
Ambos .....	49	46,7	
Total para Faust .....	70	66,7	cistos: 48,5; trofozoítas: 2,9
Total para hematoxilina .....	54	51,4	
Total geral .....	75	71,4	cistos: 68,5; trofozoítas: 2,9

A comparação dos resultados pelo teste de McNemar indica a superioridade do método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco sobre o exame de esfregaços corados

de MACATH<sup>24</sup>, mas são inferiores aos citados por ANDREWS<sup>8</sup> e AMARAL & PIRES<sup>5</sup>.

Quanto ao material obtido por enema, os resultados globais, isto é, 58,7%, são infe-

**BARRETTO, M. P. — Diagnóstico da amebíase crônica. II. Estudo comparativo da eficiência do método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco, em amostras sucessivas de fezes normalmente emitidas, e do exame de fezes obtidas mediante catártico, usados sós ou combinadamente. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 4:1-11, 1962.**

QUADRO III

Resultados obtidos no exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em fezes normalmente passadas e em material obtido mediante purgativo ou enema.

Formas	Fezes					
	Normais (85 casos)		Purgativo (85 casos)		Enema (46 casos)	
	+	%	+	%	+	%
Só cistos .....	26	30,6	3	3,5	3	6,5
Só trofozoítas .....	2	2,3	37	43,5	11	23,9
Ambos .....	15	17,6	25	29,4	13	28,3
Total para cistos .....	41	48,2	28	32,9	16	34,7
Total para trofozoítas .....	17	20,0	62	72,9	24	52,2
Total geral .....	43	50,0	65	76,5	27	58,7

riores aos fornecidos pelo exame de fezes obtidas mediante purgativo; se bem que a frequência de cistos não difira, a frequência de trofozoítas é menor, isto é, 52,2%. Os resultados globais fornecidos pelo material obtido por enema não difere, porém, significativamente dos fornecidos pelas fezes normais. A maior frequência de trofozoítas no primeiro (52,2% contra 20,0%) é compensada pela maior frequência de cistos nas segundas (48,2% contra 34,7%).

Em resumo, o uso de purgativo salino aumenta a frequência de trofozoítas nas fezes porque promove a eliminação destas formas presentes na luz das porções mais altas do intestino e muito provavelmente daquelas formas presentes nas lesões, formas estas que são expulsas em virtude da ação descamativa da mucosa e ativadora do peristaltismo que tem o purgativo. No material obtido mediante enema, a frequência dos trofozoítas é menor porque não só esta ação descamativa e estimuladora do peristaltismo é menor, como também as fezes são mais diluídas pelo líquido introduzido. A menor proporção de cistos no material obtido mediante purgativo ou enema se deve provavelmente à diluição das fezes.

Aliás, é o que se depreende também do exame pela centrifugo-flutuação no sulfato de zinco. De fato, nos casos acima mencionados, dos quais examinamos esfregaços de

fezes corados pela hematoxilina, fizemos também a pesquisa de cistos no material depois de homogeneizado, usando o método de Faust e cols. Os resultados obtidos são apresentados no quadro IV.

QUADRO IV

Resultados obtidos pelo método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco, em fezes normalmente passadas e em material obtido mediante purgativo e enema.

Material	N.º de casos examinados	Casos positivos	
		N.º	%
Fezes normais .	85	57	67,1
Purgativo .....	85	43	50,9
Enema .....	46	18	39,1

Como era de se esperar, os resultados fornecidos pelo exame de fezes normais foram superiores àqueles fornecidos pelo exame de material obtido por purgativo ou por enema.

Examinando pelo método de centrifugo-flutuação no sulfato de zinco três amostras de fezes de 85 pacientes, colhidas com intervalos de quatro dias, obtivemos os resultados apresentados no quadro V.

QUADRO V

Resultados dos exames de três amostras de fezes de 85 pacientes, colhidas com intervalo de quatro dias, realizados pelo método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco

Exames	Resultados obtidos no exame indicado		Resultados cumulativos, até o exame indicado	
	+	%	+	%
1.º exame	57	67,1	57	67,1
2.º exame	59	69,4	67	78,8
3.º exame	54	63,5	78	91,8
Média	56,7	66,7	—	—

A análise destes resultados indica que não há diferenças significativas entre as porcentagens de positividade de cada um dos três exames sucessivos.

Estes resultados são superiores aos obtidos por AMARAL, PONTES & PIRES<sup>6</sup> que, entre 220 pacientes considerados como o total de casos positivos de um grupo de 600 indivíduos estudados, verificaram 52,3% de positividade ao primeiro exame pela método de Faust e col. São também superiores aos conseguidos por AMARAL & PIRES<sup>5</sup> que, entre 64 pacientes com amebíase, obtiveram

48,5% de casos positivos ao primeiro exame. Concordam, porém, com os que relatamos em trabalho anterior (BARRETO<sup>9</sup>) e apresentados no quadro II. Não diferem também dos de TOBIE & col.<sup>31</sup> que lhes permitiram estimar a eficiência teórica do método da centrífugo-flutuação como  $59 \pm 2$ . Diferem porém dos resultados obtidos por estes últimos autores em um grupo de 28 indivíduos positivos, entre os quais a positividade do primeiro, segundo e terceiro exame foi 71,1%, 57,1% e 50,0% respectivamente.

Os resultados acumulados por nós obtidos nos exames sucessivos não diferem significativamente daqueles de AMARAL, PONTES & PIRES<sup>6</sup>, isto é, 70,9% até o segundo e 91,1% até o terceiro exame. Mas eles são superiores àqueles citados por AMARAL & PIRES<sup>5</sup>, que foram: 64,1% até o segundo e 86,6% até o terceiro exame. Não diferem significativamente dos resultados acumulados de TOBIE & col.<sup>31</sup> que obtiveram 82% até o segundo e 86% até o terceiro exame. Adiante comentaremos as eventuais razões das diferenças acima apontadas a respeito dos resultados individuais e acumulados.

Associando o exame de esfregaços de material obtido mediante purgativo com o exame de três amostras sucessivas de fezes pelo método de Faust e col., nos 85 pacientes a que vimos de nos referir, obtivemos os resultados apresentados no quadro VI.

QUADRO VI

Resultados fornecidos pelo exame de fezes obtidas mediante purgativo, em esfregaços corados pela hematoxilina férrica, associado ao exame de três amostras sucessivas de fezes normais, pelo método de Faust e col. (em 85 pacientes).

Métodos	Resultados					
	1 Faust		2 Faust		3 Faust	
	+	%	+	%	+	%
Só Faust .....	12	14,1	15	17,6	18	21,2
Só hematoxilina .....	20	23,5	13	15,3	5	5,9
Ambos .....	45	52,9	52	61,2	60	70,6
Total do Faust .....	57	67,1	67	78,8	78	91,8
Total da hematoxilina .....	65	76,5	65	76,5	65	76,5
Total geral .....	77	90,6	80	94,1	83	97,6

Parece que o único trabalho em que são apresentados dados detalhados obtidos em comparação deste tipo, é o de AMARAL & PIRES<sup>4</sup>. Para facilitar a comparação com os nossos, tabulamos no quadro VII os dados dos autores citados obtidos até o exame da terceira amostra de fezes.

eliminadas após purgativo dá o mesmo resultado, estatisticamente. Aliás, baseado em outras considerações AMARAL<sup>2</sup> recomenda esta última combinação.

Por outro lado, nossos dados mostram que os resultados fornecidos pela centrífugo-flutuação em duas amostras sucessivas, isto

QUADRO VII

Resultados obtidos por AMARAL & PIRES<sup>4</sup> em exame de fezes obtidas por purgativo e coradas pela hematoxilina férrica associado ao exame de três amostras de fezes normais, pelo método de Faust e col. (em 64 pacientes).

Métodos	Resultados					
	1 Faust		2 Faust		3 Faust	
	+	%	+	%	+	%
Só Faust .....	6	9,4	7	10,9	7	10,9
Só hematoxilina .....	31	48,4	22	34,4	21	32,8
Ambos .....	25	39,1	34	53,1	35	54,7
Total do Faust .....	31	48,4	41	64,1	42	65,6
Total da hematoxilina .....	56	87,5	56	87,5	56	87,5
Total geral .....	62	96,9	63	98,4	64	100,0

A análise de nossos dados apresentados no quadro VI mostra que não há diferenças significantes entre os resultados globais obtidos na associação do exame de fezes eliminadas após purgativo, em esfregaços corados pela hematoxilina, com o exame, pela centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, de uma, duas ou três amostras sucessivas de fezes normalmente emitidas, isto é, 90,6%, 94,1% e 97,6%. Neste particular eles estão de acordo com os de AMARAL & PIRES<sup>4</sup> que obtiveram, respectivamente, 96,9%, 98,4% e 100,0%. Estes resultados, como os nossos, invalidam a conclusão daqueles autores, segundo a qual dois exames de fezes normalmente passadas, pela centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, seguidos de exame de fezes obtidas mediante purgativo em esfregaços corados pela hematoxilina férrica, devem constituir a norma para o diagnóstico de casos não diarreicos ou disentéricos da amebíase. Um único exame de fezes normais seguido do exame de fezes

é, 78,8%, são significativamente inferiores aos fornecidos pela associação do exame de uma amostra de fezes normais pela centrífugo-flutuação com o exame de fezes obtidas por purgativo e coradas pela hematoxilina, isto é, 90,6%, sendo  $\sigma = 2,16$ . Neste particular nossos resultados concordam com os de AMARAL & PIRES<sup>4</sup>, que obtiveram 64,1% e 96,9%, respectivamente; mas a diferença por nós obtida é menor.

Finalmente, nossos dados mostram que os resultados fornecidos pela centrífugo-flutuação em três amostras sucessivas, isto é, 91,8%, não diferem significativamente daqueles fornecidos pela centrífugo-flutuação em uma só amostra de fezes normais combinada com o exame de material conseguido por purgativo e corado pela hematoxilina, isto é, 90,6%. Neste particular nossos resultados divergem dos de AMARAL & PIRES<sup>4</sup> que obtiveram: para três amostras sucessivas 65,6% e para a combinação citada 96,9%.



Estas divergências se devem ao fato de haverem estes autores obtido percentagem de positividade muito baixa com o método da centrífugo-flutuação no sulfato de zinco, como já assinalamos. Elas também se devem à variabilidade dos resultados conseguidos em exames de amostras sucessivas, fato este também ocorrido no trabalho de TOBIE & col.<sup>31</sup>, como já vimos. Não sabemos a que atribuir os dois fatos: baixo rendimento do método de Faust e col. e variabilidade dos resultados fornecidos por este método. Talvez eles sejam devidos, ao menos em parte ao tipo de fezes, pois, como mostrou BEAVER<sup>12</sup>, fezes com alto teor de gorduras não se prestam ao uso do método de Faust e col. Outra explicação seria a influência do tamanho dos cistos em jogo. Como mostramos em trabalho anterior (BARRETTO<sup>9</sup>), o método da centrífugo-flutuação dá mais baixo rendimento em indivíduos sabidamente parasitados pela *E. hartmanni* (cistos pequenos) do que pela *E. histolytica* (cistos grandes). Por outro lado, nos portadores da primeira há maior variabilidade na eliminação de cistos e maiores e mais frequentes períodos negativos, chegando a infecção a desaparecer espontaneamente em alguns casos, como temos observado. Posto que, tanto AMARAL & PIRES<sup>4</sup>, como AMARAL, PONTES & PIRES<sup>6</sup> e TOBIE & col.<sup>31</sup> não distinguem as duas espécies, é possível que a ocorrência de infecções por uma ou por outra e a existência de infecções mistas, em seu material, tenham influenciado nos resultados.

Seja como fôr, nossos resultados permitem-nos recomendar o exame de três amostras sucessivas de fezes normalmente passadas, pelo método de Faust e col., de preferência à combinação proposta por AMARAL & PIRES<sup>4</sup> ou por AMARAL<sup>2</sup>; neste particular concordamos com BROOKE<sup>15</sup>, porque:

- a) Os resultados são equivalentes.
- b) O uso de purgativo representa um inconveniente para o indivíduo, como assinalam AMARAL & PIRES<sup>4</sup>, sendo mesmo contraindicado em certo número de casos (colites, apendicites, piroxias, etc.).
- c) O exame de fezes obtidas por purgativo é mais complicado porque exige a fixa-

ção do material logo após a emissão: ou o doente tem que vir evacuar no laboratório (quando não internado) ou ele próprio terá que fixar o material, o que nem sempre é viável dado seu baixo nível.

d) A confecção de esfregaços, sua coloração e exame dos preparados corados é mais demorada e trabalhosa que a feitura de dois exames adicionais pelo método de Faust e col.

Como entre a colheita das amostras de fezes devem mediar três ou quatro dias, para a realização de três exames pelo método de Faust e col., o doente tem que ficar à disposição do laboratorista durante vários dias. Só quando isto não é possível é que se deve recorrer à norma preconizada por AMARAL<sup>2</sup>.

Quanto à combinação do exame de fezes normalmente passadas com o de material conseguido por enema, julgamo-la desvantajosa porque, a colheita do material é muito mais complicada e os resultados fornecidos pelo exame deste material são inferiores. Só em casos excepcionais, aqueles em que o uso de purgativo é condenado, se deverá recorrer ao enema.

#### SUMMARY

*Diagnosis of chronic amebiasis. II. Comparative study of the efficiency of the zinc sulfate centrifugal-floatation technic, in successive stool specimens, and of the examination of purged stools, used either separately or in combination.*

A comparison of the relative efficiency of the examination of unstained and iodine-stained wet films and of hematoxylin-stained fecal smears, for the diagnosis of chronic amebiasis was carried out in a group of 50 individuals infected by true *E. histolytica* (large race). Whilst no significant differences were found between the two methods for the detection of cysts, hematoxylin-stained preparation was found to give a significantly higher proportion of trophozoite passers.

On the other hand, examination of hematoxylin-stained preparations for the detection

of cysts and trophozoites in normally passed stools and in specimens passed by patients receiving catharsis or enema, was carried out in three groups of patients. The examination of purged specimens gave a significantly higher proportion of positive results (76.5 per cent) than the examination of normally passed stools (50 per cent) or enema specimens (58.7 per cent). This is due to a higher proportion of trophozoites in purgation stools.

Examination of three normally passed stools from each of 85 *histolytica*-infected patients, collected every fourth day and concentrated by zinc sulfate centrifugal floatation technic, was carried out, and the following results were obtained: first specimen: 67.1 per cent; second specimen: 69.4 per cent; and third specimen: 63.5 per cent. The proportion of cases revealed by the examinations of the first two samples was 78.8 per cent and by the examination of the three specimens was 91.8 per cent.

The examination of one, two, and three normally passed stools by zinc sulfate centrifugal floatation followed by the examination of one purged specimen in hematoxylin-stained preparation was carried out in 85 patients harboring *E. histolytica* and the following results were obtained: one normally passed specimen 90.6 per cent, two specimens 94.1 per cent, and three specimens 97.6 per cent. There is no significant difference between these results. The proportion of cases discovered by the examination of three successive normally passed stools by zinc sulfate centrifugal floatation technic, i.e., 91.8 per cent, does not differ significantly from that disclosed by the examination of one or two normally passed stools by the same concentration technic followed by the examination of a purged specimen, i.e., 90.6 per cent and 94.1 per cent respectively.

Therefore, if sufficient time is available for the patient, three normally passed stool specimens, spaced three or four days apart, should be examined, instead of resorting to catharsis after a single normally passed stool is examined, because the use of catharsis represents an inconvenience to the patient,

and because the examination of purged specimens is more time-consuming and elaborated, requiring fixation of the material soon after the collection.

In some special cases, which remain negative after the examination of three normally passed specimens and are still suspected of being infected a purged specimen may be examined.

#### REFERÊNCIAS

1. AMARAL, A. D. F. — Algumas contribuições do laboratório para o estudo da amebíase. São Paulo, 1944. Tese Fac. Med. Univ. São Paulo.
2. AMARAL, A. D. F. — Problemas de diagnóstico da laboratório da amebíase. São Paulo, 1955. Tese Fac. Med. Univ. São Paulo.
3. AMARAL, A. D. F. & MAYRINK, W. — Diagnóstico de laboratório de protozoários intestinais. III. Modalidade prática para o emprego do fixador de Schaudinn (resumo). Rev. paulista Med. 50:460, 1957.
4. AMARAL, A. D. F. & PIRES, C. D. A. — Estudo comparativo entre o método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco e o da coloração pela hematoxilina férrica de fezes obtidas sub purgativo, no diagnóstico da amebíase. Rev. paulista Med. 30:307-319, 1947.
5. AMARAL, A. D. F. & PIRES, C. D. A. — Nota sobre a incidência de portadores de cistos da *Endamoeba histolytica*. Hospital, Rio de Janeiro 22:411-429, 1942.
6. AMARAL, A. D. F.; PONTES, J. F. & PIRES, C. D. A. — Amebíase: estudo etiológico, clínico, terapêutico e epidemiológico. São Paulo, 1947.
7. ANDERSON, H. H.; BOSTICK, W. L. & JOHNSTONE, H. G. — Amebiasis: pathology, diagnosis and chemotherapy. Springfield, Charles C. Thomas, 1953.
8. ANDREWS, J. — The diagnosis of intestinal protozoa from purged and normally passed stools. J. Parasit. 20:253-254, 1943.
9. BARRETO, M. P. — Diagnóstico da amebíase crônica. Estudo comparativo da eficiência dos métodos de Faust e col. e Teleman-Rivas, usados sós ou combinados com o exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 2:305-312, 1960.

**BARRETTO, M. P. — Diagnóstico da amebíase crônica. II. Estudo comparativo da eficiência de método da centrifugo-flutuação no sulfato de zinco, em amostras sucessivas de fezes normalmente emitidas, e do exame de fezes obtidas mediante catártico, usados sós ou combinadamente. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 4:1-11, 1962.**

10. BARRETTO, M. P. & SILVA, G. A. — Estudos sobre a amebíase retossigmoidiana. I. Diagnóstico de laboratório das lesões. Rev. brasil. Gastroenterol. 12:147-160, 1960.
11. BARRETTO, M. P. & ZAGO Filho, H. — Estudos sobre a coloração de protozoários intestinais. II. Métodos práticos que empregam mordentes e corantes em soluções separadas. Rev. brasil. Biol. 20:131-138, 1960.
12. BEAVER, P. C. — The detection and identification of some common nematode parasites of man. Am. J. clin. Pathol. 22:481-494, 1952.
13. BELTRAN, E. — Resultados comparados de diversos métodos para el diagnóstico de protozoários intestinales. Rev. Inst. Salubr. & Enferm. trop. 5:175-184, 1944.
14. BELTRAN, E. & LARENAS, R. — Protozoarios intestinales en una comunidad escolar de la ciudad de México. Rev. Inst. Salubr. & Enferm. trop. 2:193-212, 1941.
15. BROOKE, M. M. — Amebiasis: methods in laboratory diagnosis. Atlanta, Publ. Health Serv., Comm. Dis. Center, 1958.
16. BROWN, P. W. — Nature, incidence and treatment of endamebiasis. J. Am. med. Assoc. 86:457-462, 1926.
17. BUNDESEN, H. N.; CONNOLLY, J. I.; RAWLINGS, I. D.; GORMAN, A. E.; Mc. GOY, G. W. & HARDY, A. V. — Epidemic amebic dysentery: the Chicago outbreak of 1933. Nat. Inst. Health Bull. (166):1-187, 1936.
18. DOBELL, C. — Amoebic dysentery and the protozoological investigation of cases and carriers. Med. Res. Comm., Special Rep. Ser. (4):9-85, 1915.
19. FAUST, E. C. — Amebíases: métodos diagnósticos. Rev. méd. Córdoba, 38:59-75, 1950.
20. FAUST, E. C. — Some modern conception of amebiasis. Trans. & Stud. Coll. Physic. Philadelphia, 4s., 2:101-113, 1943.
21. FAUST, E. C.; SAWITZ, W.; TOBIE, J.; ODON, V.; PERES, C. & LINCICOME, D. R. — Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. J. Parasit. 25:241-262, 1939.
22. GREENWAY, D. & CASTEX, M. — Consideraciones parasitologicas y clinicas sobre 2.700 casos de amebiasis intestinal. An. Fac. Cienc. méd. La Plata, 1/2:171-213, 1937.
23. JAMES, W. M. — Diagnosis of intestinal amebiasis. J. Am. med. Assoc. 89:1469-1472, 1927.
24. MAGATH, T. B. — The laboratory diagnosis of amebiasis. J. Am. med. Assoc. 103:1218-1224, 1934.
25. MANSON-BAHR, P. H. — Dysentery: review of literature of last six years. Trop. Dis. Bull. 18:313-324, 1921.
26. SAWITZ, W. G. & FAUST, E. C. — The probability of detecting intestinal protozoa by successive stool examinations. Am. J. trop. Med. 22:131-136, 1942.
27. SAWITZ, W. G. & HAMMERSTRON, R. J. — The statistical significance of a negative stool examination in the diagnosis of amebiasis. Am. J. Hyg. 38:1-7, 1943.
28. SWARTZWELDER, J. C. — Comparison of five laboratory techniques for demonstration of intestinal parasites. J. trop. Med. & Hyg. 42:185-187, 1939.
29. SWARTZWELDER, J. C. — Laboratory diagnosis of amoebiasis. Am. J. clin. Pathol. 22:379-395, 1952.
30. SWENSSON, R. & LINDERS, F. J. — The changes of detecting infections with intestinal protozoa. Acta med. Scand. 81:267-324, 1934.
31. TOBIE, J. E.; REARDON, L. V.; BOZICEVICH, J.; SHIH, B. C.; MONTEL, N. & THOMAS, E. H. — The efficiency of the zinc sulfate technic in the detection of intestinal protozoa by successive stool examination. Am. J. trop. Med. 31:552-560, 1951.

Recebido para publicação em 18 dezembro 1961.