

DIAGNÓSTICO DA AMEBÍASE CRÔNICA

Estudo comparativo da eficiência dos métodos de Faust & col. e de Telemann-Rivas, usados sós ou combinados com o exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica

Mauro PEREIRA BARRETO

RESUMO

O estudo comparativo do valor dos métodos de FAUST & col. e de TELEMANN-RIVAS e do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, levado a efeito em 100 pacientes com amebíase crônica assintomática e comprovadamente eliminadores de cistos, mostrou a incontestável superioridade do método de FAUST & col. Assim, êste método evidenciou cistos em 65% dos casos, o de TELEMANN-RIVAS em 45% dos indivíduos e os esfregaços corados em 47% dos pacientes. A diferença entre os resultados fornecidos por êstes dois últimos não é significativa. Em esfregaços corados pela hematoxilina, trofozoítas foram encontrados em 5% dos casos, que passaram despercebidos, como é natural, tanto no método de FAUST & col. como no de TELEMANN-RIVAS.

Por outro lado, o estudo comparativo de 105 casos de infecção pela raça grande, 75 casos de parasitismo pela raça pequena e 40 casos de portadores de ambas as raças mostrou que, tanto o método de FAUST & col., como o exame de esfregaços corados pela hematoxilina, dão maiores percentagens de positividade nos pacientes infectados pela raça grande da *E. histolytica*. Assim, o método de FAUST & col. revelou 76,2% dos casos de infecção pela raça grande e 50,1% dos casos de parasitismo pela raça pequena; o exame de esfregaços revelou cistos em 53,3% e 40,0% dos casos, respectivamente. Em pacientes com infecção mista, o método de FAUST & col. revelou cistos grandes em 70% e cistos pequenos em 55,0% dos casos; os esfregaços corados evidenciaram cistos grandes em 57,5% e cistos pequenos em 42,5% dos casos.

INTRODUÇÃO

A avaliação da eficiência dos métodos de exame parasitológico é de importância capital, pois desta eficiência dependem a segurança do diagnóstico dos casos clínicos e a validade dos resultados dos inquéritos epidemiológicos, como assinalam PIZZI & SILVA¹⁵.

É claro que um método ideal seria aquêle que permitisse diagnosticar, com um só exa-

me, todos os casos. Mas nenhum dos métodos atualmente em uso, em virtude de suas próprias limitações, dá 100% de resultados positivos. Isto se verifica com particular nitidez no caso da amebíase, em que os pacientes eliminam trofozoítas ou cistos ou ambos em proporções variáveis, e os melhores métodos para a pesquisa de cistos

não são indicados para a pesquisa de trofozoítas.

Um dos métodos, hoje muito difundido, para a pesquisa de cistos da *E. histolytica* e de outros protozoários intestinais, assim como dos ovos de certos helmintos, é o método de FAUST & col.¹⁰, usado segundo a técnica original ou com algumas modificações sugeridas por diversos autores. Depois do trabalho de SACRAMENTO¹⁷, que o introduziu entre nós, este método substituiu o de TELEMANN¹⁸, modificado por RIVAS¹⁶, que era, até então, usado para a concentração de cistos de protozoários no Departamento de Parasitologia da Faculdade de Medicina de São Paulo e que empregamos em nosso trabalho sobre a amebíase (BARRETTO⁴). A difusão do método de FAUST & col. se deve aos esforços de Dácio Franco do Amaral que, desde 1942, o vem empregando em seus trabalhos (AMARAL & PIRES³).

Em duas ocasiões diversas, há alguns anos, fizemos uma comparação da eficiência deste método com o de TELEMANN-RIVAS para o diagnóstico da amebíase crônica. Não julgamos dever dar à publicidade os nossos resultados, visto que o método de FAUST & col. já se achava muito divulgado e entrava mesmo na rotina dos laboratórios de parasitologia. Entretanto, a insistência com que alguns pesquisadores, sobretudo no Chile, vêm empregando o método de TELEMANN-RIVAS de preferência ao de FAUST & col., levou-nos a reunir nossos dados, completá-los, analisá-los e publicá-los.

Por outro lado, como em todos os casos pesquisamos sistematicamente trofozoítas e cistos da *E. histolytica* em esfregaços fixados pelo líquido de Schaudinn ou de Bouin e corados pela hematoxilina férrica, resolvemos incluir nossos dados a respeito.

Finalmente estudamos a eficiência do método de FAUST & col. e do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica em pacientes infectados com a raça grande e a raça pequena da *E. histolytica*.

MATERIAL E METODOS

Para a comparação da eficiência relativa dos métodos de FAUST & col. e de TELEMANN-RIVAS e do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica empregamos-os simultaneamente em amostras de fezes normalmente eliminadas por 100 pacientes assintomáticos comprovadamente infectados com a *E. histolytica* e eliminadores de cistos. Neste estudo não fizemos distinção entre as duas raças do parasita porque, em nossas primeiras comparações, não registramos separadamente os resultados obtidos nos casos de infecção por uma ou outra raça. Para a concentração de cistos usamos a técnica recomendada por RIVAS¹⁶ e a técnica n.º 8 de FAUST & col.¹⁰, obedecendo a tôdas as especificações, inclusive tipo e velocidade do centrifugador; para a coloração de esfregaços empregamos a técnica de FAUST⁹ modificada por AMARAL¹.

Para a verificação da eficiência do método de FAUST & col. e do exame de esfregaços corados no diagnóstico de infecções por raças diversas da *E. histolytica*, utilizamos fezes colhidas durante a retossigmoidoscopia de 105 indivíduos infectados pela raça grande, 75 parasitados pela raça pequena e 40 com infecções mistas, todos assintomáticos e comprovadamente eliminadores de cistos. Nesta série os esfregaços foram feitos imediatamente após a colheita das fezes e fixados com líquido de Schaudinn ou de Bouin, segundo a técnica aconselhada por BARRETTO, SILVA & ZAGO⁵; para a coloração empregamos o mordente de LANG¹³ e a hematoxilina de MARKEY & col.¹⁴, segundo a técnica recomendada por BARRETTO & ZAGO⁶.

RESULTADOS E DISCUSSAO

Os resultados obtidos com o emprêgo dos métodos de FAUST & col. e de TELEMANN-RIVAS e do exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 100 pacientes com amebíase crônica assintomática, são apresentados nos Quadros I, II e III.

QUADRO I

Comparação dos resultados fornecidos pelos métodos de FAUST & col. e de TELEMANN-RIVAS, em 100 casos de amebíase crônica assintomática.

Método	Porcentagem de positividade
Só Faust positivo	22,0
Só Telemann positivo	2,0
Ambos positivos	43,0
Total para o Faust	65,0
Total para o Telemann	45,0
Total geral	67,0

O exame do Quadro I mostra que, enquanto o método de FAUST & col. revelou 65% dos casos, o de TELEMANN-RIVAS foi positivo em apenas 45% dos pacientes comprovadamente infectados. Este último revelou 2% de casos de infecção que foram negativos pelo método de FAUST & col., mas este, por sua vez, evidenciou 22% de casos que não foram diagnosticados pelo método de TELEMANN-RIVAS. Houve concordância de resultados positivos em 43% dos casos e de resultados negativos em 33%. A diferença entre os resultados fornecidos pelos dois métodos é muito grande, mas assim mesmo aplicamos o teste de McNemar para

QUADRO II

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de TELEMANN-RIVAS e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 100 casos de amebíase crônica assintomática.

Método	% de positividade	Observações
Só Telemann positivo	22,0	
Só hematoxilina positiva	29,0	Cistos, 24%; trofozoítas, 5%
Ambos positivos	23,0	
Total para o Telemann	45,0	
Total para a hematoxilina	52,0	Cistos, 47%; trofozoítas, 5%
Total geral	64,0	Cistos, 59%; trofozoítas, 5%

QUADRO III

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de FAUST & col. e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 100 casos de amebíase crônica assintomática.

Método	% de positividade	Observações
Só Faust positivo	20,0	
Só hematoxilina positiva	7,0	Cistos, 2%; trofozoítas, 5%
Ambos positivos	45,0	
Total para o Faust	65,0	
Total para a hematoxilina	52,0	Cistos, 47%; trofozoítas, 5%
Total geral	72,0	Cistos, 67%; trofozoítas, 5%

amostras correlatas, havendo obtido $\chi^2 = 16,67$. Isto mostra a incontestável superioridade do método de FAUST & col. sobre o de TELEMANN-RIVAS.

Releva notar que as duas falhas do método de FAUST & col foram observadas em fezes muito gordurosas, precisamente aqueles casos em que ele pode falhar, como já demonstrou BEAVER⁷. Aliás, em casos como estes, observando o comportamento do material fecal durante as manipulações, podemos, de antemão, prever a possibilidade de um resultado positivo.

Além da maior percentagem de positividade que fornece, o método de FAUST & col. tem a vantagem grande de dar preparações mais limpas, mais ricas e com cistos mais bem conservados, o que torna o diagnóstico mais fácil e mais seguro.

O Quadro II mostra que os esfregaços corados pela hematoxilina férrica revelaram 52% dos casos positivos (cistos em 47% e trofozoítas em 5% dos casos), enquanto o método de TELEMANN-RIVAS evidenciou cistos em 45% dos casos. Deixando de lado os casos de eliminação de trofozoítas, que não poderiam ser revelados pelo método de TELEMANN-RIVAS, verifica-se pelo teste de McNEMAR que não há diferenças significativas entre os dois métodos comparados ($\chi^2 = 0,87$). Por outro lado, há uma grande discrepância nos resultados por eles fornecidos, pois o método de TELEMANN-RIVAS falhou em 24% dos casos revelados pelos esfregaços corados, enquanto o inverso se deu em 22% dos casos. Incluindo nos resultados os casos de encontro exclusivo de trofozoítas, verifica-se que, ainda que os esfregaços corados tenham evidenciado mais alguns casos que passaram despercebidos no TELEMANN-RIVAS, os resultados globais fornecidos pelos dois métodos não diferem significativamente, tendo o teste de McNEMAR dado $\chi^2 = 0,14$. Estes resultados estão de acordo com os referidos por PIZZI & SILVA¹⁵, que encontraram 44,9% de positividade para o Telemann-Rivas e 49,0% para os esfregaços fixados pelo álcool polivinílico e corados pela hematoxilina.

O exame do Quadro III mostra que o método de FAUST & col. revelou 65% dos casos, enquanto o exame de esfregaços corados pela hematoxilina evidenciou apenas 52% (cistos em 47% e só trofozoítas em 5%). Deixando de parte os casos que eliminavam só trofozoítas, verifica-se que o método de FAUST & col. só falhou em 2 casos revelados pelos esfregaços corados pela hematoxilina. O teste de McNEMAR indica que a diferença entre as proporções acima (65% e 47%) é altamente significativa ($\chi^2 = 18,18$). Mesmo incluindo os casos de eliminação de trofozoítas, só reveláveis pelos esfregaços corados, a superioridade do método de FAUST & col. é incontestável ($\chi^2 = 6,26$).

Assim sendo, este método, entre aqueles testados, é o mais indicado para a pesquisa de cistos de *E. histolytica* nas fezes. Nossos resultados sobre sua eficiência não diferem daqueles conseguidos por TOBIE & col.¹⁹, que lhes permitiram calcular a eficiência teórica do método em questão em 59%; eles não diferem também dos obtidos por estes autores em 28 casos comprovados de amebíase, entre os quais o primeiro exame pela centrifugoflutuação no sulfato de zinco deu 71% de positividade. Nossos resultados são, porém, superiores aos de AMARAL¹ que, empregando o método de FAUST & col. em 220 indivíduos infectados, encontrou, ao primeiro exame, 52,3% de positividade.

Nossos dados, todavia, não são estritamente comparáveis com os de TOBIE & col.¹⁹ e de AMARAL¹, porque o material com trabalhamos e as condições de exame são evidentemente diversas. Aliás, TOBIE & col.¹⁹ mostraram que exames feitos em grupos diversos dão resultados diversos e, o que é mais importante, exames feitos no mesmo grupo de indivíduos em épocas diversas dão resultados diferentes. Assim, por exemplo, em um grupo de 28 indivíduos sabidamente infectados, encontrou 71,1%, 57,1%, 50,0%, 71,1% e 75,0% de resultados positivos, respectivamente, do primeiro até o quinto exame. Isto naturalmente depende da variabilidade da eliminação de cistos conforme o dia. O tipo de fezes eliminadas em ocasiões

diversas pelo mesmo indivíduo pode também concorrer para a flutuação dos resultados.

Daí a necessidade da repetição dos exames, já demonstrada por vários autores, e da combinação de métodos que revelem cistos e trofozoítas.

Para a pesquisa de trofozoítas, assim também como para a confirmação de diagnóstico de cistos em certos casos, particularmente no caso de amebas pequenas, damos preferência aos esfregaços fixados pelo Schaudinn ou pelo Bouin-Hollande, puros ou diluídos ao meio, ou ainda pelo Gilson, e corados pela hematoxilina férrica. Isto porque, em nossas mãos, a fixação pelo álcool polivinílico, só ou associado ao Schaudinn segundo a técnica de GOLDMAN^{11,12} ou a modificação de BROOKE & GOLDMAN⁸, não tem dado resultados satisfatórios, como já assinalamos em trabalho anterior (BARRETTO, SILVA & ZAGO⁵). A coloração dos esfregaços assim fixados é grosseira e irregular e, sobretudo nos casos da raça pequena da *E. histolytica*, os caracteres específicos nem sempre se apresentam nítidos, tornando difícil ou mesmo impossível o diagnóstico diferencial com a *Endolimax nana*. O mes-

mo acontece com os trofozoítas da raça grande da *E. histolytica* e os de *E. coli*.

A real vantagem da fixação pelo álcool polivinílico, isto é, a confecção de esfregaços secos para coloração posterior, pode ser obviada pela feitura de esfregaços no momento da colheita de fezes, inclusive pelo próprio paciente, e imersão destes esfregaços no fixador como aconselhamos em trabalho anterior (BARRETTO, SILVA & ZAGO⁵). A fixação de fezes *in totum* pelo álcool polivinílico é substituída com vantagens pela fixação em Schaudinn, como aconselham AMARAL & MAYRINK² ou em Gilson.

Quanto ao método rápido de VELAT, WEINSTEIN & OTTO²⁰ para a pesquisa de trofozoítas, nossa experiência com ele é má. Em adição, este método tem a desvantagem de não conservar trofozoítas e requerer o exame de fezes logo após a eliminação.

Procurando verificar a eficiência do método de FAUST & col só ou associado ao exame de esfregaços corados pela hematoxilina, para o diagnóstico das raças diversas da *E. histolytica*, estudamos 220 casos comprovados da amebíase crônica, sendo 105 infectados pela raça grande, 75 pela pequena e 40 por ambas as raças. Os resultados obtidos são apresentados nos Quadros IV, V e IV.

QUADRO IV

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de FAUST & col. e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 105 casos de portadores da raça grande da *E. histolytica*.

Método	Positivos		Observações
	Nº	%	
Só Faust positivo	21	20,0	
Só hematoxilina positiva	5	4,8	Cistos, 1,9%; trofozoítas, 2,9%
Ambos positivos	59	56,2	
Total pelo Faust	80	76,2	
Total pela hematoxilina	64	60,9	Cistos, 58,1%; trofozoítas, 2,9%
Total geral	85	80,9	Cistos, 78,1%; trofozoítas, 2,9%

QUADRO V

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de FAUST & col. e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica, em 75 casos de portadores da raça pequena da *E. histolytica*.

Método	Positivos		Observações
	Nº	%	
Só Faust positivo	13	17,3	
Só hematoxilina positiva	6	8,0	Cistos, 4,0%; trofozoítas, 4%
Ambos positivos	27	36,0	
Total pelo Faust	40	53,3	
Total pela hematoxilina	33	44,0	Cistos, 40,0%; trofozoítas, 4%
Total geral	46	61,3	Cistos, 57,3%; trofozoítas, 4%

QUADRO VI

Comparação dos resultados fornecidos pelo método de FAUST & col. e pelo exame de esfregaços corados pela hematoxilina férrica para a pesquisa de cistos das duas raças de *E. histolytica*, em 40 casos de infecção mista.

Raça	Faust & col.		Hematoxilina	
	Nº	%	Nº	%
Só raça grande	8	20,0	7	17,5
Só raça pequena	2	5,0	1	2,5
Ambas as raças	20	50,0	16	40,0
Total da raça grande	28	70,0	23	57,5
Total da raça pequena	22	55,0	17	42,5
Total geral	30	75,0	24	60,0

O exame dos Quadros IV e V mostra que o método FAUST & col. revelou-se muito mais eficiente que o exame de esfregaços corados pela hematoxilina para a pesquisa de cistos de ambas as raças, sendo, porém, a diferença entre os dois métodos maior no caso da raça grande (76,2% contra 58,1%)

do que no da raça pequena (53,3% contra 40,0%).

Esta diferença é mais bem evidenciada no Quadro VI onde apresentamos os resultados obtidos nos casos de infecção mista. Enquanto o método de FAUST & col. revelou cistos em 70% dos casos de infecção pela

raça grande e em 55% dos portadores da raça pequena, as proporções de casos positivos no exame de esfregaços corados pela hematoxilina foram 57,5% e 42,5%, respectivamente, para as raças grande e pequena.

Êstes resultados mostram, por outro lado, que ambos os métodos dão percentagens de positividade significativamente mais altas nos casos de infecção pela raça grande. Isto parece indicar que há uma flutuação maior na eliminação de cistos pelos portadores da raça pequena, ou que os cistos pequenos flutuam menos bem no sulfato de zinco ou passam despercebidos com mais facilidade durante o exame das preparações.

SUMMARY

Diagnosis of chronic amebiasis. Comparative study of the reliability of Faust's and Telemann-Rivas' techniques, used either separately or combined with iron-hematoxylin stained smear examinations.

A study of the comparative value of three techniques, i.e., Faust's zinc sulphate centrifugal-floatation, Telemann-Rivas' acid-ether centrifugation, and iron-hematoxylin stained smears, was carried out in 100 patients suffering from chronic amebiasis and known cyst passers. The following results for cysts were obtained: Faust's technique — 65 per cent; Telemann-Rivas' technique — 45 per cent; stained smears — 47 per cent.

On the other hand, a study of 105 and 75 patients infected by the large and the small race of *E. histolytica*, respectively, showed that both Faust's technique and stained smears give a higher proportion of positive results in patients infected with the large race. Faust's technique revealed 76.2 per cent of cases of infection by the large race and 50.1 per cent of carriers of the small race of *E. histolytica*, respectively, for cysts in 53.3 per cent and 40.0 per cent of cases, respectively. In addition, stools of 40 patients harbouring both races were examined by the two techniques. Faust's technique revealed large cysts in 70 per cent and small cysts in 55 per cent of cases, while stained smears were positive for cysts in 57.5 per cent and 42.5 per cent of cases, respectively.

REFERÊNCIAS

1. AMARAL, A. D. F. — Algumas contribuições do laboratório para o estudo da amebíase. Tese Fac. Med. Univ. São Paulo. São Paulo, 1944.
2. AMARAL, A. D. F. & MAYRINK, W. — Diagnóstico de laboratório de protozoários intestinais. III Modalidade prática para o emprêgo do fixador de Schaudinn (resumo). Rev. paulista Med. 50:460, 1957.
3. AMARAL, A. D. F. & PIRES, C. D. A. — Nota sobre a incidência de portadores de cistos de *Endamoeba histolytica*. Hospital, Rio de Janeiro 22:411-429, 1942.
4. BARRETTO, M. P. — Os métodos de cultura no diagnóstico de *Entamoeba histolytica*. Rev. Biol. & Hig. 10:66-83, 1939.
5. BARRETTO, M. P.; SILVA, G. A. & ZAGO Fº, H. — Estudos sobre a amebíase retossigmoidiana. I. Diagnóstico de laboratório das lesões. Rev. brasil. Gastroenterol. [no prelo].
6. BARRETTO, M. P. & ZAGO Fº, H. — Estudos sobre a coloração de protozoários intestinais. II. Métodos rápidos que empregam mordentes e corantes em soluções separadas. Rev. brasil. Biol. [no prelo].
7. BEAVER, P. C. — The detection and identification of some common nematode parasites of man. Am. J. clin. Pathol. 22: 481-494, 1952.
8. BROOKE, M. M. & GOLDMAN, M. — Polyvinil alcohol fixative as preservative and adhesive for protozoa in dysenteric stools and other liquid material. J. Lab. & clin. Med. 34:1554-1560, 1949.
9. CRAIG, C. F. & FAUST, E. C. — Clinical parasitology. Philadelphia, Lea & Febiger, 1937.
10. FAUST, E. C.; SAWITZ, W.; TOBIE, J.; ODOM, V.; PERES, C. & LINCICOME, D. R. — Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of protozoa and helminths in feces. J. Parasitol. 25:241-262, 1939.
11. GOLDMAN, M. — Polyvinil alcohol-fixative method for shipping fecal smears. Publ. Health Lab. 6:38-39, 1948.
12. GOLDMAN, M. — Use of polyvinil alcohol to preserve fecal smears for subsequent staining. Science 106:42, 1947.
13. LANG, A. G. — A stable high contrast mordant for hematoxylin staining. Stain Technol. 11:149-151, 1939.

14. MARKEY, R. L.; CUMBERTSON, C. J. & GIORDANO, A. S. — A rapid method for staining of intestinal parasites. Am. J. clin. Pathol., Techn. Serv. 7:2-3, 1943.
15. PIZZI, T. & SILVA-C., R. — Evaluación de métodos diagnósticos en amibiasis intestinal. Planteamiento teórico. Bol. chileno Parasitol. 15:2-6, 1960.
16. RIVAS, D. de — An efficient and rapid method of concentration for the detection of ova and cysts of intestinal parasites. Am. J. trop. Med. 8:63-72, 1928.
17. SACRAMENTO, W. — Observações sôbre processos de enriquecimento de ovos e larvas de helmintos e de cistos de protozoários nas fezes, com especial referência ao método de Faust. Rev. Med., São Paulo 24:67-73, 1940.
18. TELEMANN, W. — Eine Methode zur Erleichterung der Auffindung von Parasiteneiern in der Faeces. Deut. med. Wchnschr. 34:1510-1511, 1908.
19. TOBIE, J. E.; REARDON, R. V.; BOZICEVICH, J.; SHIH, B. C.; MANTEL, N. & THOMAS, E. H. — The efficiency of the zinc sulphate technic in the detection of intestinal protozoa by successive stool examinations. Am. J. trop. Med. 31:552-560, 1951.
20. VELAT, C. A.; WEINSTEIN, P. P. & OTTO, G. F. — A stain for the rapid differentiation of the trophozoites of the intestinal amoebae in fresh, wet preparations. Am. J. trop. Med., 30:43-51, 1950.

Recebido para publicação em 22 setembro 1960.