

## COMPORTAMENTO EVOLUTIVO DA REAÇÃO DE FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO QUANTITATIVA NA FASE CRÔNICA DA DOENÇA DE CHAGAS, SEM INFLUÊNCIA DE TRATAMENTO ESPECÍFICO

José Wilson Rodrigues de ALMEIDA (1), Mario E. CAMARGO (2) e Vicente AMATO NETO (3)

### RESUMO

Os Autores estudaram o comportamento evolutivo da reação de fixação do complemento quantitativa para o diagnóstico da doença de Chagas, determinando os títulos finais no soro de 26 pacientes acometidos pela modalidade crônica da protozoose em apreço. As 120 amostras foram obtidas mensalmente e as provas tiveram lugar sempre no mesmo laboratório, por intermédio de um único profissional. Os resultados mostraram-se discrepantes, evidenciando marcante discordância entre as cifras verificadas e pertinentes a cada doente individualmente. As possíveis causas da variabilidade e a implicação dos fatos registrados na avaliação da eficácia de agente terapêutico mereceram comentários, em virtude da expressividade que possuem no contexto de abordagens clínica e de outras ordens relativas à infecção pelo *Trypanosoma cruzi*.

### INTRODUÇÃO

O avanço nos conhecimentos acerca da doença de Chagas é uma realidade em nossos dias, graças ao crescente interesse dos pesquisadores sobre o assunto. Não obstante, certas particularidades desta protozoose ainda permanecem como insistente desafio aos mais aplicados estudiosos. Constitui exemplo marcante, a propósito, a dificuldade referente à avaliação da eficácia de agentes terapêuticos durante a infecção crônica. Já em 1962<sup>17</sup>, grupo de especialistas que analisou esse problema considerou que tal controle deveria ser realizado mediante adoção dos seguintes critérios: demonstração do parasita; observação de dados clínicos e, também, acompanhamentos sorológico. Atualmente, dá-se preferência à evidênciação do *Trypanosoma cruzi* no sangue através do xenodiagnóstico, embora seja reconhecida, com certa unanimidade, a parcial e deficiente contri-

buição desse exame, ficando geralmente lembradas duas explicações quando em tela o comportamento não ideal do procedimento. A primeira é a variável sensibilidade da prova, que propicia extremos de positividade de 30% a 80%<sup>12,14,18,21,22,23,25</sup>. A segunda tem nexos com o período de 24 a 36 meses, convencionalmente estabelecido, para utilização da técnica após o tratamento, uma vez que não há como contestar a possibilidade do xenodiagnóstico exibir positividade em fases maiores de tempo.

Com referência aos juízos de ordem clínica, sabe-se que não ocorre nenhuma alteração na evolução clínica da fase crônica após o tratamento, pelo menos de acordo com diferentes opiniões até agora emitidas.

A utilização de reações sorológicas ainda apresenta assunto que suscita discussões e di-

Clinica de Doenças Infecciosas e Parasitárias e Instituto de Medicina Tropical de São Paulo, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

- (1) Professor-assistente da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias
- (2) Professor-assistente-doutor da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias, chefe do Laboratório de Imunologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (3) Professor-titular da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias

vergências. Segundo CANÇADO<sup>7</sup>, é esperável diminuição do nível de anticorpos humorais depois da administração de compostos dotados de ação antiparasitária pertinente ao *T. cruzi*, ocorrendo menor positividade ou negatificação dos testes. BOAINAIN<sup>2</sup>, em observação que durou 22 meses e subsequente a tratamento de pacientes na etapa crônica, não notou mudanças significativas quanto aos exames e conclusões semelhantes estabeleceram SCHENONE & col.<sup>24</sup> e CANÇADO & col.<sup>8</sup>.

RASSI & col.<sup>20</sup> observaram o comportamento da fixação do complemento quantitativa processada como indicaram FREITAS & ALMEIDA<sup>16</sup>, recorrendo a soros de pacientes não tratados e cronicamente acometidos, em tentativa de apurar o decurso dela, repetida sistematicamente, em uma mesma pessoa. O objetivo dessa investigação correspondeu à conveniência de verificar a uniformidade dos títulos obtidos, condição indispensável para a prova ser aproveitada na avaliação da eficácia terapêutica. Notaram, classificando os títulos em negativos, duvidosos e positivos (maiores que 1,9), patente variabilidade, em diferentes períodos. Entretanto, não estabeleceram quantificações até as cifras finais e, por isso, não permitiram melhor interpretação dos dados coletados.

Por seu turno, CERISOLA & ROHWEDER<sup>11</sup>, com soros de 30 doentes na etapa crônica, não perceberam mudança espontânea significativa nas reações qualitativas e semi-quantitativas de fixação do complemento, efetuadas com o intuito de apreciar a evolução delas, sendo que, no estudo, todos os testes foram executados de forma simultânea.

PRATA & col.<sup>19</sup> enviaram três amostras de soro de cada paciente, com processo agudo ou crônico, para o mesmo número de laboratórios diferentes, que realizaram a reação de fixação do complemento. Procuraram comparar os resultados e constataram discrepâncias significativas, demonstrando falta de padronização técnica, capaz de conceder uniformidade, em diferentes locais.

Frisamos que a discussão em torno dos aspectos sorológicos restringe-se mais à forma crônica da moléstia. Quanto à aguda, negatificação após o tratamento é um fato plenamente confirmado<sup>8,9,10</sup>.

Na pesquisa agora relatada efetuamos a prova de fixação do complemento quantitativa

e calculamos os títulos finais, usando casuística representada por pacientes na fase crônica da doença de Chagas, não tratados específica e previamente. Pretendemos, assim, demarcar mais detalhadamente o comportamento do teste e analisar a possibilidade de empregá-lo no acompanhamento posterior às tentativas de efetivação de cura parasitológica.

## MATERIAL E MÉTODOS

Estudamos o que se passou com o soro de 26 pacientes com doença de Chagas crônica, matriculados no Ambulatório da Clínica de Doenças Infecciosas e Parasitárias, do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Entre eles, estavam presentes as modalidades cardíaca, indeterminada e digestiva. Tais enfermos nunca haviam sido submetidos a tratamento específico e, alguns, recebiam apenas medicação anti-hipertensiva.

Retiramos em cada oportunidade 10 ml de sangue e o soro respectivo foi conservado, em congelador, a  $-20^{\circ}$ . O período de tempo decorrido entre a obtenção da amostra e a realização da reação de fixação do complemento quantitativa, conforme FREITAS & ALMEIDA<sup>16</sup> preconizaram, foi em geral de sete dias. Estabelecemos os títulos finais e as etapas de ordem técnica ficaram sempre a cargo do mesmo profissional (M.E.C.). Praticamos exames mensalmente, em número de cinco em 19 doentes, de quatro em outros quatro e de apenas três nos três restantes. Convém ressaltar que as determinações pertinentes aos 120 soros não sucederam simultaneamente, mesmo quando representativas de seqüência de um mesmo paciente. Concomitantemente à prova em apreço, efetuamos testes de imunofluorescência indireta, de hemaglutinação passiva e de fixação do complemento por outra técnica. Entretanto, nesta publicação não apresentamos os informes pertinentes a essas observações.

## RESULTADOS

No Quadro I é perceptível a ausência de uniformidade a propósito dos valores estabelecidos. As cifras concernentes e um doente configuram títulos muito discrepantes, bem exemplificados pelos casos n.ºs 2,4,7,18,22 e 26 e pelos n.ºs 1,2,6 e 25, que incluem negativedade

des. Além disso, vários soros mostraram-se anticomplementares.

Q U A D R O I

Comportamento evolutivo da reação de fixação do complemento quantitativa na fase crônica da doença de Chagas, sem influência de tratamento específico: resultados relativos a 26 pacientes e à execução da prova com soros obtidos mensalmente

Caso n.º	Reação				
	Primeira	Segunda	Terceira	Quarta	Quinta
1 — A.M.S.	8	N	AC	12	12
2 — A.G.	19	14	20	44	32
3 — A.F.A.	36	12	22		AC
4 — A.V.S.	8	19	23	27	53
5 — A.S.B.	18	36	AC	28	
6 — A.S.	N	N	3,5	AC	4
7 — D.A.C.	10	2,5	48	35	46
8 — D.R.	2,5	4	2	6	7
9 — E.G.C.	13	10	11	38	23
10 — F.L.F.	62	67	AC		
11 — G.P.F.	71	42	44	78	42
12 — G.V.C.	13	6	8	17	AC
13 — H.B.M.	16	14	12	AC	AC
14 — J.R.C.	27	26	33	43	37
15 — J.S.	4	4	9	8	11
16 — J.A.B.	15	21			19
17 — J.S.G.M.	4	4	4	3,5	5
18 — J.T.A.	8	44	45	36	16
19 — J.P.S.	23	26	AC	AC	27
20 — L.S.P.	AC	36	AC		
21 — M.M.M.S.	14	11	19	26	15
22 — M.L.L.	14	AC	47	AC	AC
23 — M.N.		18	14	25	46
24 — S.C.S.		25	25	30	56
25 — S.L.R.	4	2,5	N	2	5
26 — V.S.P.	13	5,5	10	18	23

N: negativa (não-reagente); AC: anticomplementar

DISCUSSÃO

A comprovação de inconstância dos títulos confirma deduções anteriores, que também assinalaram comportamento não uniforme<sup>20</sup>. Muitas são as justificativas, de caráter técnico, lembráveis quanto a esse acontecimento sorológico e elas devem ser analisadas, em seqüência, desde a colheita da amostra até o processamento da mesma. A manipulação excessiva durante a obtenção e no decurso de separação do soro, a par das condições de conservação deste, são etapas vulneráveis, capazes de comprometer tecnicamente a prova, mantendo inclusive coerência com a anticomplementaridade<sup>19</sup>. Por outro lado, a reação de fixação do complemento requer cuidados especiais, em ra-

zão da pouca estabilidade dos reagentes disponíveis, que habitualmente não exibem uniformidade, e da dificuldade de reprodutibilidade e de padronização entre uma "bateria" e outra<sup>3,4, 5,6,14,15</sup>. A essas limitações estão costumeiramente associados outros fatores comprometedores, como as deficiências materiais de laboratórios dotados de poucos recursos e a própria capacidade do técnico executante<sup>1,3,9,13</sup>.

Outro aspecto, destacável quando interferência nos resultados do teste é tema em foco, é a própria evolução da moléstia do ponto de vista imunológico. Existe a possibilidade da participação de imunocomplexos em certos períodos, determinando variações no teor de anticorpos, em eventos independentes da ação terapêutica e relacionados com surtos de parasitemia. A ação desse mecanismo poderia concorrer para alterações significativas na resposta humoral dos pacientes, justificando fatos de diversas ordens, exemplificadas pela presente verificação<sup>15</sup>.

Como conclusão fundamental de nossa investigação, informamos que existe variação espontânea dos resultados, indicados por títulos, da reação de fixação do complemento quantitativa. Essa ocorrência, certamente, prejudica a utilização do exame à avaliação da eficácia de agentes terapêuticos na fase crônica da doença de Chagas. O teste pode sofrer inadequada influência por parte de uma série de fatores de diferentes origens, configurando situação que torna necessária a adoção de apropriadas medidas para evitá-los. Se a instabilidade observada advém basicamente de problemas ligados à colheita, ao preparo do material ou a acontecimentos de natureza laboratorial as perspectivas para correção são mais otimistas; ao contrário, se derivar de condições inerentes à própria doença, cremos que satisfatória solução só muito dificilmente será conseguida.

S U M M A R Y

**Titer variations of quantitative complement fixation test in non-treated patients with chronic Chagas' disease**

From 26 patients with chronic Chagas' disease blood samples were monthly collected and submitted to a quantitative complement fixation test. A total of 120 samples were obtained and the tests carried out in the same laboratory by

ALMEIDA, J. W. R. de; CAMARGO, M. E. & AMATO NETO, V. — Comportamento evolutivo da reação de fixação do complemento quantitativa na fase crônica da doença de Chagas, sem influência de tratamento específico. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 22:78-81, 1980.

the same technician. There occurred evident titer variations between successive serum samples from the same patient. Causes are discussed of such variations which do not favor complement fixation test titers as an evaluation index for any therapeutic measure that might be tried.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J. O. & SIQUEIRA, A. P. — Estudo da discrepância relativa entre pares de reações simultâneas de fixação de complemento no sistema moléstia de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 2: 204-212, 1960.
2. BOAINAIN, E. — *Tratamento Etiológico da Doença de Chagas na Fase Crônica*. [Tese]. Fac. Med. Univ. Fed. Goiás, 1978.
3. CAMARGO, M. E. — Reacciones serológicas y consecuencias sociales de los resultados positivos a la enfermedad de Chagas. *Bol. Ofic. Sanit. Panamer.* 72: 576-582, 1972.
4. CAMARGO, M. E. — Sorologic diagnosis of Chagas' disease. *PAHO, International Symposium on New Approaches in American Trypanosomiasis Research*. Brasil, Belo Horizonte, 1975.
5. CAMARGO, M. E.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; MACEDO, V.; PERES, B. A. & CASTRO, C. — Diagnóstico sorológico da infecção humana pelo *Trypanosoma cruzi*. Estudo comparativo de testes de fixação do complemento, imunofluorescência, hemaglutinação e flocculação, em 3.624 soros. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 19: 254-260, 1977.
6. CAMARGO, M. E. & SHIMIZU, S. H. — Metodologia sorológica na infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. *Rev. Goiana Med.* 20: 47-65, 1974.
7. CANÇADO, J. R.; MARRA, U. D.; MOURÃO, O. G.; ALVARES, J. M.; OLIVEIRA, J. P. M.; MACHADO, J. R. & SALGADO, A. A. — Bases para a avaliação do tratamento específico da doença de Chagas humana segundo a parasitemia. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 7: 155-166, 1973.
8. CANÇADO, J. R.; SALGADO, A. A.; BATISTA, S. M. & CHIARI, C. — Segundo ensaio terapêutico com o Nifurtimox na doença de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 22: 203-233, 1976.
9. CERISOLA, J. A. — Valor del inmunodiagnóstico en la infección chagásica. In: *Simposio Internacional sobre Enfermedad de Chagas*. Buenos Aires, 1972.
10. CERISOLA, J. A.; ALVAREZ, M. & DE RISSIO, A. M. — Inmunodiagnóstico da doença de Chagas. Evolução sorológica de pacientes com doença de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 12: 403-411, 1970.
11. CERISOLA, J. A. & ROHWEDDER, R. — Comportamiento de la parasitemia y el inmunodiagnóstico de la infección chagásica crónica. In: *Simposio Internacional sobre Enfermedad de Chagas*. Buenos Aires, 1972.
12. CERISOLA, J. A.; ROHWEDDER, R. & PRADO, C. G. — Rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica humana utilizando ninfas de diferentes especies de triatomíneos. *Bol. Chil. Parasit.* 26: 57-58, 1971.
13. CERISOLA, J. A. & ROSENBAUM, M. B. — La reacción de fijación del complemento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. I. Técnica. *Prensa Méd. Argent.* 45: 1454-1463, 1958.
14. FREITAS, J. L. P. — Processos de laboratório para diagnóstico da moléstia de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 4: 135-147, 1958.
15. FREITAS, J. L. P. — Aspectos sorológicos na padronização dos métodos para avaliação dos efeitos da terapêutica na doença de Chagas. *Rev. Goiana Med.* 9 (Supl.): 181-195, 1963.
16. FREITAS, J. L. P. & ALMEIDA, J. O. — Nova técnica de fixação do complemento para moléstia de Chagas (reação quantitativa com antígeno gelificado de culturas de *Trypanosoma cruzi*). *Hospital (Rio)* 35: 787-800, 1963.
17. FREITAS, J. L. P. & AMATO NETO, V. — Avaliação dos resultados da terapêutica. *Rev. Goiana Med.* 9 (Supl.): 299-300, 1963.
18. PIFANO, F. C. — El diagnóstico parasitológico de la enfermedad de Chagas en fase crónica. Estudio comparativo entre la gota gruesa, el xenodiagnóstico, el hemocultivo y las inoculaciones experimentales en animales sensibles. *Arch. Venez. Pat. Trop.* 2: 121-156, 1954.
19. PRATA, A.; MAYRINK, W.; SODRÉ, A. G. & ALMEIDA, J. O. — Discrepâncias relativas entre resultados de reações de Guerreiro-Machado executadas em três diferentes laboratórios. *Rev. Pat. Trop.* 4: 35-38, 1975.
20. RASSI, A.; AMATO NETO, V. & SIQUEIRA, A. F. — Comportamento evolutivo da reação de fixação do complemento na fase crônica da moléstia de Chagas. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11: 430-435, 1969.
21. SALGADO, A. A. — Consideraciones sobre metodología y sensibilidad del xenodiagnóstico. *Bol. Chil. Parasit.* 24: 9-13, 1969.
22. SCHENONE, H.; ALFARO, E.; REYES, H. & TAUCHER, E. — Valor del xenodiagnóstico en la infección chagásica crónica. *Bol. Chil. Parasit.* 23: 149-154, 1968.
23. SCHENONE, H.; ALFARO, E. & ROJAS, A. — Bases y rendimiento del xenodiagnóstico en la infección chagásica humana. *Bol. Chil. Parasit.* 29: 24-26, 1974.
24. SCHENONE, H.; CONCHA, L.; ARANDA, R.; ROJAS, A. & ALFARO, E. — Experiencia terapéutica con el Bay 2502 en la infección chagásica crónica del adulto. Importancia del uso adecuado del xenodiagnóstico. *Bol. Chil. Parasit.* 24: 66-69, 1969.
25. SOTO, U. R. & SOTO, S. T. — Valor del xenodiagnóstico en la fase crónica de la enfermedad de Chagas. *Rev. Fac. Med. (Maracaibo)* 1: 23-30, 1968.

Recebido para publicação em 18/6/1979.