

PERFUSÃO DE CADÁVERES PARA RECUPERAÇÃO DE SCHISTOSOMA MANSONI (*)

Allen W. Cheever (**)

É apresentada uma técnica para perfusão de cadáveres para recuperação de S. mansoni. Geralmente os casos de fibrose de Symmers apresentaram muito mais vermes do que os casos assintomáticos, mas em material de autópsias no hospital, existem problemas de difícil interpretação, devido à seleção dos casos, os casos de fibrose de Symmers procedendo principalmente do interior e os casos com infecções assintomáticas, da cidade. Nos casos sem fibrose de Symmers, o número dos ovos no fígado e nas fezes foi muito variável, mas, na média, correspondeu à intensidade da infecção.

A contagem dos ovos nas fezes de pacientes dá uma idéia da intensidade da infecção esquistossomótica (6, 2, 5, 7), mas não se conhecem as cifras exatas sobre a carga de vermes em pessoas infectadas. A perfusão de cadáveres é simples, embora seja trabalhosa, e quando cuidadosamente feita é capaz de dar resultados que merecem confiança. Queremos apresentar neste trabalho a técnica e os resultados preliminares.

TÉCNICA

O tempo post-mortem e a presença de coágulos post-mortem não são fatores importantes. A perfusão é feita da maneira seguinte:

1. As vísceras são retiradas **em bloco** pelo método de Rokitansky.
 - a. O reto e o esôfago são ligados para evitar contaminação do campo.
 - b. Liga-se a veia cava inferior acima do diafragma e coloca-se uma cânula na veia cava inferior, acima das veias renais.
 - c. Rebate-se o esôfago e cortam-se a aorta e a veia cava acima do diafragma.
2. Colocam-se os órgãos abdominais numa mesinha (mais ou menos 70 por 70 cms) de dissecação com uma drenagem central, a qual está ligada a um tubo coletor.
3. Tira-se um fragmento em cunha do fígado.

4. Abre-se a veia porta e liga-se a bomba, com a cânula na veia cava. Perfunde-se o fígado com mais ou menos 10 litros de solução salina com uma média de 3-4 litros por minuto. As vísceras são lavadas antes de começar a perfusão mesentérica para tirar os vermes.

5. Perfusão das veias mesentéricas.

A perfusão das artérias mesentéricas deverá ser evitada. Muito embora este seja o meio lógico para tirar os vermes das veias mesentéricas (1), não deu resultado, tendo produzido grande edema dos intestinos, geralmente sem uma emergência boa nas veias. Mesmo quando o fluxo foi bom, muitos vermes ficaram retidos nas veias da submucosa intestinal. Por isso, foi preciso perfundir as veias mesentéricas no sentido inverso ao da corrente.

O intestino delgado é separado do mesentério rente à parede intestinal. Depois de colocar uma pinça no ramo que sai para os cólons, perfunde-se a veia mesentérica superior ao tempo em que se faz massagem do mesentério para tirar coágulos e vermes. Depois, é útil perfundir os ramos individualmente.

O mesmo se faz com o intestino grosso, pegando a veia mesentérica inferior perto da junção da veia esplênica com a veia mesentérica superior. É preciso que se perfunda a veia mesentérica inferior mais de uma vez, porque esta veia é comprida e as colaterais curtas e grossas. Depois de abrir uns 6 centímetros do vaso, recoloca-se a cânula e perfunde-se de novo, e assim por diante.

(*) Trabalho apresentado ao I Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, Juiz de Fora, 1965.

(**) Laboratory of Parasitic Diseases, National Institute of Health; Serviço de Anatomia Patológica, Hospital Professor Edgard Santos, Salvador-Bahia (Bolsista da Eleanor Roosevelt Cancer Foundation).

6. Lavagem dos intestinos.

Antes de abrir os intestinos, êles são lavados em água para tirar os vermes das veias perto à linha de ressecção. Abre-se o intestino, retira-se material para microscopia e põe-se num litro de água com 3 mls. de fenol. Assim o intestino pode ficar 1-2 dias à temperatura ambiente ou uma semana na geladeira.

7. Exame do intestino.

Os vermes não podem ser vistos através da mucosa. É preciso que se separem a mucosa e submucosa. Isto se faz com dissecação com tesoura, facilitada pela injeção de água na submucosa, usando-se uma agulha ligada com a bomba de perfusão. Muitos dos vermes saem na água, que deve ser guardada e examinada.

A parede muscular e a mucosa são examinadas com um microscópio de dissecação, o tecido sendo esmagado entre uma lâmina de vidro e o vidro da platina do microscópio.

8. Exame dos líquidos.

Os vermes são separados por sedimentação. O líquido sobrenadante é passado através de uma tela (abertura 0,8 mm) antes de ser jogado fora, para captar vermes que às vezes ficam sobrenadantes. Examina-se a tela mergulhada em água numa grande placa de Petri. Se tiver coágulos ou trombos, êles são examinados esmagados entre lâminas.

9. Instrumental.

Temos usado principalmente uma bomba de embalsamamento (Model PE, The Turner Company, Cedar Rapids, Iowa, U.S.A.), mas pode-se também usar um frasco de vidro ou plástico (7-10 litros) com abertura no fundo, usando para pressão uma bomba de ar colocada na boca do frasco. Pode-se usar água diretamente da torneira, se não fôr preciso perfundir com solução salina. Usamos salina para melhor conservar o fígado para estudo microscópico.

O restante do instrumental (tubagem, pinças, etc.) é fácil conseguir. Se não houver uma mesinha de autópsia, os órgãos podem ser perfundidos numa bacia grande.

10. Contagem dos ovos.

A contagem dos ovos no fígado é feita após 6-12 horas de digestão em hidróxido de po-

tássio a 4%, 37°C. A digestão prolongada dissolve também os ovos (3).

As fezes são conservadas em formol, trituradas um minuto num liquidificador, diluídas a uma concentração de 5-20 mg por mil e contadas numa câmara de Sedgwick-Rafter (A.H. Thomas e Co., Philadelphia, Pa., U.S.A.). As tentativas para concentrar os ovos por sedimentação, nestas fezes fixadas, resultou freqüentemente numa grande perda de ovos.

11. Tempo necessário.

Meia hora para fazer a perfusão e uma hora e meia para sedimentar e contar os vermes. A separação da mucosa e submucosa do intestino leva 5 horas, mas pode ser feita inclusive por um técnico inexperiente. Os exames dos intestinos são feitos em uma hora e meia.

RESULTADOS

O número dos vermes encontrados nas várias etapas da perfusão foi bem variável (Tabela 1).

A grande maioria dos casos se enquadra nos grupos seguintes:

- A. Fibrose de Symmers com muitos vermes (provavelmente não tratados). Nestes casos foram encontrados entre 172 e 312 pares de vermes.
- B. Fibrose de Symmers com poucos vermes (alguns dêles tratados, alguns talvez não).
- C. Infecção aparentemente assintomática.
- D. Um menino de 4 anos de idade teve uma infecção recente (não da forma tóxica), e colite ulcerativa esquistossomótica.

Os resultados estão apresentados na Tabela 2, os casos assintomáticos sendo subdivididos pela intensidade da infecção. O número dos vermes machos e fêmeas foi quase igual. Achou-se grande variação do número dos ovos no fígado e nas fezes em casos com cargas de vermes idênticas.

DISCUSSÃO

Não acreditamos que todos os vermes sejam realmente contados nestas perfusões, mas pelo menos quase todos. Nos cinco casos em que não constatamos a presença de

pares de vermes, foram achados só ovos in-yiáveis nos esmagados da mucosa intestinal e as fezes foram sempre negativas. O número dos ovos no fígado e nas fezes em relação aos pares de vermes permanece razoavelmente constante nos casos com poucos vermes, onde podia se esperar mais variação, caso houvesse falha na recuperação de alguns vermes.

No momento, somos incapazes de dar uma interpretação definitiva aos achados. Metade dos casos com fibrose de Symmers (Symmers-A) teve uma carga grande de vermes e os outros (Symmers-B), com cargas menores, podem ter sido tratados ou «curados» espontaneamente. Por outro lado, só 4 dos 50 casos assintomáticos tiveram tantos vermes como os casos de Symmers-A. Mas, se os casos de fibrose de Symmers vêm dos focos hiperendêmicos do interior (por causa de esplenomegalia ou hematêmese) e os casos assintomáticos são provenientes predominantemente da cidade, onde há pou-

ca transmissão, seria natural que os casos de Symmers tivessem mais vermes.

Assim, estes dados não mostram definitivamente que os casos de fibrose de Symmers estão mais intensamente infectados do que os outros no mesmo foco endêmico. Só pode ser dito que, de modo geral, os casos de fibrose de Symmers tiveram uma carga grande de vermes e que alguns casos assintomáticos acham-se com uma carga igual, sem lesões macroscópicas. Outros fatores, como uma diferença na duração da doença ou uma diferença de qualquer origem na reatividade individual, poderiam estar em jôgo.

Outro dado de interesse é a uniformidade da infecção nos casos do grupo Symmers-A. Embora os casos sejam poucos, eles sugerem um delicado equilíbrio entre o homem e o esquistossoma, devido talvez a uma resistência a novas infecções ou a uma capacidade de eliminar os vermes acima de um certo limite, como foi descrito por Fairley na cabra infectada com *S. spindale* (4).

TABELA I

Número dos vermes encontrados nas etapas da técnica

| Diagnóstico | Número de vermes | | | | |
|--------------------|------------------|------------------------|-------|----------------------|-------|
| | Perfusão | Lavagem dos intestinos | Teias | Submucosa intestinal | Total |
| Fibrose de Symmers | 387 | 140 | 1 | 96 | 624 |
| Fibrose de Symmers | 128 | 4 | 3 | 368 | 503 |
| Assintomático | 136 | 59 | 28 | 28 | 251 |
| Assintomático | 74 | 6 | 2 | 7 | 89 |
| Assintomático | 362 | 83 | 3 | 130 | 578 |
| Assintomático | 0 | 1 | 0 | 3 | 4 |
| Assintomático | 6 | 2 | 1 | 12 | 21 |

TABELA 2
Sumário dos achados em 65 casos perfundidos

| Grupo | Pares de vermes | Nº dos casos | Pares de vermes (média) | Ovos por grama do fígado (média) | Ovos por grama das fezes (média) |
|--|-----------------|--------------|-------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| A Fibrose de Symmers com muitos vermes | 172-312 | 6 | 238 | 1484 | 459 |
| B Fibrose de Symmers com poucos vermes | 0- 62 | 6 | 13 | 12 | 70 |
| C Infecção aparentemente assintomática | 0 | 5 | 0 | 6 | 0 |
| | 1- 5 | 10 | 2.3 | 16 | 22 |
| | 6-10 | 12 | 7.7 | 23 | 112 |
| | 11-20 | 7 | 15.6 | 77 | 282 |
| | 21-40 | 6 | 26.8 | 63 | 328 |
| | 41-80 | 8 | 58.5 | 192 | 221 |
| | 80+ | 4 | 218.0 | 466 | 2390 |
| D Infecção recente | 1608 | 1 | 1608 | 973 | 2000 |

S U M M A R Y

The author presents a perfusion technique to recover *S. mansoni* worms from corpses. Cases of fibrosis of Symmers showed greater number of worms than asymptomatic ones. However, hospital post-mortem examinations were difficult to evaluate as cases of Symmers fibrosis came chiefly from the hinterland and asymptomatic cases proceeded from city. The worm burden in cases without Symmers fibrosis was variable but always related to the intensity of infection.

BIBLIOGRAFIA

1. **BECK, J. W. and GARRET, F. D.** A preliminary report on a perfusion technique for recovering schistosomes at time of autopsy. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 6: 914-919, 1957
2. **BELL, D. R.** TWSb in *Schistosoma mansoni* infections: a quantitative evaluation. *Ann. Trop. Med. Parasit.* 58: 219-223, 1964
3. **CHEEVER, A.W. and WARREN, K.S.** Hepatic blood flow in mice with acute hepato-splenic schistosomiasis mansoni. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 58: 406-412, 1964
4. **FAIRLEY, N.H. and MACKIE, F.P.** in *Studies in Schistosoma spindale*. Part III. The experimental pathology in the goat with special reference to verminous phlebitis. *Indian Med. Res. Mem.* 17: 17-30, 1930
5. **KLOETZEL, K.** Some quantitative aspects of diagnosis and epidemiology in schistosomiasis mansoni. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 12: 334-337, 1963
6. **SCOTT, J.A.** The regularity of egg output of helminth infestations, with special reference to *Schistosoma mansoni*. *Amer. J. Hyg.* 27: 155-175, 1938
7. **SCOTT, J.A.** La epidemiologia de la schistosomiasis en Venezuela. *R. San. Asist. Soc.* 7: 771-809, 1942.