

ESTUDO COMPARATIVO DOS MÉTODOS DE LUTZ, KATO E SIMÕES BARBOSA NO DIAGNÓSTICO COPROLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI *

J. Rodrigues Coura e Maria José Conceição

Com assistência técnica da Sra.
Maria de Lourdes Carvalho.

Um estudo comparativo do método de sedimentação de Lutz (Hoffman-Pons e Janer) e dos métodos quantitativos de Simões Barbosa (FSB) e de Kato para o diagnóstico e contagem de ovos de S. mansoni, em uma amostra de fezes de 211 pessoas residentes em uma área endêmica para esquistossomose, revelou: 1) positividade de 50% com os métodos de Lutz e Simões Barbosa, e de 58,1% com o método de Kato para o total de amostras; 2) maior concentração de ovos pelo método de Kato em relação ao de F.S.B.; 3) o método de Kato modificado por Katz & cols se impõe para o diagnóstico "quantitativo" da esquistossomose em inquérito de campo pela maior sensibilidade, facilidade de execução, baixo custo, possibilidade de conservação dos ovos de S. mansoni por longos períodos e por permitir ao investigador uma noção aproximada da intensidade da infecção no indivíduo e na população.

INTRODUÇÃO

Os chamados métodos de concentração para o diagnóstico coprológico da esquistossomose, como o de sedimentação descrito por Lutz em 1919 (18) e "redescoberto" por Hoffman, Pons e Janer em 1934 (10), bem como a adaptação do método de Stoll (23), o método de Blagg e cols (2) e mais recentemente o método quantitativo de Bell (1), têm sofrido críticas, ora por sua complexidade de execução, outras vezes por não concentrarem devidamente os ovos de *S. mansoni*, como esperado. Alguns estudos como os de Faust e cols (8), Amílcar Martins (20), Kato e Miura (12), Maldonado e cols (19), Brenner e cols (4), Ferreira (9), Katz e Chaia (13) e vários outros, avaliaram a eficácia desses métodos e fizeram comparação entre eles. Em 1960 Kato (11) divulgou uma

nova técnica quantitativa avaliada em 1966 por Komiya e Kobayashi (16) cujos resultados parecem superiores às demais, conforme comprovação de Chaia e cols (6), Martin e Beaver (21) e experimentalmente por Katz e cols (15), embora Dantas e Ferreira (7), usando uma pequena amostra, tenham encontrado resultados discordantes. Algumas modificações desta técnica foram propostas por Layrisse e cols (17), Borda e Pellegrino (3) e Katz e cols (14) entre outros, visando simplificá-la para maior facilidade de execução. Em 1969 Simões Barbosa (22) desenvolveu uma nova técnica quantitativa simplificada, aproveitando o método de sedimentação de Lutz.

Diante da recomendação da Organização Mundial de Saúde sobre a necessidade da utilização de métodos quantitativos nos inquéritos epidemiológicos sobre esquistosso-

* Trabalho do Departamento de Medicina Preventiva da Faculdade de Medicina da Universidade Federal do Rio de Janeiro, realizado com auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas e do Conselho de Pesquisa e Ensino para Graduados da U.F.R.J.

mose (23), aproveitamos a oportunidade de uma investigação dessa natureza nos trabalhos que realizamos no Município de Itanhomi (Minas Gerais) para comparar o método de sedimentação de Lutz (18) com os métodos quantitativos de Kato (14) e Simões Barbosa (22), uma vez que restavam dúvidas quanto a sensibilidade e facilidade de aplicação desses métodos em campo.

MATERIAL E MÉTODOS

O inquérito foi realizado no povoado de Santa Luzia do Carneiro, Município de Itanhomi, no Vale do Rio Doce, em Minas Gerais.

Foram obtidas amostras de fezes de 220 pessoas dos 243 residentes no povoado na ocasião do inquérito. Das 220 amostras examinadas pelo método de sedimentação de Lutz, 211 foram submetidas ao exame quantitativo pelo método de Frederico Simões Barbosa (FSB) e pelo método de Kato, respectivamente. Do total das amostras obtidas (220), em nove o material não foi suficiente ou adequado para os métodos quantitativos, portanto o presente estudo baseia-se na análise comparativa das 211 amostras de fezes examinadas concomitantemente pelos 3 métodos. Para cada método foram examinadas 2 lâminas do mesmo material preparado com as seguintes técnicas:

a) Método de Lutz (18)

Aproximadamente 2g de fezes era colocadas em um frasco de Borrel e diluídas em cerca de 50 ml de água, deixando-se o material em repouso por 15 a 20 minutos. Com um bastão de vidro emulsionava-se as fezes e filtrava-se a suspensão em gaze para um cálice cônico de 100 ml de capacidade. A emulsão de fezes era deixada em repouso durante uma a uma hora e meia; findo esse tempo decantava-se o sobrenadante. Com uma pipeta retirava-se aproximadamente 0,1 ml. de sedimento, sendo colocada em lâmina, coberto com laminula de 24 x 32 mm e examinado.

b) Método de Simões Barbosa (22)

5g de fezes eram diluídas em água e completado o seu volume até 50 ml em proveta graduada; a emulsão era filtrada em tela metálica de 45 malhas por polegada

da e deixada em repouso para sedimentar durante uma hora. Após esse prazo decantava-se o material verificando-se na proveta o volume do sedimento. Agitava-se o material e colhia-se com pipeta uma amostra de 0,1 ml que era colocada em lâmina, coberto com laminula de 24 x 32 e examinado ao microscópio, contando-se os ovos de *S. mansoni*. Para obter o número de ovos por grama de fezes aplicava-se a fórmula:

$$\text{N.º de ovos por lâmina} \times \text{volume do sedimento} / \text{Volume examinado} \times \text{peso da amostra de fezes}$$

c) Método de Kato (modificado por Katz e cols (14))

Utilizou-se um papelão de 1,37 mm de espessura tendo um orifício de 6 mm de diâmetro no centro. Colocando o cartão sobre uma lâmina de microscópio enchia-se o orifício com fezes por meio de um palito de madeira, após passá-las em tela metálica de 105 malhas por polegada quadrada. As fezes eram então cobertas com papel celofane com as dimensões de um laminula de 32 x 24 mm embebido em uma solução de verde de malaquita a 3% diluída em partes iguais de glicerina e água, de modo a dar a concentração final de 1% da substância; após ser distribuído uniformemente por pressão digital sobre o celofane, o material era examinado ao microscópio e feita a contagem de ovos de *S. mansoni*. Considerando-se que 43,7 mg representa o peso médio da amostra que preenchia o furo do cartão, o número de ovos por grama de fezes era calculado pela fórmula:

$$\text{N.º de ovos por lâmina} \times 100 \text{ mg} / 43,7 \text{ mg}$$
 o que equivale a n.º de ovos por lâmina x 23.

O índice de "ovos per capita" foi determinado pelo cálculo da mediana do número de ovos de todos os espécimens em cada grupo etário considerado e no total da amostra. Para a medida de dispersão empregou-se o cálculo do desvio padrão através da fórmula
$$\text{D.P.} = \sqrt{\frac{\sum d^2}{n}}$$

(desvio padrão igual à raiz quadrada do somatório dos desvios da média aritmética ao quadrado, dividido pelo número de observações).

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Verificou-se que a positividade para ovos de *S. mansoni* pelo método de sedimentação de Lutz foi de 50% na população considerada com apenas um exame de fezes (2 lâminas). O percentual de positividade pelo método F.S.B. foi também de 50%, enquanto que pelo método de Kato a prevalência elevou-se a 58,1% (Tabela I).

Através dos 3 métodos observou-se elevação progressiva da positividade para ovos de *S. mansoni* nos grupos etários, alcançando níveis mais elevados nos grupos de 11 a 15 anos (88,2% pelos métodos de Lutz e F.S.B. e 93,2% pelo método de Kato) e de 16 a 20 anos (76,9%, 83,2% e 81,7% respectivamente pelos métodos de Lutz, FSB e Kato).

Nos grupos de maior idade houve redução acentuada da positividade para os ovos de *S. mansoni* nas fezes pelos 3 métodos, redução esta menos acentuada no grupo de 31 a 40 anos.

Em relação aos métodos quantitativos (F.S.B. e Kato) verificou-se uma maior concentração de ovos pelos métodos de Kato, bem como maior índice de positividade. O índice de "ovos *per capita*" avaliado pela mediana na população total examinada foi de 15 pelo método de F.S.B. e de 200 pelo método de Kato (Tabela II). O desvio padrão foi igual a 5 para o método de F.S.B. e 33 para o método de Kato.

Embora saibamos que a avaliação do "percentual" de ovos por grama de fezes seja uma medida relativa devido ao pequeno volume que pode ser examinado em relação ao total de fezes eliminadas e ainda pela variação individual diária na eliminação de ovos de *S. mansoni*, acreditamos que o "estudo quantitativo" seja válido quando analisado para um determinado grupo de indivíduos em estudo. Quanto aos métodos aqui empregados, pareceu-nos que o método de Kato mostrou maior sensibilidade e facilidade de execução, embora com maior dispersão no seu desvio padrão.

CONCLUSÕES

Não houve diferença de sensibilidade (positividade) entre os métodos de Lutz e Frederico Simões Barbosa, porém essa diferença foi nítida em relação ao método de Kato que apresentou maior positividade que os demais em quase todos os grupos etários estudados. A superioridade do método de Kato foi verificada no total da população, alcançando 58,1% de positividade contra 50% para os métodos de Lutz e F.S.B.

Apesar do emprego de 5g de fezes pela técnica de F.S.B. e de apenas $43,7 \pm 3,8$ mg pela técnica de Kato modificada esta última mostrou maior sensibilidade; contudo, através do estudo do desvio padrão verificou-se uma maior dispersão no Kato do que no F.S.B.

TABELA I — Comparação entre os métodos de Lutz, F.S.B. e Kato no diagnóstico coprológico da esquistossomose mansoni.

Grupos etários (anos)	Número de Amostras	Métodos e % de Positividade		
		Lutz	F.S.B.	Kato
0 — 5	56	20 %	21,4 %	24,2 %
6 — 10	40	65 %	72,2 %	75,0 %
11 — 15	17	88,2 %	88,2 %	93,2 %
16 — 20	11	76,9 %	83,2 %	81,7 %
21 — 30	31	45,4 %	40,0 %	54,1 %
31 — 40	19	68,1 %	71,4 %	73,6 %
41 — 50	13	46,1 %	46,1 %	45,0 %
+ 50	24	44,4 %	44,4 %	50,0 %
Prevalência na população	211	50,0 %	50,0 %	58,1 %

TABELA II — Correlação entre o número de ovos “per capita” obtido com os métodos de F.S.B. e Kato.

Gupos etários (anos)	Número de amostras	Métodos e número de “ovos per capita”	
		F.S.B.	Kato
0 — 5	56	13	140
6 — 10	40	24	240
11 — 15	17	16	225
16 — 20	11	14	200
21 — 30	31	16	196
31 — 40	19	15	200
41 — 50	13	12	115
+ 50	24	16	161
Todas as idades	211	15	200

Embora persista o problema da determinação precisa do número de ovos eliminados nas fezes devido a tão conhecida variação nas contagens sucessivas no mesmo indivíduo, é provável que em inquéritos populacionais o método de Kato modificado se imponha para o diagnóstico “quantitativo” da esquistossomose mansoni pelas seguintes razões:

- 1) Maior sensibilidade.
- 2) Maior facilidade de execução, dispensando balança de precisão, cálice graduado, etc.
- 3) Pelo baixo custo.
- 4) Por permitir a conservação dos ovos de *S. mansoni* até 4 meses, possibilitando

o exame das lâminas fora da área, em laboratório com técnicos mais bem treinados.

- 5) Finalmente por permitir ao investigador uma noção aproximada da intensidade da infecção no indivíduo e na população examinada.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com a assistência técnica da Sra. Maria de Lourdes Carvalho (técnica de laboratório) e do Sr. Mozar José Coelho, motorista e “técnico de campo” cuja inestimável colaboração agradecemos.

SUMMARY

A comparative study of Lutz sedimentation technique, Kato thick-smear and Simões Barbosa techniques for S. mansoni egg counting in 211 stools samples, have shown: 1) A positivity of 50% with Lutz sedimentation and Simões Barbosa techniques against 58,1% with Kato thick-smear technique. 2) The Kato thick-smear showed a greater number of eggs compared with Simões Barbosa technique. 3) Finally, a higher sensitivity, simplicity and lower cost of Kato thick-smear technique and its possibility to preserve the S. mansoni eggs for more than 4 months have shown an advantage for this method.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BELL, D. R. — A new method for counting *Schistosoma mansoni* aggs in feces with special reference to therapeutic trials. Bull World Health Org. Geneva 525-30, 1963.
2. BLAGG, W., SCHOEGEL, E. L., MANSOUR N. S. & KNALAF, G. I. — A new concentration technic for the demonstration of Protozoa and Helminth eggs in feces. Amer. J. Trop Med. & Hyg. 4: 23-28, 1955.
3. BORDA, C. E. & PELLEGRINO, J. — An improved stool thick-smear technique for quantitative diagnosis *Schistosoma mansoni* infection. Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo 13: 71-75, 1971
4. BRENER, Z. & CHIARI, E. — Considerações sobre o diagnóstico da Esquistossomose mansônica pela exame coprológico com o método de Hoffman, Pons e Janer. Rev. Brasil. Malariol. Doen. Trop 8: 599-603, 1956.
5. BRENER, Z., PELLEGRINO, J. & CHIARI, E. — Valor do método de Hoffman, Pons e Janer no diagnóstico da Esquistossomose mansônica. Rev. Brasil. Malariol. Doen. Trop. 9: 497-500, 1957.
6. CHAIA, G., CHAIA, A. B. Q., MCAULIFE, J., KATZ, N. & GASPER, D. — Coprological diagnosis of Schistosomiasis. II — Comparative study of quantitative methods. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 10: 349-353, 1968.
7. DANTAS, A. M. P. & FERREIRA, L. F. — Sobre o método de Kato no diagnóstico da Esquistossomose mansoni. Rev. Soc. Bras. Med. Trop. 7: 209-212, 1973.
8. FAUST, E. C., SAWITZ, W. TOBIE, J., ODOM, V., PERES, C. & LINCIONE, D. R. — Comparative efficiency of various technics for the diagnosis of Protozoa and helminths in feces. J. Parasitol. 25: 241-262, 1939.
9. FERREIRA, L. F. — O exame parasitológico das fezes. Estudo comparativo das principais técnicas. O Hospital, 70: 347-368, 1966.
10. HOFFMAN, W. A., PONS, J. A., JANER, J. L. — Sedimentation concentration method in Schistosomiasis mansoni. Puerto Rico J. Publ. Health & Trop. Med. 9: 283-298, 1934.
11. KATO, K. — A correct application of the thick-smear technique with cellophanepaper cover. A pamphlet 9 p.p. (In Japanese), 1960.
12. KATO, K. & MIURA, M. — Comparative examinations Jap. J. Parasitol, 3: 35, 1954.
13. KATZ, N. & CHAIA, G. — Coprological Diagnosis of schistosomiasis. I. Evaluation of quantitative. Inst. Med. Trop. S. Paulo 10: 295-298, 1968.
14. KATZ, N., CHAVES, A. & PELLEGRINO, J. — A simple device for quantitative stool thick-smear technique in *S. mansoni*. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 14: 397-400, 1972.
15. KATZ, N., COELHO, P. M. Z. & PELLEGRINO, J. — Evaluation of Kato's quantitative method through the recovery of *S. mansoni*. The J. of Parasitology, 56: 1032-3, 1970.
16. KOMIYA, Y. & KOBAYASHI, A. — Evaluation of Kato's thick-smear technique with cellophane cover for helminth eggs in feces. Japan J. Med. Sci. Biol. 19: 59-64, 1966
17. LAYRISSE, M., MARTINEZ, C. T. & FERRER, H. F. — A simple volumetric device for preparing stool examples by the cellophane thick-smear technifus. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 18: 553-A, 1969.
18. LUTZ, A. — O Schistosomum mansoni e a schistomatose segundo observações feitas no Brasil. Mem. Inst. Osw. Cruz, 11: 121-144, 1919.
19. MALDONADO, J. F., ACOSTA-MATIENZO, J. & VÉLEZ-HERRERA, F. — Comparative value of fecal examination procedure in the diagnosis of Helminth infections. Exper. Parasitol., 2: 294-310, 1953.
20. MARTINS, A. V. — Diagnóstico de Laboratório da Esquistossomose mansoni Tese, 265 págs, Faculdade de Medicina da UFMG, 1949.
21. MARTIN, L. K. & BEAVER, P. C. — Evaluation of Kato thick-smear technique for diagnosis of Helminth infections. Amer. J. Trop. Med. & Hyg. 17: 382-391, 1968.

-
22. SIMÕES BARBOSA, F. A. — A method for counting *Schistosoma* Eggs in Feces. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 11: 442-443, 1969.
23. STOLL, N. R. & HAUSHEER, W. C. —
24. WHO, Tech. Rep. Ser. n.º 317, 1966.
- Concerning two options in dilutions eggs counting small drop and displacement. *Amer. J. Hyg. (Suppl.)*, 6: 134-145, 1926.