

# Estudo comparado entre dois métodos de prospecção em massa dos tripanosomados por *T. b. gambiense*: Método clássico-hemolinfático e o serológico. (Hemaglutinação indirecta)

ROSARIO PINTO (\*)

## 1 — JUSTIFICAÇÃO

1.1 — O recrudescimento de focos de tripanosomiase humana por *T. b. gambiense* nas províncias do Zaire, Uíge e Luanda a partir de 1975 motivado pelo regresso intempestivo dos refugiados angolanos parte dos quais eram portadores da doença do sono e que desde 1961 se encontravam na vizinha República do Zaire, e a nossa dificuldade em fazer face à situação criada devido a factores humanos e materiais, levou-nos a partir de 1977 à procura de soluções viáveis.

1.2 — A experiência angolana iniciada em 1949 conta com cerca de três décadas. Ela foi executada à custa da intensa participação humana e material e foi essencialmente prática e eficaz.

1.3 — O método clássico consistiu no despiste dos doentes do sono por meio de sistemáticos exames laboratoriais ao microscópio para a pesquisa de tripanosomas, dos sucos ganglionares a fresco de todas as adenopatias cervicais puncionáveis e o exame de sangue (gota espessa corada a Giemsa) de toda a população das zonas endémicas. Seguidamente era feita a quimio-profilaxia por Pentamidina.

A tarefa primordial era a identificação dos doentes. Tanto a prospecção como a quimioprofilaxia eram semestrais.

1.4 — De 1949 a 1965 tinham sido feitas cerca de 6 milhões de injeções profiláticas de Pentamidina, à custa do trabalho insano, da dedicação sem limites, do sofrimento, da incomodidade de algumas dezenas de médicos, enfermeiros, agentes sanitários, microscopistas e serventes.

1.5 — O resultado desta campanha foi espectacular. Em 1974 existiam apenas 43 doentes antigos em vias de cura e foram diagnosticados 3 casos novos vindos do exterior. Em Angola, o vírus circulante era praticamente zero.

MAPA 1

Casos novos da doença do sono

| Províncias    | Anos |      |      |      |      |       |
|---------------|------|------|------|------|------|-------|
|               | 1974 | 1975 | 1976 | 1977 | 1978 | Total |
| Zaire .. ...  | —    | 7    | 1    | 30   | 266  | 304   |
| Uíge .. ...   | 1    | 119  | 69   | 74   | 61   | 324   |
| Luanda .. ... | 2    | —    | 13   | 9    | 10   | 34    |
| Total .. ...  | 3    | 126  | 83   | 113  | 337  | 662   |

1.6 — Da leitura do Mapa I é possível verificar o recrudescimento da doença no norte do país, a partir de 1974.

O número total será provavelmente muito mais elevado. Devido a dificuldades de vária

(\*) Departamento de Epidemiologia, Ministério da Saúde — Luanda.

ordem, só uma pequena parte da população foi prospectada.

1.7 — Este aumento progressivo de casos da doença do sono, a nossa dificuldade em fazer face à situação por factores humanos e materiais, o aparecimento de casos de resistência à Pentamida e ao Arsobal, nos alertou cada vez mais para a gravidade da situação.

Haveria que encontrar outros processos mais viáveis, outros métodos mais eficazes para a solução dos nossos problemas.

O apoio concedido pela OMS para o treino nos seus laboratórios de referência para o estudo da técnica de Immunofluorescência, foi uma solução oportuna.

1.8 — No nosso relatório da Missão de Combate às Tripanosomíases, referente ao ano de 1977 sugerimos que, a par do método tradicional, convinha estudar outro método que, sem os prejuízos do primeiro e sem quebra do rendimento e de eficácia, possa vir a substituí-lo.

## 2 — ESTE MÉTODO É O SEROLÓGICO

2.1 — No método tradicional, todo o diagnóstico está dependente da capacidade humana e da motivação do técnico microscopista. Se este coeficiente falha, todo o processo está votado ao fracasso.

2.2 — Além disso, o método tradicional não consegue detectar mais do 40 a 50 % dos doentes do sono, e isto porque:

2.2.1 — Nem todos os doentes apresentam adenites cervicais punccionáveis.

2.2.2 — Nem todos os sucros pesquisados apresentam tripanosomas.

2.2.3 — Nem sempre o tripanosoma se apresenta no sangue circulante.

2.2.4 — Às vezes a parasitemia é tão fraca que o parasita pode não ser detectado na lâmina colhida.

2.3 — O método serológico, «Cellognost-Tripanosomíases», agora ao nosso dispor, é uma recente criação do Laboratório Behringwerke e está baseado nos *eritrocitos sensibilizados que aglutinarão na presença dos soros positivos*. O reagente serve para o diagnóstico qualitativo e semiquantitativo.

2.3.1 — Este processo é similar e está na sequência de outros testes já utilizados desde há algum tempo para Amebíase, doença de Chagas e Shistosomíase.

## 3 — DESCRIÇÃO SUMÁRIA DO REAGENTE: «CELLOGNOST-TRIPANOSOMÍASES»

3.1 — Cada «Kit» contém:

- 1) Eritrocitos sensibilizados, liofilizados para 5 ml.
- 2) Soro controle, positivo e negativo.
- 3) Tris-Buffer, PH 8.0.

3.2 — O reagente é utilizado para a prospecção em massa. Qualquer dos três métodos poderão ser utilizados.

3.2.1 — *Macrométodo*.

10 µl soro + 0,2 ml reagente (= diluição 1:20).

Test Kit suficiente para aproximadamente 75 observações.

3.2.2 — *Micrométodo* (tubos de aglutinação)

5 µl soro + 0,1 ml reagente (= diluição 1:20).

3.2.3 — *Micrométodo* (placas de microtitulação)

5 µl soro + 0,1 ml reagente (= diluição 1:20).

No 2.º e 3.º método, o Test Kit é suficiente para aproximadamente 150 observações.

3.3 — 40 Test Kits, conjuntamente com os acessórios (tubos de aglutinação, placas de microtitulação, pipetas serológicas, etc.), necessários para efectuar cerca de 6000 observações constituiu a oferta do Laboratório Behringwerke-Hoechst, através do seu representante em Angola, Senhor João Baptista Martins.

Todo o material foi entregue ao Chefe da Missão de Combate às Tripanosomíases e ficou depositado no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Investigação Científica de Angola.

## 4 — OBJECTIVOS DO ESTUDO

4.1 — Comprovar a eficácia do método serológico no diagnóstico da Tripanosomíase Humana.

4.2 — Comparar a eficácia do método serológico com o método tradicional (exame microscópico para a pesquisa do tripanosoma no sangue e no suco ganglionar).

4.3 — Verificar a possibilidade da execução do método serológico em prospecções de massa nas áreas endémicas.

4.4 — Adquirir a experiência sobre a serologia da tripanosomíase humana por *T. b. gambiense* no Laboratório de Microbiologia de Luanda e contribuir para a formação do pessoal neste campo.

4.6 — Verificar a possibilidade de aumentar o número de pessoas prospectadas anualmente utilizando o método serológico.

5 —

Na reunião havida no mês de Maio de 1978, no Departamento de Epidemiologia em que participaram Dr. Pitra, Responsável pelo Departamento; Dr. Amílcar Martins, Chefe do Departamento da Saúde Pública da Faculdade de Medicina; Dr. Castro, perito da OMS em Estatística; Dr. Luís Delgado, microbiologista; Dr. Collas, Epidemiologista; e Dr. Rosário Pinto, responsável pela Missão de Combate às Tripanosomíases, ficou definida e valorizada a necessidade da experimentação deste novo método serológico.

5.1 — A escolha do local para a realização do teste obedeceu ao seguinte critério:

5.1.1 — Áreas de máxima prevalência esperada. Isto permitiria diminuir as horas de trabalho e quilómetros-Jeep a percorrer.

5.1.2 — Maior prevalência de doentes nas primeiras fases da sua evolução: hemolinfática e meningovascularítica. Este é o indício de que as glossinas das nossas galerias florestais estão infectadas e de que o «vírus circulante» está a propagar-se no interior do país.

5.2 — Da análise dos mapas estatísticos, resultou a escolha das províncias do Uíge e Zaire. Assim, decidiu-se:

5.2.1 — Efectuar 4 a 5000 observações nas províncias de Uíge e Zaire, nas zonas de maior incidência de doentes do sono.

5.2.2 — A utilização do «Micrométodo» (placas de microtitulação) como teste qualitativo. A todos os seropositivos seria utilizado o método semiquantitativo, para a escolha de terapia e investigação epidemiológica.

5.2.3 — Toda a população testada pelo método serológico seria igualmente observada pelo método tradicional para a pesquisa de tripanosomas para uma melhor comparação entre o método tradicional e o serológico.

6 —

Toda a experiência no campo de serologia foi possível iniciar-se devido ao valioso estímulo e apoio concedido por Dr. Amílcar Martins, Chefe do Departamento da Saúde Pública da Faculdade de Medicina e pela Dr.<sup>a</sup> Maria Eugénia, Chefe do Departamento de Microbiologia do Instituto de Investigação Científica de Angola que nos cederam as instalações e a aparelhagem necessária, bem como nos dispensaram uma técnica valiosa, Filomena Maria da Costa Cerqueira Lima Dias Flora, com adequada experiência no campo de serologia.

6.1 — A primeira equipa «Cellognost-Tripanosomíases» ficou constituída pelo seu coordenador, o microbiologista Dr. Luís Delgado, pela técnica Filomena Lima Flora e mais quatro técnicos especialmente requisitados para a colheita do sangue por punção venosa.

Todo o trabalho do campo foi coordenado por Dr. Rosário Pinto, com a colaboração dos enfermeiros especializados Borges Francisco, Victor Pâmpano e da equipa da M. C. T. sediada em M'Banza Kongo.

6.2 — As fichas para a identificação da população observada, com dados sobre a idade, sexo, domicílio, procedência, ocupação, com ou sem adenopatias cervicais, resultado de observação microscópica, resultado serológico, título, bem como outros dados julgados necessários para uma ulterior análise foram elaborados de acordo com o epidemiologista Dr. Emídeo Leon e Dr. Ruben Castro, perito da O.M.S. em Estatística.

7 —

Foram colhidos 1956 soros, por punção venosa da população de M'Banza Magina e dos arredores da cidade de M'Banza Kongo, capital da nossa província do Zaire. Toda a população prospectada regressara em 1975 da vizinha República do Zaire, para onde se refugiara a partir de 1961, início da luta armada da primeira guerra da libertação.

7.1 — No início desta primeira experiência não fora feito, infelizmente, o teste controlo e verificação do comportamento dos soros declaradamente positivos e negativos.

7.2 — Por pesquisa microscópica do tripanosoma no sangue e no suco ganglionar, foram diagnosticados 71 casos novos da doença do sono,

sendo um deles de comprovada transmissão intra-uterina, numa criança de 3 meses de idade (<sup>1</sup>).

7.3 — O teste de Hemaglutinação Indirecta «Celloghost-Tripanosomíases» deu um elevado número de seropositivos, 808 numa população de 1956 indivíduos. Todos os doentes do sono diagnosticados por exame parasitológico (pesquisa de tripanosomas no sangue e suco ganglionar) deram o serodiagnóstico positivo, excepto o caso descrito de transmissão intrauterina.

Esta criança de 3 meses de idade, que apresentou tripanosomas no sangue circulante, não tinha adenopatias cervicais e a análise do seu líquido cefalo-raquidiano dera os seguintes resultados: linfócitos = 140/mm<sup>3</sup>; albumina = 1,14 gramas por litro; e abundância de tripanosomas!... apresentou o resultado negativo no teste serológico qualitativo (micrométodo, placas de microtitulação) do soro colhido no dia 4 de Julho de 1978.

No dia 26 de Agosto (52 dias após) foi colhida uma nova amostra do sangue. Entretanto a criança fora medicada com 6 injeções de Lomidina, intramusculares e diárias, na dose de 0,03 cc.

Desta segunda vez, a prova serológica foi positiva, com o título de 1/64.

7.4 — Devido ao elevado número de soros positivos durante o *screening*, os 40 Kits disponíveis não foram suficientes para efectuar a sua titulação.

7.5 — Este valioso material encontra-se na fase de análise e estudo.

8 —

No mês de Julho de 1979 foram recebidos mais 25 «Test Kits», oferta do mesmo Laboratório Behringwerke-Hoechst.

Desta vez os nossos centros de interesse estavam positivamente orientados para a procura de uma solução correcta e assumimos a responsabilidade desta experiência. Assim,

8.1 — Elaborado o plano para o início desta 2.<sup>a</sup> experiência, ficou decidido antes de mais efectuar o «teste controlo» no laboratório para o estudo e comportamento de soros de doentes do sono face aos soros de indivíduos sãos (forasteiros).

8.2 — Toda a execução da técnica laboratorial ficou a cargo exclusivo da técnica Filomena Lima Flora, com a colaboração do Dr. Rosário Pinto. Na sua fase inicial a Dr.<sup>a</sup> Deisy Pastora Rodrigues contribuiu para a colheita dos soros.

8.3 — Entre os 46 soros escolhidos para o «Teste Controlo»:

8.3.1 — 12 soros eram de doentes do sono comprovados, por terem apresentado tripanosomas no sangue, no sangue ganglionar ou no líquido cefalo-raquidiano.

8.3.2 — Um soro fora colhido numa doente suspeita de tripanosomíase humana.

Esta doente baixara ao Hospital Militar em 12 de Dezembro de 1978 e onde fora tratada com tuberculostáticos, antipalustres, corticoides, antibióticos e vitaminas.

Em 12 de Julho de 1979, por não sentir melhoras e não estar esclarecido o seu diagnóstico, baixara ao Hospital Universitário Américo Boavida, apresentando: mau estado geral, obnubilção, febre, ascite, hepatoesplenomegália e convulsões. Não apresentou adenopatias cervicais punccionáveis. A pesquisa de tripanosomas no sangue foi negativa.

Ao exame do líquido cefalo-raquidiano apresentou os seguintes resultados: líquido claro; linfócitos = 15,2/mm<sup>3</sup>; albumina = 0,71 gr %; pesquisa de tripanosomas, negativo. O reflexo pólipo e palmomentoniano, positivo.

A doente faleceu no dia 25/11/79. A autópsia do cadáver foi efectuada dois dias após.

Da observação macroscópica das lesões e do exame histopatológico das mesmas, foram deduzidas as seguintes conclusões finais:

«Meningoencefalite aguda bacteriana.

Broncopneumonia aguda bilateral com áreas abcedadas.

Edema e congestão pulmonar.

Gongestão visceral generalizada.

Luanda, 7/12/1979. Dr.<sup>a</sup> Emília Ribas.

8.3.3 — Foram colhidos 33 soros entre os forasteiros, indivíduos oriundos de região onde não existe tripanosomíase humana.

8.4 — O teste controlo foi repetido por quatro vezes, colocando números diferentes, sobrepostos, sobre os tubos de «khan» e conferindo depois os resultados. Durante a experiência-*screening*, verificou-se que os soros positivos foram sempre os mesmos. Igualmente a titulação deu resultados idênticos.

(<sup>1</sup>) Pinto, A. C. do Rosário; — «Um caso de doença de sono congénita», Sector Nacional de Endemias. Angola.

8.5 — No método semiquantitativo, durante a leitura dos títulos, verificámos que:

8.5.1 — Na Fila A — O controlo de eritrocitos (controlo reactivo) estava normal.

8.5.2 — Na Fila B — O soro controlo *T. gambiense*, positivo, apresentou um título baixo, de 1/32 (o normal, de acordo com as instruções, seria 1/512 a 1/1024).

8.5.3 — Na Fila C — O soro controlo negativo estava normal.

8.6 — O «Teste Controlo» deu o seguinte resultado:

8.6.1 — Todos os doentes do sono comprovados laboratorialmente apresentaram o serodiagnóstico positivo embora em título baixo, de 1/16.

8.6.3 — Dois forasteiros, oriundos de regiões comprovadamente não endémicas e sem qualquer contacto com as mesmas, apresentaram o serodiagnóstico positivo. Um apresentou o título de 1/16 e, outro, o título de 1/64.

8.7 — No mapa seguinte, «Mapa do Teste Controlo», é possível verificar a posição dos doentes do sono e são, sua positividade perante o *screening*, e o valor das titulações.

Dois doentes do sono comprovados pelo exame parasitológico apresentaram um título baixo, de 1/16. (Mapa 2)

8.8 — Do relatório médico destes dois forasteiros seropositivos, foi possível apurar os seguintes dados:

8.8.1 — N.º 21 / Forasteiro; idade, 39 anos; sexo masculino; raça branca. Reside em Luanda. Refere não ter saído fora da cidade.

Sintomas subjectivos: astenia e cervicalgias com cerca de três meses de evolução.

Aparelho respiratório, cardiovascular, digestivo sistema nervoso: normal, sem qualquer sintomatologia.

Hemolinfopoético: microadenites cervicais e inguinais.

Exames complementares:

Pesquisa de plasmódio — negativo. Hemograma: Hb - 15,1 gr %. Velocidade de sedimentação: 1.ª hora = 5 mm. Leucocitos: 6250/mm<sup>3</sup> (segmentados, 48 %; eosinófilos, 6 %; linfocitos, 46 %). Ureia: 22 mg %. Glicose: 76 mg %. Provas funcionáveis hepáticas: normais.

Exame de fezes: ovos de tricocéfalos.

Urina: aspecto ligeiramente turvo; PH 6, ácida, amarela, sem albumina nem glicose; 12 leucocitos por campo; células epiteliais numerosas.

Pesquisa de tripanosomas no sangue periférico — negativo.

As microadenites não são punccionáveis.

Teste serológico (HAI) — positivo; título 1/16.

Exame do líquido cefalo-raquidiano: linfócitos, 1/mm<sup>3</sup>; albumina, 0,25 gr %; pesquisa de tripanosomas, negativo.

Em face do exame do doente, somos de opinião que não se trata de um tripanosomado, por causa da negatividade de todas as provas, e por não ter estado em nenhuma zona endémica da tripanosomiase humana.

Foi tratado com Mintezol, com ácido malídico e mandelamina.

8.8.2 — N.º 36 / Forasteiro; idade, 30 anos; sexo masculino; raça mista; profissão, chofer.

Há aproximadamente 6 meses que se encontra em Angola, tendo visitado até agora, fora de Luanda, as cidades de Benguela, Lobito, N'Gunza e Quibala, onde tem permanecido por vários dias.

Tem como antecedentes sensações de acidez e dores epigástricas. Até há um mês estava assintomático. Desde então nota astenia. Em certos dias tem sensação febril com calafrios. Tem bom apetite.

Exame físico: microadenopatias na região cervical esquerda, não dolorosas e não aderentes. Mucosas normais. Abdómen sem qualquer alteração. Aparelho respiratório normal. Aparelho cardiovascular: sopro sistólico 2/6 com ruído rítmico. Tensão arterial, 12/8. Pulso, 76.

Aparelho urinário: normal.

Exame hematocrítico: 40 vol %; Hemoglobina, 12,1 %; Leucocitos, 9500 (segmentados, 53 %; linfócitos, 38 %; monocitos, 4 %; eosinófilos, 5 %).

Pesquisa de plasmódio, positivo.

Pesquisa de tripanosomas: sem adenites cervicais; sangue, negativo para tripanosomas; líquido cefalo-raquidiano (linfócitos, 9/mm<sup>3</sup>; albumina, 0,25 gr %; tripanosomas, negativo).

Teste serológico (HAI) — positivo; título — 1/64.

8.9 — Em face dos dados clínicos e laboratoriais dos dois forasteiros e, dos dados clínicos, laboratoriais e do resultado da autópsia da doente suspeita, nos leva a concluir de que estes três indivíduos não são doentes do sono mas, muito provavelmente, falsos positivos.

## MAPA 2

## Teste controle

| Número | Idade | Status | Pesquisa de Tripanosomas |       |     |       |      | Sero-diag. |       | Observações |
|--------|-------|--------|--------------------------|-------|-----|-------|------|------------|-------|-------------|
|        |       |        | Suc.                     | Sang. | LCR | Linf. | Alb. | Scree.     | Tit.  |             |
| 1      | M/46  | D      | +                        | +     | —   | 169   | 0,56 | +          | 1/256 | AR4         |
| 2      | M/56  | D      | —                        | +     | —   | 10    | 0,40 | +          | 1/512 | AR4         |
| 3      | F/19  | D      | —                        | —     | —   | 13    | 0,25 | +          | 1/256 | CAT         |
| 4      | M/64  | D      | +                        | +     | —   | 22    | 0,40 | +          | 1/ 64 | AR4         |
| 5      | F/30  | D      | —                        | +     | —   | 6     | 0,22 | +          | 1/512 |             |
| 6      | M/13  | D      | s/g                      | —     | +   | 123   | 0,45 | +          | 1/ 16 |             |
| 7      | F/28  | D      | s/g                      | +     | +   | 126   | 0,48 | +          | 1/128 |             |
| 8      | M/60  | D      | s/g                      | —     | +   | 640   | 0,64 | +          | 1/128 | AR3         |
| 9      | M/60  | D      | s/g                      | +     | —   | 1,2   | 0,40 | +          | 1/256 |             |
| 10     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 11     | F/59  | D      | s/g                      | +     | —   | 4     | 0,24 | +          | 1/ 16 |             |
| 12     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 13     | M/26  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 14     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 15     | M/21  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 16     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 17     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 18     | M/27  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 19     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 20     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 21     | M/39  | F      | s/g                      | —     | —   | 1     | 0,25 | +          | 1/ 16 |             |
| 22     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 23     | M/29  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 24     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 25     | M/28  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 26     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 27     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 28     | M/26  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 29     | M/25  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 30     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 31     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 32     | M/28  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 33     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 34     | M/27  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 35     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 36     | M/30  | F      | s/g                      | —     | —   | 9     | 0,25 | +          | 1/ 64 |             |
| 37     | M/22  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 38     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 39     | M/21  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 40     | M/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 41     | F/25  | D      | +                        | —     | —   | 5,4   | 0,36 | +          | 1/ 64 |             |
| 42     | M/ 2  | D      | s/g                      | —     | +   | 360   | 0,78 | +          | 1/128 |             |
| 43     | M/25  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 44     | M/24  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 45     | F/23  | F      |                          |       |     |       |      | —          | —     |             |
| 46     | F/30  | DS     | s/g                      | —     | —   | 15,2  | 0,71 | +          | 1/ 16 |             |

Chave para observações: M=masculino; F=feminino; D=doente do sono confirmado por procedimentos tradicionais (presença de tripanosomas; F=forasteiro vindo e habitando sempre em áreas não endêmicas; DS=doente suspeito, negativo segundo processos tradicionais mas suspeito com LCR alterado e alguns sintomas clínicos; s/g=sem adenites cervicais punccionáveis; Linf.=número de células por milímetro cúbico no LCR; Alb.=gramas de albumina por litro, de LCR; AR4=doente Arsobal resistente após 4 séries de tratamento com Melarsoprol; CAT=contactado pela 1.ª vez após tratamento em outra área.

9 —

Após a concretização do «Teste Controlo» foi iniciado o trabalho do campo. Para o efeito foi escolhida a nossa província do Zaire, por ser uma das zonas endémicas e onde a incidência de casos novos da doença do sono tem sido elevada — 266 casos novos no ano de 1978 (ver Mapa 1).

9.1 — Foram prospectados 250 indivíduos no mês de Setembro de 1979, das povoações de Lomba (com 79 habitantes) e N'Goma (com mais de 170 habitantes). Estas povoações distam de M'Banza Kongo, capital da província, 8 e 5 quilómetros respectivamente.

9.2 — A população regressou da República do Zaire em 1975 e exerce actividade agrícola cultivando as suas lavras junto ao rio próximo.

9.3 — Toda a população fora prospectada pelo método tradicional e seguidamente pentamidinizada no mês de Agosto de 1978.

9.4 — Nesta população de 250 indivíduos estavam incluídos 24 doentes do sono antigos, recentemente tratados com Arsobal e Trimelarsan.

9.5 — Para um estudo comparativo e melhor interpretação dos resultados, toda a população tratada pelo método serológico foi igualmente observada pelo método tradicional: pesquisa de tripanosomas no sangue corado e no suco ganglionar a fresco nos portadores de adenopatias cervicais.

9.6 — Toda a população foi agrupada em três grupos etários: Crianças (0 a 14 anos); Adultos (15 a 59 anos); Velhos (60 e mais anos).

As crianças menores de 3 anos não foram prospectadas por dificuldade de extracção do sangue por punção venosa.

9.7 — Foi efectuado inquérito epidemiológico e pesquisa sistemática de sintomas clínicos da doença: cefaleias, febre, caquexia, adenopatias cervicais, insónias e sonolência diurna.

9.8 — Foi efectuada a microdosagem (titulação) de todos os soros positivos durante o *screening*.

9.9 — A todos os doentes confirmados por exame microscópico, bem como a outros com serodiagnóstico positivo, foi efectuada a punção lombar para a contagem de células e doseamento de proteínas com a finalidade de detectar qualquer anormalidade no líquido cefalo-raquidiano.

10 —

Todo o trabalho de campo foi orientado por Dr. Rosário Pinto com a colaboração do enfer-

meiro especializado em microscopia Borges Francisco e da equipa do M. C. T. sediada em M'Banza Kongo.

11 —

Por observação microscópica para a pesquisa de tripanosomas no sangue e suco ganglionar, foram diagnosticados 22 casos novos da doença do sono.

11.1 — Igualmente três doentes antigos que, há cerca de três meses, haviam terminado várias séries da Arsobal e Trimelarsan, apresentaram tripanosomas no sangue e, um deles, simultaneamente no sangue e líquido cefalo-raquidiano. Somos levados a concluir que se tratam de casos arseno-resistentes.

12 —

Durante o *screening* por Hemaglutinação Indirecta, micrométodo, 96 indivíduos apresentaram o serodiagnóstico positivo.

MAPA 3

HAI — Distribuição por grupos de idade

| Grupos de idade   | Sexo | População prospectada | Sero-diagnóstico |          | Percent. positivos |
|-------------------|------|-----------------------|------------------|----------|--------------------|
|                   |      |                       | Positivo         | Negativo |                    |
| 0-14 anos .. ...  | M    | 42                    | 5                | 37       | 11,9 %             |
|                   | F    | 52                    | 10               | 42       | 19,2 %             |
| 15-59 anos .. ... | M    | 44                    | 22               | 22       | 50 %               |
|                   | F    | 74                    | 35               | 39       | 47,3 %             |
| 60 e + anos ...   | M    | 17                    | 10               | 7        | 58,8 %             |
|                   | F    | 21                    | 14               | 7        | 66,7 %             |
| Total ...         |      | 250                   | 96               | 154      | 38,4 %             |

12.1 — Da análise do mapa 3 se infere que a maior percentagem se situa entre os adultos e velhos. As crianças da idade escolar encontram-se menos atingidas.

12.2 — Todos os doentes do sono comprovados por pesquisa de tripanosomas, tanto os doentes antigos como os casos novos apresentaram o serodiagnóstico positivo.

13 —

O limitado número de casos observados permite-nos tirar algumas conclusões.

13.1 — O teste tem adequada sensibilidade.

13.2 — A distribuição da frequência do nível de anticorpos nos doentes confirmados, antigos e novos, apresenta uma curva cuja moda está entre 1/64 e 1/256. Nos valores mais baixos e mais altos, há escasso número de casos.

13.3 — Os indivíduos são (incluindo os supostos são que apresentaram alguns sintomas clínicos ou L. C. R. anormal) são na sua maioria seronegativos (75 %). (Mapa 4)

13.4 — Os indivíduos são positivos compreendem três grupos: a) sem nenhum antecedente; b) só com sintomatologia clínica; e c) com L.C. R. anormal (com ou sem sintomatologia clínica).

A distribuição destes são positivos conforme a sua titulação, apresenta um predomínio dos títulos baixos (moda em 1/16). A pequena quantidade de indivíduos em cada subgrupo não permite detectar diferenças significativas na distribuição do nível de anticorpos.

14 —

Consideramos que o método ensaiado merece um inquérito de maior número de casos e um seguimento do comportamento imunitário destes casos já prospectados.

14.1 — Devido ao pequeno número de prospectados não nos é possível, de momento, inferir os riscos em função de idade e do sexo.

## CONCLUSÕES

1 —

O método tradicional clássico exige uma intensa mobilização humana e material e, além disso, como se infere das experiências anteriores e da experiência colhida no 16.º Encontro do Conselho Científico Internacional para a Pesquisa e Controlo da Tripanosomíase (ISCTRC), Yaounde, 29 de Outubro - 3 de Novembro de 1979, o mesmo não consegue detectar mais de 50 % dos tripanosomados.

2 —

Em referência aos métodos de diagnóstico, o Dr. P. de Raadt admite a vantagem do método «Elisa» sobre a Imunofluorescência Indirecta, sobretudo no que respeita a precisão das titulações, mas ele chama a atenção para os testes mais simples e que se encontram no estado de desenvolvimento e de avaliação, tais como os testes de hemaglutinação indirecta (Cellognost - Behring-

QUADRO 4

Inquiridos conforme à Serologia e Antecedentes Patológicos

| Serologia           | Antecedentes patológicos |                              |                              |                                        |                                       |    |      |   |     |   |                  |   |                 |   |
|---------------------|--------------------------|------------------------------|------------------------------|----------------------------------------|---------------------------------------|----|------|---|-----|---|------------------|---|-----------------|---|
|                     | Total                    | Sãos (pauta tradicional)     |                              |                                        | Doentes (pauta tradicional) positivos |    |      |   |     |   |                  |   |                 |   |
|                     |                          | antece-<br>dentes<br>nenhuns | só sin-<br>tomas<br>clínicos | LCR<br>anormal<br>c/ ou s/<br>sintomas | Sangue                                |    | Suco |   | LCR |   | Sangue<br>e suco |   | Sangue<br>e LCR |   |
|                     |                          |                              |                              |                                        | N                                     | A  | N    | A | N   | A | N                | A | N               | A |
| <i>Total</i> ... .. | 250                      | —                            | —                            | —                                      | 13                                    | 16 | 1    | 2 | —   | — | 7                | 5 | 1               | 1 |
| Negativos ... ..    | 154                      | (3)                          | (2)                          | (3)                                    | —                                     | —  | —    | — | —   | — | —                | — | —               | — |
| 1/8 ... ..          | 5                        | 3                            | —                            | 1                                      | —                                     | —  | —    | — | —   | — | —                | 1 | —               | — |
| 1/16 .. ..          | 18                       | 6                            | 4                            | 5                                      | —                                     | 1  | —    | — | —   | — | —                | 2 | —               | — |
| 1/32 .. ..          | 14                       | 2                            | 3                            | 4                                      | 1                                     | 2  | —    | — | —   | — | 1                | 1 | —               | — |
| 1/64 .. ..          | 17                       | 2                            | 2                            | 3                                      | 4                                     | 4  | —    | — | —   | — | 1                | 1 | —               | — |
| 1/128 .. ..         | 19                       | 2                            | 5                            | 1                                      | 2                                     | 4  | —    | 1 | —   | — | 2                | — | 1               | 1 |
| 1/256 .. ..         | 17                       | 1                            | 1                            | 4                                      | 4                                     | 3  | 1    | 1 | —   | — | 2                | — | —               | — |
| 1/512 .. ..         | 5                        | —                            | —                            | 1                                      | 2                                     | 1  | —    | — | —   | — | 1                | — | —               | — |
| 1/1024 ... ..       | —                        | —                            | —                            | —                                      | —                                     | —  | —    | — | —   | — | —                | — | —               | — |
| 1/2048 ... ..       | 1                        | —                            | —                            | —                                      | —                                     | 1  | —    | — | —   | — | —                | — | —               | — |

Obs.: Não se observaram casos com positividade simultânea de tripanosomas no suco gaunglionar e no LCR e também no sangue, suco e LCR. N=doentes novos. A=doentes antigos. (2) Sem informação. (3) Não foi feita a punção lombar nos indivíduos sero-negativos.

werke) e de aglutinação sobre cartão (Van Meirvenne - Antwerp).

A imunofluorescência indirecta, o teste «Eli-sa» ou ainda a utilização da «Miniature-Anion Exchange-Centrifugation-Technique» representam os testes de escolha certos, mas que deveriam ser reservados aos laboratórios ou às equipas móveis tecnicamente bem equipadas, o que não é a regra; estas técnicas não podem por consequência ser recomendadas como técnicas de rotina.

3 —

A nosso ver, o Teste de Hemaglutinação Indirecta (Cellognost-Behringwerke) reúne condições para a sua utilização nos trabalhos de campo,

para uma prospecção em massa e despistagem dos doentes por *T. b. gambiense* nas províncias do norte do país.

O teste tem uma adequada sensibilidade e, além de exigir um menor número de técnicos especializados, é mais rentável e de fácil utilização. Cada «Teste Kit» pode servir para a despistagem qualitativa (*screening*) de 120 a 150 indivíduos.

4 —

Haverá contudo necessidade de, antes de elaborar a planificação dos trabalhos de campo, adquirir uma maior experiência laboratorial e uma preparação cuidadosa de técnicos competentes, especializados no ramo de serologia.