

ESTUDO COMPARATIVO DAS PROVAS DE SABIN-FELDMAN (SF) E IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (IFI) COM A DE HEMAGLUTINAÇÃO (HA) PARA A AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-TOXOPLASMA EM SOROS DE CÃES

Masaio Mizuno ISHIZUKA *
Omar MIGUEL *
Dalton França BROGLIATO **

RFMV-A/15

ISHIZUKA, M. M. et al. — *Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães.* Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo, 11:133-38, 1974.

RESUMO: As avaliações qualitativas e quantitativas da prova de HA foram realizadas comparativamente às de SF e IFI.

Foram examinados 80 soros de cães pelas 3 técnicas tendo sido detectados 86% de concordância entre SF-HA e 92% de concordância entre IFI-HA.

Os títulos de anticorpos apresentaram resultados concordantes ou afastados no máximo a uma diluição em 94% quando relacionado SF-HA e 97% quando da IFI-HA.

A prova de HA dada a facilidade de execução e fácil padronização do antígeno, torna-a recomendável para a rotina juntamente com a prova de IFI.

UNITERMOS: *Toxoplasmose* *; *Sabin-Feldman (SF)* *; *Imunofluorescência indireta (IFI)* *; *Hemaglutinação (HA)* *.

I — INTRODUÇÃO

Os resultados encontrados em trabalho anterior por ISHIZUKA, M.M. et al.⁴ (1974), ao comparar as provas de Sabin-Feldman e Imunofluorescência Indireta, conduziram; a testar estas duas provas comparativamente a de Hemaglutinação.

A Hemaglutinação foi adaptada para diagnóstico da Toxoplasmose por JACOBS

& LUNDE⁵ (1957), e a facilidade de execução e boa reproduzibilidade justificaram o interesse de LEWIS & KESSEL⁷ (1961); CHORDI, A. et al.³ (1964); KOBAYASHI et al.⁶ (1971) de aprimorarem a Técnica no que respeita a obtenção do antígeno. Tal foi o sucesso, que atualmente, a prova de hemaglutinação é utilizada tanto para fins diagnósticos como em estudos

* Professor Assistente Doutor.

** Técnico de Laboratório.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP.

ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:133-38, 1974.

imuno-epidemiológicos em populações animais MIYAZATO, E.¹⁰ (1971) e MCILWAIN, P. et al.⁹ (1969).

Em 1974, CAMARGO, M.E. et al.², introduziram modificações na prova de hemaglutinação, obtendo antígenos estáveis e de fácil padronização. Consideramos oportuno o estudo da prova de hemaglutinação como padronização por CAMARGO, M.E.² (1974) comparativamente às provas de SF e imunofluorescência indireta em soros de cães.

De acordo com a hipótese de nulidade não haveria relação entre os resultados de SF-HA e IFI-HA.

A nossa hipótese de trabalho admitia a existência de uma relação positiva entre os resultados de SF-HA e IFI-HA.

Fixamos em 0,05 o nível de rejeição da hipótese de nulidade.

II — MATERIAL E MÉTODOS

II₁) Soros

Foram testados pelas 3 técnicas, 80 amostras de soros de cães enviados ao Ambulatório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade de São Paulo, sem distinção de raça, peso e sexo.

II₂) Reação de Sabin-Feldman

Realizada segundo Sabin & Feldman (1948).

II₃) Reação de Hemaglutinação

Realizada segundo JACOB & LUND³, modificado por CAMARGO, M.E. et al.² (1974). A modificação consistiu na formolização de hemácias sensibilizadas para permitir liofilização posterior.

II₄) Reação de Imunofluorescência Indireta

Realizada segundo ISHIZUKA, M.M. et al.⁴ (1974).

III — RESULTADOS

Inicialmente, classificamos os soros apenas em positivos e negativos, a uma diluição de 1:16 para aquilatarmos do comportamento qualitativo dos soros diante das 3 provas. Os resultados estão expressos nas Tabelas I e II.

TABELA I

Soros de cães, segundo resultados das provas de SF e HA. São Paulo, 1974.

SF \ HA	SF		Total
	+	-	
+	55	11	66
-	0	14	14
Total	55	25	80

TABELA II

Soros de cães, segundo resultados das provas de IFI e HA. São Paulo, 1974.

IFI \ HA	IFI		Total
	+	-	
+	60	6	66
-	0	14	14
Total	60	20	80

ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:133-38, 1974.

Os coeficientes de associação de Yule, calculado segundo MARASCUILLO⁸ (1971) para os dados constantes das Tabelas I e II, mostraram-se igual a 1, sendo que as provas SF-HA apresentaram resultados concordantes em 69 soros (86%) e os restantes 11 foram HA (+) e SF (-); as provas IFI-HA apresentaram resultados concordantes em 74 soros (92%) e os restantes 6 foram IFI (-) e HA (+).

Os valores de X^2 , calculados com base aos dados das Tabelas I e II, foram respectivamente iguais a 42,98 e 33,25, que

comparados ao valor crítico de X^2 para 1 grau de liberdade foi significativo, ultrapassando de muito o valor para o nível de rejeição adotado.

Para uma segunda análise do problema, procuramos estudar o comportamento dos títulos de anticorpos anti-toxoplasma (recíproca da diluição) medidos pelas 3 técnicas, calculando-se para tanto a concordância dos títulos de anticorpos. Para tal estudo baseamo-nos nos dados constantes das Tabelas III e IV.

TABELA III

Títulos de anticorpos anti-toxoplasmas de soro de cães, segundo provas de SF-HA. São Paulo, 1974.

SF \ HA		SF						
		—	16	64	256	1000	4000	8000
—	14							
16	6	5	1					
64	2	7	5	4		1		
256	3	2	6	12	2			
1000				2	3	2		
4000						2		
8000							2	1

TABELA IV

Títulos de anticorpos anti-toxoplasma de soros de cães, segundo provas de IFI-HA. São Paulo, 1974.

IFI \ HA		IFI						
		—	16	64	256	1000	4000	8000
—	14							
16	4	6	2					
64	2	6	6	4		1		
256		1	6	15	3			
1000					6	1		
4000						1		
8000							1	2

ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:133-38, 1974.

Relacionando as provas SF-HA e observando a Tabela III, notou-se a existência de 49% de soros com títulos de anticorpos concordantes tendo sido 45% dos soros positivos com uma diluição de discrepância e apenas 6% que se afastaram em 2 diluições.

Relativamente às provas IFI-HA, com base a Tabela IV, 57% dos soros positivos apresentaram títulos de anticorpos concordantes; 4% dos soros apresentaram

uma diluição de discrepância e apenas 3% afastaram-se em 2 diluições.

Prosseguindo na análise quantitativa dos resultados dos títulos de anticorpos anti-toxoplasma calculamos a correlação existente valendo-nos para tanto do método estatístico não paramétrico pelo cálculo do coeficiente de correlação de Spearman, segundo MARASCUILLO⁸ (1971) com base aos dados da Tabela V.

TABELA V

Títulos de anticorpos anti-toxoplasma medidos pelas provas SF-IFI e HA. São Paulo, 1974.

SF	IFI	HA	SF	IFI	HA	SF	IFI	HA
16	16	16	64	16	256	256	256	256
16	16	16	64	64	256	256	256	256
16	16	16	64	16	64	256	1000	1000
16	256	256	64	64	256	256	1000	1000
16	64	64	64	256	256	256	256	64
16	256	64	64	64	64	256	256	256
16	64	16	64	16	16	256	256	256
16	16	64	64	256	64	256	64	64
16	16	64	256	256	256	1000	1000	1000
16	16	64	256	64	64	1000	1000	1000
16	16	64	256	64	64	1000	1000	1000
16	64	16	256	1000	256	1000	1000	256
16	64	64	256	256	256	1000	256	256
16	64	256	256	1000	256	4000	4000	1000
64	256	64	256	256	256	4000	4000	64
64	16	64	256	256	256	4000	8000	4000
64	64	256	256	64	256	4000	1000	1000
64	64	256	256	256	256	4000	4000	4000
						8000	8000	4000

Os coeficientes de correlação de Spearman forneceram respectivamente os valores de 0,79 e 0,77 para as relações de provas SF-HA e IFI-HA. Isto indica a existência de uma correlação positiva entre os métodos estudados. Estas correlações mostraram-se significantes ao nível adotado de 5%, tendo dado para a estatística "t" de student, os valores 7,77 para a relação SF-HA e 9,19 para IFI-HA (o

valor crítico de "t" para o nível de rejeição adotado é igual a 1,96).

IV — DISCUSSÃO

Os resultados apresentados nas Tabelas I, II, III e IV demonstraram haver boa concordância entre os resultados qualitativos (Tabela I e II), bem como entre os

ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:133-38, 1974.

títulos de anticorpos (Tabela III e IV), medidos pelas 3 técnicas.

Na Tabela I, tivemos 11 casos HA+ e SF- e na Tabela II, 6 casos IFI+ e SF-. Neste caso não se pode afastar a possibilidade de as provas de HA e IFI apresentarem maior sensibilidade que a SF, bem como uma possível diversidade da natureza dos anticorpos envolvidos, conforme mencionado por CALERO, J.R. & GUTIERREZ, M.J.A.¹ (1966).

O estudo das correlações medidas pelo coeficiente de correlação de Spearman, com os valores da Tabela V, mostrou existir uma correlação positiva significante entre os resultados obtidos pelas provas

quando relacionamos SF-HA e IFI-HA. Além disso, a intensidade das correlações foram elevadas.

As avaliações realizadas em termos de concordância e correlação bem como a facilidade de execução, dispensando inclusive a utilização de equipamentos dispendiosos, permite-nos recomendar a técnica de HA, na rotina de diagnóstico de toxoplasmose canina.

Laboratórios equipados com microscópios de fluorescência podem se valer das 2 provas com finalidade diagnóstica, pois os títulos de anticorpos medidos por ambos os métodos aproximam-se bastante.

RFMV-A/15

ISHIZUKA, M. M. et al. — *Comparison of the Sabin-Feldman, indirect fluorescent antibody test and hemagglutination test for detection of antibodies to Toxoplasma gondii in dog serum.* *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 11:133-38, 1974.

SUMMARY: *The results of the HA test were compared qualitatively and quantitatively with SF and IFI tests.*

Eighty canine serum samples were tested by the three techniques. There was an agreement of over 86% in SF-HA and 92% in IFI-HA tests.

At a difference of one dilution (four-fold) there was 94% agreement in antibody titers between the SF-HA tests and 97% agreement in antibody titers between the IFI-HA tests.

UNITERMS: *Toxoplasmosis*; Sabin-Feldman (SF)*; Indirect fluorescent antibody test*; Hemagglutination test (HA).*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CALERO, J. R. & GUTIERREZ, J. A. M. — Estudio de las fracciones de los anticorpos (γ M; γ A; γ G) responsables de las pruebas serológicas en la toxoplasmosis; Immunofluorescencia Indireta, Hemoagglutination y Dye Test. *Rev. iber. Parasit.*, 26 (4):391-403, 1966.
2. CAMARGO, M. E. (1974) [no prelo].
3. CHORDI, A. et al. — Studies on the specificity of the Indirect Hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Immunol.*, 93:1024-33, 1964.
4. ISHIZUKA, M. M. et al. (1974) — Estudo comparativo entre as provas de

ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo das provas de Sabin-Feldman (SF) e imunofluorescência indireta (IFI) com a de hemaglutinação (HA) para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, **11**:133-38, 1974.

- Sabin-Feldman e Imunofluorescência Indireta para avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de cães. 1974. [no prelo]
5. JACOBS, L. & LUNDE, M. M. — Hemagglutination test for Toxoplasmosis. *J. Parasit.*, **43**:308-14, 1957.
 6. KOBAYASHI, A. et al. — Comparison of the Dye Test and Hemagglutination tests by three different techniques in the serologic diagnosis of toxoplasmosis. *Jap. J. med. Sci. Biol.*, **24**:115-24, 1971.
 7. LEWIS, W. P. et KESSEL, J. F. — Hemagglutination in the diagnosis of toxoplasmosis and amebiasis. *Arch. Ophthal.*, **66**:471-6, 1961.
 8. MARASCUILLO, L. A. — *Statistical methods for behavioral science research*. New York, Mc Graw-Hill, 1971.
 9. McILWAIN, P. et al. — Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in domestic animals of North Dakota. *Arch. Environm. Hlth.*, **19**:885-6, 1969.
 10. MIYAZATO, E. — Immuno-epidemiological studies on *Toxoplasmosis* in Okinawa. *Trop. Med. Nagasaki*, **12**: 210-20, 1971.
 11. SABIN, A. B. & FELDMAN, H. A. — Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoan parasite (Toxoplasma). *Science*, **108**:660, 1948.
- Recebido para publicação em 28-8-74
Aprovado para publicação em 29-8-74