

TOXOPLASMOSE: ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS PROVAS
DE SABIN-FELDMAN E IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA
PARA A AVALIAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-TOXOPLASMA
EM SOROS DE EQUINOS PSI.

Masaio Mizuno ISHIZUKA *
Omar MIGUEL *
Dalton França BROGLIATO **
Regina Ayr Florio da CUNHA ***
João Antonio GARRIDO ***

RFMV-A/28

ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F.; CUNHA, R. A. F. da;
GARRIDO, J. A. — *Toxoplasmose: estudo comparativo entre as provas
de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de
anticorpos-antitoxoplasma em soros de equinos PSI. Rev. Fac. Med. vet.
Zootec. Univ. S. Paulo, 12:283-88, 1975.*

RESUMO: *Avaliações qualitativas e quantitativas da prova de imuno-
fluorescência indireta para a toxoplasmose equina foram realizadas com-
parativamente à prova padrão de Sabin-Feldman. Foram examinadas 100
amostras de soro por ambos os métodos, tendo sido de 87% a concordância
entre os resultados qualitativos. Os resultados quantitativos apresentaram
uma apreciável concordância da ordem de 78%, incluindo-se os resultados
que distaram de apenas uma diluição. Na prova de SF foram detectados
níveis de anticorpos ligeiramente superiores.*

*As duas provas estudadas apresentavam sensibilidade e especificidade
muito próximas e o fato da prova IFI dispensar o uso de antígeno vivo e fator
acessório torna-a recomendável para o uso rotineiro para fins diagnósticos
e epidemiológicos.*

UNITERMOS: *Toxoplasmose*; Sabin-Feldman*; Imunofluorescência in-
direta*; Equinos PSI*.*

I. INTRODUÇÃO

Em trabalho anterior (MACRUZ et al.,³)
tivemos a oportunidade de estudar 77 equi-
nos PSI sob o ponto de vista clínico, ana-
tomo-patológico e sorológico, todos suspei-
tos de toxoplasmose. Como método de es-

tudo foi utilizada a prova sorológica de
Sabin & Feldman (SF)⁵ considerada como
padrão para a dosagem de anticorpos
anti-toxoplasma em soros da maioria das
espécies de animais domésticos, com exce-

* Professor Assistente Doutor.

** Técnico de laboratório.

*** Estagiários.

Departamento de Medicina Veterinária Preventiva e Saúde Animal da Faculdade de Me-
dicina Veterinária e Zootecnia da U.S.P.

ção dos cães (ISHIZUKA et al.,²) e dos suínos (SUZUKI et al.,⁶). Nestes trabalhos os autores estudaram comparativamente os resultados obtidos com as provas de Sabin-Feldman (SF) e de Imunofluorescência Indireta (IFI) encontrado uma concordância apreciavelmente elevada que lhes permitiu sugerir a última prova para fins diagnóstico e epidemiológicos.

Face ao elevado número de casos clínicos de toxoplasmose em eqüinos PSI (MACRUZ e al.,³), consideramos conveniente a procura de um outro método para fins de levantamento sorológico que não apresentasse os inconvenientes da prova de Sabin-Feldman, tais como a utilização de antígeno vivo virulento, representado pelo próprio *T. gondii*, e de fator acessório presente em soros humanos isentos de anticorpos anti-toxoplasma.

Os resultados favoráveis obtidos com a prova IFI em cães (ISHIZUKA et al.,²) sugeriram-nos o presente estudo utilizando soros de eqüinos.

De acordo com a hipótese de nulidade, não haveria relação entre os resultados das provas de Sabin — Feldman e de Imunofluorescência indireta.

Nossa hipótese de trabalho admita relação positiva entre SF e IFI.

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

MATERIAL E MÉTODO

A) Soros

Foram coletadas 100 amostras de sangue de eqüinos PSI do Estado de São Paulo, tomados os cuidados de incluir na amostragem soros de animais com sintomas de toxoplasmose e de animais clinicamente sadios.

B) Métodos sorológicos

B1) Prova de Sabin — Feldman (SF)

Realizada segundo SABIN & FELDMAN⁵ (1948). Consideramos como positivos os soros que, diluídos pelo menos a 1:16 determinassem o aparecimento de 50%

ou mais de toxoplasmas não corados pelo azul de metileno em solução alcoólica.

B2) Prova de Imunofluorescência indireta (IFI)

Realizada segundo técnica descrita por CAMARGO¹ (1964) utilizando-se, porém, conjugado anti-cavalo obtido pela imunização de coelhos e preparado pelo Instituto Pasteur de Paris. Foram considerados como positivos os soros que, diluídos pelo menos a 1:16 determinassem o aparecimento de toxoplasmas fluorescentes.

C) Métodos estatísticos

O coeficiente de Associação de Yule e o coeficiente de correlação de Spearman, usados na análise estatística dos resultados, foram calculados segundo MARASCUILLO⁴ (1971).

R E S U L T A D O

Para uma primeira avaliação do problema, estudamos o comportamento dos soros classificados como positivos e negativos. (Tabela I).

O coeficiente de Associação de Yule, para os dados constantes da Tabela I, mostrou-se igual a 1, sendo que as provas apresentaram resultados concordantes em 87 soros (87%); os 13 soros restantes foram positivos para IFI e negativo para SF.

Com base ainda nos dados da Tabela I, o valor obtido para o χ^2 foi de 37,06, considerado significativo em vista de ser bem superior ao valor crítico do χ^2 igual a 3,84, para o nível de rejeição adotado.

Para uma segunda avaliação dos resultados, colocamos lado a lado (Tabela III) as recíprocas dos títulos de anticorpos obtidos por ambas as provas.

Considerando-se apenas os resultados positivos, verificamos que 43% dos soros estudados apresentaram resultados concordantes; 31% dos mesmos apresentaram uma diluição de discrepância e 22% delas afastaram-se em duas diluições.

A avaliação quantitativa dos resultados foi realizada em termos de correlação dos

ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F.; CUNHA, R. A. F. da; GARRIDO, J. A. — Toxoplasmose: estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos antitoxoplasma em soros de eqüinos PSI. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:283-88, 1975.

títulos de anticorpos obtidos por ambos os métodos, valendo-nos para tal apenas dos resultados positivos — Tabela III.

O coeficiente de correlação de Spearman foi igual a 0,43, indicando a existência de uma correlação positiva entre ambos os métodos. O valor "t" de Student foi igual a 4,1, ainda assim, superior ao valor de 1,96 adotado para o nível de rejeição de 5%.

DISCUSSÃO

A técnica de Imunofluorescência indireta (IFI), tal como descrita por CAMARGO¹ (1964) para soros humanos, foi facilmente aplicada aos soros de eqüinos.

Os resultados apresentados nas Tabelas I e II demonstram existir uma boa concordância entre os resultados qualitativos

(Tabela I) e entre os resultados quantitativos expressos em termos dos títulos de anticorpos (Tabela II), quando medidos por ambas as técnicas. Observando ainda a Tabela I, parece que a prova de IFI apresentou maior sensibilidade que a de SF, face aos 13 resultados positivos a IFI e negativos ao SF; além disso, os títulos detectados pela prova não foram além de 1:256 (Tabela III).

A correlação medida pelo coeficiente de Spearman revelou-se positiva e significativa, embora de baixa magnitude devido, talvez, à utilização de conjugados pouco purificados.

A concordância dos resultados dos títulos de anticorpos mostrou-se bastante favorável à prova de IFI que, além disso é de fácil execução, o que a torna recomendável para o uso rotineiro, para fins diagnósticos e epidemiológicos.

TABELA I

Soros de Eqüinos PSI, Segundo Resultados das Provas de SF e IFI, São Paulo, 1975.

Sabin-Feldman \ Imunofluorescência Indireta	Positivo	Negativo	Total
Positivo	77	13	90
Negativo	0	10	10
TOTAL	77	23	100

ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F.; CUNHA, R. A. F. da; GARRIDO, J. A.
 — Toxoplasmose: estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos antitoxoplasma em soros de equinos PSI. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S Paulo*, 12:283-88, 1975.

TABELA II

Soros de Equinos PSI, Segundo Títulos de Anticorpos Antitoxoplasma pelas Provas de IFI e SF, São Paulo, 1975.

IFI \ SF	Negativo	16	64	256	1000	4000	Total
Negativo	10	0	0	0	0	0	10
16	7	0	1	2	1	0	11
64	5	1	4	2	2	0	14
256	1	1	2	9	6	5	24
1000	0	1	5	4	17	6	33
4000	0	0	1	2	2	3	8
TOTAL	23	3	13	19	28	14	100

TABELA III

Soros de Equinos PSI, Segundo Títulos de Anticorpos Antitoxoplasma medidos pelas Provas de IFI e SF, São Paulo, 1974.

RESULTADO DE		Frequência	RESULTADO DE		Frequência
IFI	SF		IFI	SF	
Negat.	Negat.	10	256	256	9
16	Negat.	7	256	1000	6
64	Negat.	5	256	4000	5
256	Negat.	1	1000	16	1
16	64	1	1000	64	5
16	256	2	1000	256	4
16	1000	1	1000	1000	17
64	16	1	1000	4000	6
64	64	4	4000	64	1
64	256	2	4000	256	2
64	1000	2	4000	1000	2
256	16	1	4000	4000	3
256	64	2			

ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F.; CUNHA, R. A. F. da; GARRIDO, J. A. — Toxoplasmose: estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos antitoxoplasma em soros de equinos PSI. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:283-88, 1975.

RFMV-A/28

ISHIZUKA, M. M.; MIGUEL, O.; BROGLIATO, D. F.; CUNHA, R. A. F. da; GARRIDO, J. A. — *Sabin-Feldman test and indirect fluorescent antibody test for detection of antibodies to Toxoplasma gondii in horse serum.* *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:283-88, 1975.

SUMMARY: *The qualitative and quantitative comparison of the Indirect fluorescent antibody technique for horse toxoplasmosis was made comparing the obtained results with the M.B.D. test results. A hundred serum specimens were examined and the agreement between qualitative results was over 87% and there was a good agreement among antibody titers in quantitative values, that was over 70% including difference of one dilution. The M.B.D. test detected higher titers than IFI.*

UNITERMS: *Toxoplasmosis*; Sabin-Feldman*; Indirect fluorescent*; Equine*.*

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

1. CAMARGO, M. E. — Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 6:117, 1964.
2. ISHIZUKA, M. M. et al. — Estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta para a avaliação de anticorpos antitoxoplasma em soros de cães. *Rev. Fac. Med. vet. zootec. Univ. S. Paulo*, 11:127-32, 1974.
3. MACRUZ, R. et al. — Toxoplasmose em equinos PSI — Estudo sorológico. *Rev. Fac. Med. vet. Zootec. Univ. S. Paulo*, 12:277-82, 1975.
4. MARASCUILLO, L. A. — Statistical methods for behavioral science research. New York, McGraw-Hill, 1971.
5. SABIN, A. B. & FELDMAN, H. A. — Dyes as microchemical indicators of a new immunity, phenomenon affecting a protozoan parasit (*Toxoplasma*). *Science*, 108:660, 1948.
6. SUZUKI, K. et al. — Serological diagnosis of toxoplasmosis by the indirect immunofluorescent staining. *Nat Inst. Anim. Health Quart.*, 5(2):73-85, 1965.

Recebido para publicação em 29-8-75

Aprovado para publicação em 17-9-75