

# ESTUDO COMPARATIVO ENTRE AS PROVAS DE SABIN-FELDMAN E DE IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA A DETERMINAÇÃO DE ANTICORPOS ANTI-TOXOPLASMA EM SOROS DE SUÍNOS.

Masaio Mizuno ISHIZUKA\*

RFMV-A/6

ISHIZUKA, M.M. *Estudo comparativo entre as provas de Sabin Feldman e de Imunofluorescência indireta para a determinação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de suínos.* Rev. Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 15 (1): 045-050, 1978

RESUMO: *Realizou-se estudo comparativo entre as provas de Sabin-Feldman (SF) e Imunofluorescência indireta (IFI) para fins de avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de animais da espécie suína. Foi observada boa concordância entre os resultados obtidos com as duas provas, concordância esta, igual a 96,4%, favorecendo a prova SF. A correlação medida pelo coeficiente de correlação de Spearman calculado com base aos valores dos títulos de anticorpos medidos por ambas as provas, mostrou-se positiva e intensa.*

UNITERMOS: *Toxoplasmose, suínos\*; Imunofluorescência indireta\*.*

## INTRODUÇÃO

Vários são os métodos sorológicos disponíveis para o diagnóstico da infecção toxoplásmica. Dentre eles destacamos: a Fixação de complemento (FC) (NICOLAU e RAVELO<sup>10</sup>, 1937) a prova de Sabin-Feldman (SF) (SABIN e FELDMAN<sup>11</sup>, 1948); o teste da Hemaglutinação (HA) (JACOBS e LUNDE<sup>7</sup>, 1957) e a Imunofluorescência (IF) (GOLDMAN<sup>6</sup>, 1957).

A prova de FC', de acordo com WALTON<sup>17</sup>, 1971, detectaria anticorpos que aparecem tardiamente e persistem por prazo relativamente curto. A HA, segundo o próprio autor, não revela anticorpos tão precocemente quanto a SF, comportando-se deste ponto de vista como a FC' mas, é capaz de detectá-los por tempo

equivalente ao da prova de SF. Portanto, as provas de FC' e HA mediriam anticorpos de natureza diversa que a de SF.

A prova de SF é a de maior tradição e de certa forma considerada como prova de referência, todavia, apresenta as seguintes desvantagens mencionadas por AMATO NETO<sup>1</sup>, 1970:

- pouca prática para a realização de inquéritos sorológicos;
- perigosa, pois, vale-se de Toxoplasma vivo e virulento;
- sofre influência do tamanho do camundongo inoculado para a manutenção da cepa;
- necessita de fator acessório, representado por soro negativo para a Toxoplasma.

\* Professor Livre Docente.

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

GOLDMAN<sup>o</sup>, 1957, verificou intenso paralelismo entre os resultados obtidos pela prova de SF e imunofluorescência indireta (IFI), não se observando qualquer resultado falso positivo pela segunda prova quando comparada à primeira. A maior praticidade da prova de IFI, aprimorada desde então, por diversos pesquisadores como KELEN<sup>8</sup> e cols, 1962; CAMARGO<sup>2</sup> 1961; STADBAEDER<sup>14</sup> 1964; FLETCHER<sup>4</sup> 1965; WALTON<sup>16</sup> e cols, 1966; CHESSUM<sup>3</sup> 1970 e SOLTYS<sup>13</sup> e cols., 1972, vem tendo largo emprego na espécie humana para fins de diagnóstico de inquéritos sorológicos.

Em veterinária, SUZUKI<sup>15</sup> e cols., 1965, avaliaram qualitativamente os resultados obtidos pelas provas de SF e IFI e GARRIDO<sup>5</sup> e cols., 1972, valendo-se da prova de IFI, estudaram a ocorrência de infecção toxoplásmica em suínos.

Todavia, não encontramos na literatura consultada, trabalhos que indiquem o grau de correlação entre os resultados das provas de SF e de IFI, para fins de diagnóstico da infecção toxoplásmica em suínos e destarte, assegurem que ambos os métodos apresentam resultados comparáveis.

Diante do exposto, podemos definir como objeto deste trabalho, comparar o grau de concordância entre os resultados das provas de SF e IFI, para fins de determinação de anticorpos anti-toxoplasma em soros de suínos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### a) Soros:

110 amostras de soros obtidas a partir de sangue de suínos abatidos em matadouro.

### b) Métodos:

b1) *Prova de Sabin-Feldman*, realizada segundo SABIN, A.E. e FELDMAN, H.A.,<sup>11</sup> 1948.

b2) *Prova de Imunofluorescência indireta*, segundo a técnica descrita por CAMARGO, M.E.,<sup>2</sup> 1949, excessão feita ao conjugado, representado por anti-gema-globulina de suíno, preparado em coelho.

## RESULTADOS

Para um primeiro exame do problema, estudamos o comportamento dos soros diante de ambas as provas, classificando-os como positivos ou negativos à prova de IFI.

Consideramos positivos à prova de IFI os soros diluídos, pelo menos a 1:16, apresentassem toxoplasmas fluorescentes. No tocante à prova de SF, registramos como positivos os soros que revelassem 50%, ou mais, de toxoplasmas não corados pelo azul de metileno. Os resultados obtidos figuram na Tabela 1.

TABELA 1. Soros de suínos, segundo resultados das provas de SF e IFI, São Paulo, 1977.

SF \ IFI	REAGENTE	NÃO REAGENTE	TOTAL
REAGENTE	70	0	70
NÃO REAGENTE	4	36	40
TOTAL	74	36	110

O coeficiente de associação de Yule, calculado segundo MARASCUILLO<sup>9</sup>, 1971, para os dados constantes da Tabela 1, mostrou-se igual a 1 (um), sendo que as pro-

vas apresentaram resultados concordantes em 106 soros (96,3%) e discordantes em 4 soros (3,7%), positivos ao SF e negativos a IFI.

O valor de  $\chi^2$ , calculado com base nos resultados da Tabela I, foi igual a 96,04, que comparado ao valor crítico de  $\chi^2$  para um grau de liberdade, é significativo, ultrapassando de muito o valor crítico de  $\chi^2$  para o nível de rejeição adotado igual a 0,05.

Para um segundo exame do problema, estudamos a correlação entre os títulos de anticorpos (recíproca da diluição) dos soros positivos determinados por ambas as provas e os resultados obtidos constam da Tabela II.

TABELA II. Soros de suínos, segundo títulos de anti corpos anti-toxoplasma determinados pelas provas de SF e IFI, São Paulo, 1977.

SF \ IFI	SF					TOTAL
	16	64	256	1000	4000	
NÃO REAGENTE	4					4
16	7	1				8
64	4	8	4			16
256	1	3	10	2		16
1000			1	12		13
4000				3	14	17
TOTAL	16	12	15	17	14	74

Observou-se que dentre os resultados positivos a pelo menos um dos métodos, 68,9% foram concordantes; 29,7% apresentaram discrepância de 1 (um) diluição e apenas 14% se afastaram de 2 (duas) diluições.

Finalmente, procedemos à medida da correlação entre os resultados obtidos com ambas as técnicas, valendo-nos do teste não paramétrico, calculando o coeficiente de correlação de Spearman, segundo SIEGEL<sup>12</sup>, 1956, que, com a correção para os empates forneceu o valor igual a 0,93, indicando a existência de correlação positiva e intensa, entre ambos os métodos. Esta correlação forneceu para a estatística "t" de Student o valor de 21,46, que é significativo ao nível de rejeição adotado, igual a 0,05.

## DISCUSSÃO

A prova de Imunofluorescência indireta (IFI), descrita por CAMARGO<sup>2</sup>, 1964, foi facilmente por nós adaptada para emprego na espécie suína, alterando-se apenas o conjugado, apresentado por anti-gama-globulina de suíno, conjugado ao Isotiocianato de fluoresceína. Todas as etapas da prova de imunofluorescência, seguem de perto à descrita pelo autor acima citado. Estas etapas referem-se ao preparo e manutenção do antígeno, representado por *Toxoplasma gondii* inativado pelo formol e distribuído em lâminas quadriculadas; esquema de inoculação de coelhos com gama globulina de suíno; fracionamento da gama globulina de coelho, sua conjugação ao Isotiocianato de fluoresceína e posterior purificação e titulação.

Os resultados apresentados na Tabela 1 demonstram existir boa concordância entre os resultados obtidos com as provas de SF e IFI, concordância esta igual a 96,4%. Os resultados discrepantes, favoráveis em 4 soros com título de anticorpos situados no limiar do critério adotado para considerá-los positivos, ou seja, 1:16, como se pode verificar na Tabela II.

O coeficiente de correlação de Spearman, calculados com os dados da Tabela 2, mostra estreita correlação entre as provas de SF e IFI, autorizando, portanto, o emprego desta última para fins de inquéritos sorológicos na espécie suína.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos no presente trabalho permite concluir que a prova de IFI aplicada a soros de suínos nos oferece resultados comparáveis aos obtidos pela prova de SF possibilitando, assim, o seu uso para fins de levantamento epidemiológicos.

## AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Omar Miguel por nos ter concedido fatos acessórios para fins de execução deste trabalho.

RFMV-A/6

ISHIZUKA, M.M. *Comparative study between the Sabin-Feldman and indirect fluorescent antibody techniques for the anti-toxoplasma antibodies evaluation in swine serum.* Fac. Med. Vet. Zootec. Univ. S. Paulo. 15 (1):045-050, 1978

SUMMARY: *There was performed comparative study between the Sabin-Feldman and indirect fluorescent antibody techniques for the anti-toxoplasma antibodies evaluation in swine serum. The value of the agreement of the results obtained by the two techniques was 96,4% and the disagreement of 3,70% was favorable to the SF test. The correlation among the values of anti-toxoplasma antibody levels, calculated by the Spearman correlation coefficient was positive and of high intensity.*

UNITERMS: *Toxoplasmosis, swines\*; Immunofluorescent indirect\*.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - AMATO NETTO, V. & CAMPOS, R. *Toxoplasmosis* 2 ed., São Paulo, Ateneu, 1970.
- 2 - CAMARGO, M.E. Improved technique of indirect immunofluorescence for serological diagnosis of toxoplasmosis. *Rev.Inst.Med.trop.São Paulo*, 6: 117-8, 1964.
- 3 - CHESSUM, B.S. Examination of sera for toxoplasmosis antibody using immunofluorescence. *J.med.Lab.Techol.*, 27: 49-54, 1970.
- 4 - FLETCHER, S. Indirect fluorescent antibody technique in the serology of *Toxoplasma gondii*. *J.clin.Path.*, 18: 193-9, 1965.
- 5 - GARRIDO, J.; BOVEDA, I.C.; SALINAS, V.M.; QUESADA, A. S. Estudios sobre la epidemiologia de la toxoplasmosis. La infección entre los animales de consumo. Encuestas sorológicas em Madrid mediante la reacción de inmunofluorescencia. *Med.trop. Madrid*, 48: 11-23, 1972.
- 6 - GOLDMAN, M. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein labelled antibody. *J.exp.Med.*, 105: 557-73, 1957.
- 7 - JACOBS, L. & LUNDE, M.N. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasit.*, 43: 308-14, 1957.
- 8 - KELEN, A.E.; AYLLON-LEINOL, L.; LABZOFFSKY, N.A. Indirect fluorescent antibody method in sero diagnosis of toxoplasmosis. *Cand.J. Microbiol.* 8: 545-54, 1962.
- 9 - MARASCUILLO, L.A. *Statistical methods for behavioral science research.* New York, MacGraw Hill, 1971.

- 10 – NICOLAU, S. & RAVELO, A. Réactions de fixation du complement dans le serum et les extracts d'organes d'animaux atteints de toxoplasmose experimentale. *Bull.Soc. Path.exot.*, 30: 855-9, 1937.
- 11 – SABIN, A.B. & FELDMAN, H.A. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasite (toxoplasma). *Science*, 108: 660-3, 1948.
- 12 – SIEGEL, S. *Non parametric statistics for the behavioral sciences*. New York, MacGrew Hill, 1956.
- 13 – SOLTYS, M.A. & WOO, P.T.K. Immunological method in diagnosis of protozoan diseases in man and domestic animals. *Z.Tropen med.Paradit.*, 23: 172-87, 1972.
- 14 – STADBAEDER, S.; TELLIER-VERHEYDEN, N.; WEBER, M. Diagnostic serologique de la toxoplasmose par immunofluorescence. *Acta clin.belg.*, 19: 161-6, 1964.
- 15 – SUZUKI, K.; SUTO, T.; FUJITA, J. Serological diagnosis of toxoplasmosis by the indirect immunofluorescence staining *Nat.Inst.Anim.Hlth.Quart.*, 5: 73-85, 1965.
- 16 – WALTON, B.C.; BENCHOFF, B.M.; BROOKS, W.H. Comparison of the indirect fluorescent antibody test and methylene blue dye test detection of antibodies to *Toxoplasma gondii*. *Amer.J.trop.Med. Hyg.*, 15: 149-52, 1966.
- 17 – WALTON, B.C. *Seroepidemiology of toxoplasmosis*. In: INTERNATIONAL CONGRESS OF PARASITOLOGY. 2, Washington, 1971. *Proceedings*. p. 115-20.

Aprovada para publicação em 04.09.1978