

ANÁLISE DA SENSIBILIDADE DE PROVA DE AGLUTINAÇÃO DIRETA PARA DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE

Benjamin CIMERMAN (1), Vicente AMATO NETO (2), Rubens CAMPOS (3),
Mário E. CAMARGO (4) e Luiz Jacintho da SILVA (5)

RESUMO

Realizaram os Autores estudo relativo à sensibilidade de reação de aglutinação direta para diagnóstico da toxoplasmose. Através de comparação com a prova de imunofluorescência indireta verificaram, como fato fundamental, que ela não revelou pelo menos 7,5% das infecções. Ao ser efetuada correlação com a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência, notaram concordância referente às positividade, mas não quanto aos valores que as traduziram. Tais conclusões demonstraram ser imprudente incorporar esse teste, pelo menos como foi executado, aos trabalhos destinados a reconhecer a vigência de parasitismo pelo *Toxoplasma gondii*, desde que outras evidências, de naturezas clínica, evolutiva, laboratorial e técnica não tornem conveniente modificar essa opinião.

INTRODUÇÃO

Provas sorológicas de diferentes tipos prestam indiscutível apoio ao diagnóstico etiológico de doenças infecciosas e parasitárias e, ultimamente, é perceptível crescente preocupação no sentido de padronizar técnicas cada vez mais simples e executáveis singelamente, sem exigir gastos exagerados. Tais reações podem, como é intensamente desejável, permitir rápidas elucidações e, mormente, a realização de amplos inquéritos populacionais.

No que concerne à toxoplasmose em particular a possibilidade de ficar disponível processo dotado das virtudes citadas está, também, em foco. A preconização do "agglutino-test", que mereceu há pouco apreciação por parte de AMATO NETO & col.², traduziu iniciativa no âmbito dessa ordem de idéias e, agora, uma prova de aglutinação direta de toxoplasmas passou a ser recomendada e "kit" a ela correspondente encontra-se, inclusive,

comercializado no Brasil e em vários países. Esse teste, de início proposto por FULTON & TURK⁷, não foi logo usado nos trabalhos rotineiros em face à dificuldade relativa à obtenção de suspensões com quantidades adequadas do protozoário; depois, sobretudo em virtude da colaboração de COUZINEAU & BAUFINE-DUCROCQ⁴, tornou-se viável supplantar esse obstáculo e o recurso laboratorial em apreço começou a sofrer mais comum emprego (FULTON⁶; FULTON & VOLLER⁸; COUZINEAU & col.⁵; PELOUX & col.¹⁰).

Como decorrência de nosso interesse alusivo a múltiplos aspectos referentes à toxoplasmose, decidimos empreender estudo sobre a sensibilidade dessa prova já adotada em muitos ambientes e, neles, representativa da base do diagnóstico da infecção motivada pelo *Toxoplasma gondii*.

Universidade de São Paulo. Departamento de Parasitologia, do Instituto de Ciências Biomédicas, e Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia, da Faculdade de Medicina, São Paulo, Brasil

- (1) Assistente da Disciplina de Parasitologia Médica, da Faculdade de Medicina, da Universidade de Mogi das Cruzes
- (2) Assistente-docente do Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia
- (3) Professor Adjunto do Departamento de Parasitologia
- (4) Assistente-doutor, Chefe da Seção de Imunologia, do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (5) Médico-residente (R2) do Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia

MATERIAL E MÉTODOS

Usamos 41 amostras de sangue, retiradas de 36 pessoas em jejum, no decurso de tarefas destinadas a reconhecer acometimentos toxoplasmóticos ou a estabelecer controles evolutivos; quatro participaram em mais de uma oportunidade (A. B. N., n.ºs 16, 19 e 24; A. A. F., n.ºs 18 e 27; F. F., n.ºs 21 e 25; S. M. R. S., n.ºs 22 e 28). Executamos a prova de aglutinação direta respeitando as diretrizes indicadas pela firma fabricante (*) e os prazos de validade anotados. Para empreender as comparações sistematicamente levamos a efeito a prova de imunofluorescência indireta e a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência (CAMARGO³; AMATO NETO & col.¹). Aproveitamos os soros pouco após terem sido eles convenientemente obtidos ou realizamos os exames em seguida à conservação por poucos dias em geladeira.

À aglutinação recorremos a soro diluído a 1/2, 1/4, 1/8, 1/6 e assim por diante, com cifras correspondentes a múltiplos de dois. Aos

(*) «B-D Mérieux»

exames que envolvem imunofluorescência, adotamos os valores costumeiros de 1/16, 1/256, 1/1.000, 1/4.000, 1/8.000 e, depois, sempre em dobro. Para expressar os resultados, desde 1/1.000 simplificamos os números, indicando-os como 1/2.000, 1/4.000, 1/8.000, 1/16.000 e da mesma forma subseqüentemente.

RESULTADOS

As nossas verificações estão consignadas nos Quadros I e II e, para facilitar as interpretações, organizamos os Quadros III e IV.

DISCUSSÃO

Sem computar elementos de natureza clínica e considerando puramente os números proporcionados pelas provas sorológicas, notamos como dedução básica que o processo fundamentado na aglutinação direta deixou, indubitavelmente, de diagnosticar 7,5% das infecções toxoplasmóticas. Essa taxa fica mais relevante se lembrarmos que à imunofluorescência indireta a diluição menos elevada, à efetivação do exame, foi a de 1/16. Quando este método evidenciou negatividade e o outro, ao contrário, revelou fato diverso em 10%

Q U A D R O I

Estudo comparativo entre reações de aglutinação direta (AD) e de imunofluorescência indireta (IF) para diagnóstico da toxoplasmose: resultados obtidos relativamente aos soros utilizados

Casuística	AD	IF	Casuística	AD	IF
1 — L.A.	1/64	1/256	22 — S.M.R.S.	1/1.000	1/32.000
2 — E.C.V.	1/128	1/256	23 — W.I.S.	1/1.000	1/4.000
3 — E.C.X.G.	1/4.000	1/4.000	24 — A.B.N.	1/4.000	1/4.000
4 — J.C.S.	1/256	1/256	25 — F.F.	1/16.000	1/64.000
5 — O.U.	1/2.000	1/1.000	26 — D.M.	1/128	1/8.000
6 — E.G.	1/4.000	1/1.000	27 — A.A.F.	1/128	1/8.000
7 — A.S.	1/2.000	1/1.000	28 — S.M.R.S.	1/128	1/8.000
8 — C.T.M.	1/256	1/256	29 — F.J.N.M.	1/8	1/16.000
9 — N.A.	1/128	1/256	30 — R.B.	1/2.000	1/16.000
10 — M.M.	1/128	1/256	31 — I.M.V.G.	1/32.000	1/64.000
11 — A.M.	1/64	1/1.000	32 — G.N.G.	1/32	1/256
12 — H.O.	1/256	1/256	33 — C.N.M.	1/8.000	1/4.000
13 — C.G.S.	1/128	1/1.000	34 — R.M.	1/8	N
14 — P.L.B.S.	1/32	1/256	35 — V.B.	1/4	N
15 — S.R.	1/128	1/4.000	36 — J.A.S.	1/8	N
16 — A.B.N.	1/128	1/32.000	37 — E.S.	1/32	N
17 — J.M.V.G.	1/128	1/32.000	38 — N.A.C.	N	1/8.000
18 — A.A.F.	1/128	1/16.000	39 — W.L.C.	N	1/256
19 — A.B.N.	1/2.000	1/16.000	40 — R.M.P.	N	1/1.000
20 — P.S.A.	1/4.000	1/8.000	41 — N.S.C.	N	N
21 — F.F.	1/2.000	1/32.000			

N: resultado negativo a 1/2 (AD) ou negativo a 1/16 (IF)

Q U A D R O II

Estudo comparativo entre reação de aglutinação direta (AD) para diagnóstico da toxoplasmose e pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência (IgM): resultados obtidos relativamente aos soros utilizados

Casuística	AD	IgM	Casuística	AD	IgM
1 — L.A.	1/64	N	22 — S.M.R.S.	1/1.000	N
2 — E.C.V.	1/128	N	23 — W.I.S.	1/1.000	N
3 — E.C.X.G.	1/4.000	N	24 — A.B.N.	1/4.000	1/64
4 — J.C.S.	1/256	N	25 — F.F.	1/16.000	N
5 — O.U.	1/2.000	N	26 — D.M.	1/128	1/4.000
6 — E.G.	1/4.000	N	27 — A.A.F.	1/128	1/256
7 — A.S.	1/2.000	N	28 — S.M.R.S.	1/128	1/4.000
8 — C.T.M.	1/256	N	29 — F.J.N.M.	1/8	N
9 — N.A.	1/128	N	30 — R.B.	1/2.000	N
10 — M.M.	1/128	N	31 — J.M.V.G.	1/32.000	1/256
11 — A.M.	1/64	N	32 — G.N.G.	1/32	N
12 — H.G.	1/256	N	33 — C.N.M.	1/8.000	N
13 — C.G.S.	1/128	N	34 — R.M.	1/8	N
14 — P.L.B.S.	1/32	N	35 — V.B.	1/4	N
15 — S.R.	1/128	N	36 — J.A.S.	1/8	N
16 — A.B.N.	1/128	1/4.000	37 — E.S.	1/32	N
17 — I.M.V.G.	1/128	1/4.000	38 — N.A.C.	N	N
18 — A.A.F.	1/128	1/1.000	39 — W.L.C.	N	N
19 — A.B.N.	1/2.000	1/256	40 — R.M.P.	N	N
20 — P.S.A.	1/4.000	N	41 — N.S.C.	N	N
21 — F.F.	1/2.000	N			

N: resultado negativo a 1/2 (AD) ou negativo a 1/16 (IgM)

Q U A D R O III

Estudo comparativo entre reações de aglutinação direta (AD) e de imunofluorescência indireta (IF) para diagnóstico da toxoplasmose: análise global dos resultados obtidos relativamente aos soros utilizados

AD positiva IF positiva	33 (82,5%)
AD negativa IF positiva	3 (7,5%)
AD positiva IF negativa	4 (10,0%)
AD negativa IF negativa	1

Resultado negativo: a 1/2 (AD) ou a 1/16 (IF); as porcentagens foram estabelecidas com base no total de resultados positivos

das oportunidades, essa mesma circunstância referente ao índice inicial não pode deixar de ser valorizada; outrossim, salientamos que as cifras apontadas pela técnica dependente de aglutinação, nessas ocasiões, apresentaram-se sempre baixas, variando de 1/4 a 1/32.

Q U A D R O IV

Estudo comparativo entre reação de aglutinação direta (AD) para diagnóstico da toxoplasmose e pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência (IgM): análise global dos resultados obtidos relativamente aos soros utilizados

AD positiva IgM negativa	28
AD negativa IgM negativa	4
AD negativa IgM positiva	0
AD positiva IgM positiva	9

Resultado negativo: a 1/2 (AD) ou a 1/16 (IgM)

Pela imunofluorescência quase sempre obtivemos positivities maiores, mas preferimos não ressaltar esses pormenores porque reputamos indispensável, para adequadas interpretações, contar com informes de caráter clínico e também ligados às seqüências evo-

lutivas concernentes aos diferentes acometimentos.

Sempre que deparamos com anticorpos IgM antitoxoplasma no soro mostrou-se positiva, de 1/128 a 1/32.000, a reação de aglutinação. Esse comportamento é cogitável, cremos, em trabalhos de ordem prática, por podermos deduzir que eventual resultado negativo não se coaduna com estágio agudo ou de instalação relativamente recente da parasitose.

De modo geral, não percebemos correlações sistemáticas entre os valores registrados e reputamos que para conseguir conclusão final, concernente ao comportamento do teste de aglutinação, torna-se indispensável recorrer a investigação baseada em observações também clínico-evolutivas dos doentes. Só assim outros pormenores a ele inerentes ficarão conhecidos, propiciando talvez maior oportunidade para labores diagnósticos e epidemiológicos, com aproveitamento da qualidade representada pela execução realmente simples.

Escolhemos como parâmetro a técnica de imunofluorescência, sobejamente conhecida e investigada, e quisemos contribuir para melhor conhecimento de outro tipo de exame, realizável sem dificuldade. Entretanto, quanto a ele, é ainda necessário empreender estudos suplementares, pois divergências de opiniões existem até mesmo quanto ao teor de positividade demarcatório de infecção (FULTON⁶; COUZINEAU & col.⁴; COUZINEAU & col.⁵).

KARIM & LUDLAM⁹ são mais otimistas sobre o valor da reação de aglutinação direta. Concluíram que ela conduz a resultados que, em gráfico, acompanham os evidenciados por provas de fixação do complemento, imunofluorescência e Sabin-Feldman, sem que isso tenha-se processado com a hemaglutinação. O estudo, alusivo à toxoplasmose ganglionar e ocular, destacou o óbice constituído pela necessidade de grande número de protozoários, não influente para os fabricantes dos "kits" vendidos no Brasil e que estimularam a avaliação que realizamos.

S U M M A R Y

Analysis of the sensitivity of a direct agglutination test for the diagnosis of toxoplasmosis

The Authors studied the sensitivity of a direct agglutination test for the diagnosis of

toxoplasmosis. When compared with indirect fluorescent antibody test it failed to detect at least 7.5% of positive sera. A qualitative but not quantitative correlation was observed when the test was compared with the IgM-indirect fluorescent antibody test. Such conclusions demonstrated to be unwarranted to include this test, at least with the methodology used, in the routine for the detection of *Toxoplasma gondii* infection, until clinical and laboratory data should modify this opinion.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; CAMARGO, M. E.; MENDONÇA, J. S.; LEVI, G. C. & OSELKA, G. W. — Observações sobre a pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma, por imunofluorescência, no soro de pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 14: 264-272, 1972.
2. AMATO NETO, V.; CAMARGO, M. E.; SILVA, L. J. & ROCCA, A. — Análise da sensibilidade do «agglutinotest» para o diagnóstico da toxoplasmose. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17: 277-282, 1975.
3. CAMARGO, M. E. — Comparative evaluation of toxoplasmosis indirect fluorescent and Sabin-Feldman dye tests in a thousand human sera. A few unexpected results. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 8: 62-68, 1966.
4. COUZINEAU, P. & BAUFINE-DUCROCQ, H. — Agglutination direct des toxoplasmes. Préparation de l'antigène et examen de 400 sérums. *Ann. Biol. Clin.* 28: 411-415, 1970.
5. COUZINEAU, P.; BAUFINE-DUCROCQ, H.; PELOUX, Y. & DESMONTS, G. — Le séro-diagnostic de la toxoplasmose par agglutination directe. *Nouv. Presse Méd.* 2: 1604-1606, 1973.
6. FULTON, J. D. — Studies on agglutination of *Toxoplasma gondii*. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 59: 694-704, 1965.
7. FULTON, J. D. & TURK, J. L. — Direct agglutination test for *Toxoplasma gondii*. *Lancet* 2: 1068-1069, 1959.
8. FULTON, J. D. & VOLLER, A. — Evaluation of immunofluorescent and direct agglutination methods for detection of specific *Toxoplasma* antibodies. *Brit. Med. J.* 2: 1173-1175, 1964.
9. KARIM, K. A. & LUDLAM, G. B. — The relationship and significance of antibody titres as determined by various serological methods in glandular and ocular toxoplasmosis. *J. Clin. Path.* 28: 42-49, 1975.
10. PELOUX, Y.; COUZINEAU, P.; BAUFINE-DUCROCQ, H.; TAYOT, J.-L. & JACQUOT, D. — La réaction d'agglutination direct des toxoplasmes. Rôle des immunoglobulines 19S et 7S. Note préliminaire. *Ann. Biol. Clin.* 31: 185-192, 1973.

Recebido para publicação em 7/11/1975.