

## AValiação DA PROVA DE HEMAGLUTINAÇÃO PASSIVA NO DIAGNÓSTICO DA LEPTOSPIROSE HUMANA EM DIVERSOS PERÍODOS EVOLUTIVOS DA DOENÇA \*

Maricy Alves RIBEIRO \*\*  
Zélia Maria de Oliveira CAVALCANTE \*\*\*  
Deíza Márcia LOPES \*\*  
Raquel Bellinati Robert PIRES \*\*  
Márcia de Souza Carvalho MELHEM \*\*  
Antonella GODANO \*\*  
Massami KAWARABAYASHI \*\*  
Thais Helena Sampaio VIANNA \*\*

RIALA6/594

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANNA, T.H.S. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos períodos evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

**RESUMO:** Foram realizadas provas de hemaglutinação passiva em amostras séricas de 189 pacientes com leptospirose, distribuídas quanto ao período decorrido após início dos sintomas. Os resultados foram comparados aos obtidos com a prova de referência, a soroaglutinação microscópica. A hemaglutinação passiva revelou, na primeira amostra examinada, maior número de resultados positivos, estatisticamente significativa, a nível de 1%, no intervalo de 6 a 10 dias de doença, quando comparada à soroaglutinação. Nos demais intervalos, os valores diagnósticos das provas foram aceitos como iguais. Os resultados sugerem que a prova de hemaglutinação passiva pode ser empregada no acompanhamento sorológico, como subsídio no estabelecimento do estágio da infecção leptospirótica.

**DESCRIPTORIOS:** leptospirose humana, imunodiagnóstico; prova de hemaglutinação passiva.

### INTRODUÇÃO

O confronto de métodos utilizados no diagnóstico da leptospirose humana se faz necessário à medida em que se deseja incorporar à prática novas provas, atendendo-se à adequação dos laboratórios.

Em estudos anteriores<sup>5,7</sup>, tivemos a oportunidade de verificar que há associação entre os resultados obtidos com a prova de hemaglutinação passiva (HAP) e com a prova-padrão recomendada pela Organização Mundial de Saúde<sup>4</sup>, a soroaglutinação microscópica (SAM).

SULZER *et alii*<sup>8</sup> avaliaram a prova de HAP no diagnóstico da leptospirose humana e não chegaram a concluir a respeito da

prova mais adequada em cada estágio da doença.

Neste trabalho estudou-se a prova de HAP comparativamente à SAM, em amostras séricas de pacientes com leptospirose comprovada clínica, epidemiológica ou laboratorialmente, tendo como objetivos: verificar seu valor diagnóstico em diferentes intervalos de dias de doença e avaliar sua contribuição no acompanhamento sorológico da infecção leptospirótica.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### *Soros analisados*

Foram analisadas amostras séricas de 189 pacientes com leptospirose, internados no Hos-

\* Realizado no Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, SP.

\*\* Do Instituto Adolfo Lutz.

\*\*\* Do Instituto de Saúde, São Paulo.

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANNA, T.H.S. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos períodos evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

pital de Isolamento Emílio Ribas de São Paulo, no período de janeiro a abril de 1983. As informações a respeito da comprovação clínica, epidemiológica ou laboratorial, bem como a data do início dos sintomas, foram obtidas no Centro de Informações de Saúde do Estado de São Paulo. Duas ou mais amostras de 105 pacientes foram utilizadas na análise da evolução dos títulos.

#### Soroaglutinação microscópica

A prova de soroaglutinação microscópica foi realizada com 9 sorotipos patogênicos e 1 saprófita, conforme descrito em RIBEIRO *et alii*<sup>7</sup>. Foram considerados significativos títulos maiores ou iguais a 100, denominados positivos. Para o acompanhamento sorológico foram considerados os títulos obtidos nas reações com os sorotipos presumivelmente homólogos.

#### Hemaglutinação passiva

A prova de hemaglutinação passiva foi realizada empregando-se eritrócitos de carneiro fixados com glutaraldeído e sensibilizados com antígeno polissacarídico<sup>3</sup> F, do sorotipo *patoc* Patoc I, conforme metodologia descrita em RIBEIRO *et alii*<sup>8</sup>. Foram considerados significativos, mencionados como positivos, os títulos maiores ou iguais a 128, bem como os casos com diferença de duas ou mais diluições entre duas amostras seriadas. A sistemática para a interpretação dessa prova foi alicerçada nos parâmetros de con-

cordância e sensibilidade, descritos em BUCK *et alii*<sup>2</sup>.

#### Análise estatística

Na análise estatística dos resultados obtidos com as provas sorológicas, aplicou-se o teste de duas proporções para populações não independentes. No estudo da evolução dos níveis de anticorpos obtidos nas provas de HAP e SAM, calculou-se a média geométrica dos títulos para cada intervalo de dias de doença, conforme metodologia descrita em AMBROISE-THOMAS<sup>1</sup>.

### RESULTADOS

Considerou-se, para efeito de análise, a soroaglutinação microscópica como padrão. Os pacientes com sorologia positiva nesta prova foram designados "comprovados laboratorialmente". Desse modo, dos 189 pacientes analisados por ambas as provas, 152 (80,42%) foram comprovados laboratorialmente e apenas 37 (19,58%) foram confirmados somente através de dados clínicos e epidemiológicos compatíveis com a leptospirose (tabela 1).

A sensibilidade das provas de HAP e SAM foi de respectivamente 79,89% e 80,42% e a concordância entre ambas foi de 88,89%.

Na tabela 2 encontra-se a distribuição dos 152 pacientes, indicando-se o intervalo de tempo decorrido desde o início dos sintomas até a primeira sorologia positiva.

TABELA 1

Distribuição dos pacientes segundo as conclusões diagnósticas obtidas nas provas de HAP e SAM, após acompanhamento sorológico

SAM \ HAP	HAP		Total n.º (%)
	Positiva n.º (%)	Negativa n.º (%)	
Positivo	141 (74,6)	11 (5,82)	152 (80,42)
Negativo	10 (5,29)	27 (14,29)	37 (19,58)
Total	151 (79,89)	38 (20,11)	189 (100)

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANNA, T.H.S. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos períodos evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

TABELA 2

*Distribuição dos pacientes com leptospirose, segundo o intervalo de dias da doença em que foi acusada a primeira sorologia positiva nas provas de SAM e HAP*

Intervalo (dias)		1 — 5	6 — 10	11 — 15	16 — 20	21 — 25	26 — 30	31 — 35	≥ 36	Total
		Positividade								
Precoce	HAP	7	20	3	1	1	—	—	—	32
	SAM	6	6	2	—	1	1	—	1	17
Simultânea		10	55	14	11	6	3	3	1	103
Total		23	81	19	12	8	4	3	2	152

(—) = Não houve pacientes neste intervalo.

Verificou-se que em 103 casos (67,76%) a positividade sorológica ocorreu simultaneamente nas provas de HAP e SAM. Em 32 pacientes (21,05%) a prova de HAP antecipou resultados positivos em relação à SAM, enquanto que em 17 casos (11,18%) a SAM antecipou sorologia positiva.

Aplicando-se o teste de proporções para cada intervalo, encontrou-se que no intervalo de 6 a 10 dias de doença as duas provas não podem ser consideradas iguais, ao nível de significância de 1% com 1 grau de liberdade ( $\chi^2 = 6,635$  e  $U = 7,475$ ).

Na tabela 3 estão representadas as médias geométricas dos títulos de anticorpos obtidos nas provas de HAP e SAM em cada intervalo

de dias de doença. Cumpre lembrar que as diluições dos soros foram realizadas somente até 1/4.096 na prova de HAP e 1/12.800 na SAM, devido serem estas diluições utilizadas na rotina laboratorial. Foram analisadas amostras coletadas até o máximo de 35 dias em virtude de não se dispor de número suficiente de soros, após esse período.

Conforme ilustrado nas figuras 1 e 2, verificou-se que houve ascensão dos títulos obtidos na prova de HAP até o intervalo de 11 a 15 dias, tendendo à manutenção ou queda nos períodos subseqüentes. A prova de SAM, por sua vez, apresentou títulos com tendência crescente em todos os intervalos analisados.

TABELA 3

*Distribuição da média geométrica dos títulos obtidos nas provas de HAP e SAM em cada intervalo de dias de doença*

Intervalo (dias)		1 — 5	6 — 10	11 — 15	16 — 20	21 — 25	26 — 30	31 — 35
Média geométrica dos títulos								
HAP		8,49	253,24	622,21	523,97	490,93	279,17	290,38
SAM		3,98	44,19	120,25	362,90	349,81	1181,45	2058,63

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANNA, T.H.S. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos períodos evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

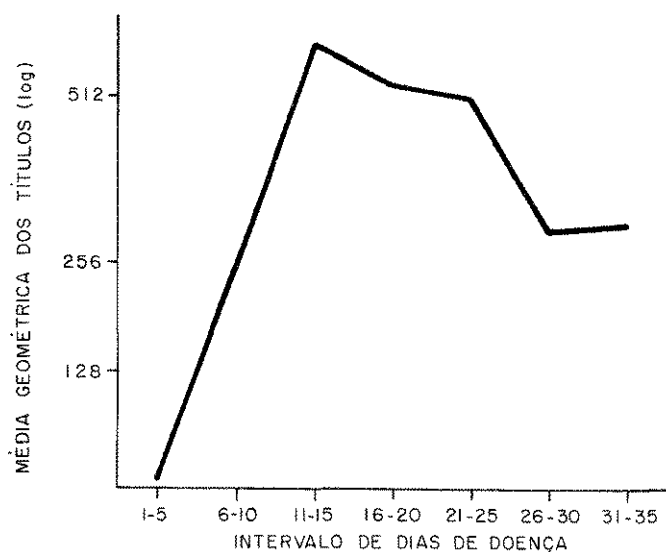


FIGURA 1 — Distribuição das médias geométricas dos títulos de anticorpos obtidos na prova de HAP em intervalos de dias de doença.

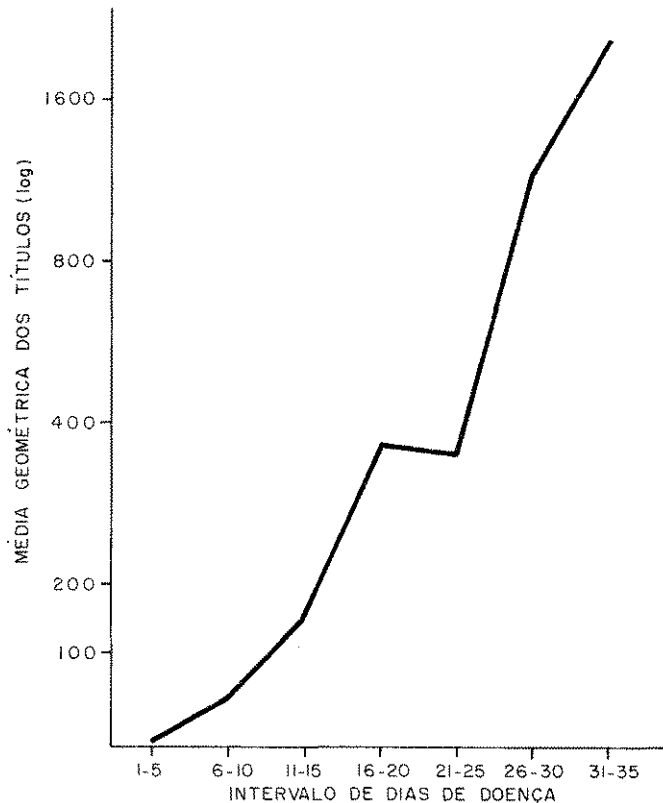


FIGURA 2 — Distribuição das médias geométricas dos títulos de anticorpos obtidos na prova de SAM em intervalos de dias de doença.

## DISCUSSÃO

No presente estudo, avaliando-se a prova de HAP, comparativamente à prova de SAM, encontrou-se alto grau de concordância (88,89%) após seguimento sorológico dos 189 pacientes. Quanto à sensibilidade da HAP, concluiu-se que esta prova detectou corretamente 79,89% dos casos confirmados de leptospirose, valor esse muito próximo ao obtido na prova de SAM (80,42%).

Em investigação inicial<sup>7</sup>, objetivando analisar a prova de HAP, pesquisou-se em 38 pacientes com leptospirose, onde os critérios de positividade para as provas de HAP e SAM foram, respectivamente, títulos  $\geq 32$  e  $\geq 200$ . Considerou-se, posteriormente, que os valores então adotados foram muito rigorosos para a prova de SAM e muito abrangentes para a HAP, fatores esses que conferiram à prova de HAP precocidade diagnóstica no período de 2 a 10 dias após o início dos sintomas.

Num segundo estudo<sup>8</sup> que abrangeu amostras séricas de 192 pacientes, não houve precocidade em nenhuma das provas, possivelmente devido à falta de informações a respeito do tempo decorrido após o início dos sintomas.

A análise dos resultados obtidos na presente investigação permitiu verificar que, no intervalo de 6 a 10 dias, a prova de HAP apresentou número superior de resultados po-

sitivos, estatisticamente significante, quando comparada à SAM. Deste modo, pode-se concluir que a prova de HAP foi a mais indicada para o diagnóstico de infecção leptospirótica nesse intervalo. Outrossim, para os demais intervalos, o valor diagnóstico de ambas as provas sorológicas foram aceitos como iguais. Cumpre informar, entretanto, que o número de exames realizados no período de 6 a 10 dias foi superior aos demais, o que permite supor que com o aumento das amostras nos diferentes intervalos poder-se-ia identificar outros períodos que destacassem o emprego mais adequado de uma das provas.

No acompanhamento sorológico dos pacientes com leptospirose, a prova de HAP demonstrou títulos em manutenção ou declínio já no intervalo de 16 a 35 dias de doença, enquanto nesse período os títulos da SAM tendiam à ascensão. Conclui-se, pois, que os resultados da prova de HAP, aliados aos aspectos clínicos, constituem melhor subsídio, comparativamente à SAM, no estabelecimento da fase evolutiva da doença leptospirótica.

## Agradecimentos

Ao Dr. Marcelo Oswaldo Álvares Corrêa, pela orientação e estímulo valiosos na elaboração deste trabalho, e à Dra. Marina Ortolan Pereira, pela manutenção e fornecimento das cêpas de *Leptospira*.

RIALAG/594

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M. & VIANNA, T.H.S. — Passive hemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis in some stages of illness. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

ABSTRACT: Passive hemagglutination test was performed in sera from 189 patients suffering from leptospirosis. Sera were distributed into groups according to stages of illness. The results were compared with those obtained from the reference test (microscopic agglutination test). At the sixth to tenth days of illness, the largest number of positive results in the first sample were demonstrated by hemagglutination test, statistically significant at 1% level. The results suggest that passive hemagglutination test can be employed for serological follow-up of the various stages of leptospirosis.

DESCRIPTORS: leptospirosis, human, immunodiagnosis; passive hemagglutination test.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMBROISE-THOMAS, P. — *Étude séro-immunologique de dix parasitoses par les techniques d'immuno-fluorescence*. Lyon, 1969. 645 p. [Thèse — Institut de Médecine et d'Hygiène Tropicales, Faculté de Médecine de Lyon]
2. BUCK, A.A. & GART, J.J. — Comparison of a screening test and a reference test in epidemiologic studies. I. Indices of agreement and their relation to prevalence. *Amer. J. Epidemiol.*, 83:586-92, 1966.
3. FAINE, S.; ADLER, B. & PALIT, A. — Chemical, serological and biological properties of a serotype-specific polysaccharide antigen in *Leptospira*. *Aust. J. exp. Biol. Med. Sci.*, 52:311-9, 1974.

RIBEIRO, M.A.; CAVALCANTE, Z.M.O.; LOPES, D.M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; VIANNA, T.H.S. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana em diversos períodos evolutivos da doença. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 45(1/2):37-42, 1985.

---

4. ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ — Group d'experts de l'OMS. *Problemes actuels des recherches sur la leptospirose*. Moscou, 1966. *Rapport*. Gineve, 1967. (Ser. rapp. techn. n.º 380).
5. RIBEIRO, M.A.; GODANO, A.; KAWARABAYASHI, M.; PIRES, R.B.R.; MELHEM, M.S.C.; VIANNA, T.H.S. & CAVALCANTE, Z.M.O. — Avaliação da prova de hemaglutinação passiva no diagnóstico da leptospirose humana. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 44(1):35-40, 1984.
6. RIBEIRO, M.A.; KAWARABAYASHI, M. & TAKEDA, A.K. — Imunodiagnóstico da leptospirose humana. 1. Antígeno polissacarídico para a prova de hemaglutinação passiva. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:127-33, 1981.
7. RIBEIRO, M.A.; KAWARABAYASHI, M.; YAMADA, L.K.; TAKEDA, A.K. & CORRÊA, M.O.A. — Imunodiagnóstico de leptospirose humana. 2. Estudo comparativo das reações de soroprecipitação microscópica, hemaglutinação passiva e imunofluorescência indireta. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 41:135-43, 1981.
8. SULZER, C.R.; GLOSSER, J.W.; ROGERS, F.; JONES, W.L. & FRIK, M. — Evaluation of an indirect hemagglutination test for the diagnosis of human leptospirosis. *J. clin. Microbiol.*, 2:218-21, 1975.

*Recebido para publicação em 6 de junho de 1984.*