

INCIDÊNCIA DE REAGENTES À PROVA DA IMUNOFLUORESCÊNCIA INDIRETA PARA O DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE ENTRE DOADORES DE SANGUE EM SÃO PAULO ⁽¹⁾

THE INCIDENCE OF REAGENTS TO INDIRECT IMMUNOFLUORESCENCE TEST
FOR DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS AMONG BLOOD DONORS
IN SÃO PAULO, BRAZIL

SABURO HYAKUTAKE ⁽²⁾
MARCELO OSWALDO ALVARES CORRÊA ⁽²⁾

SUMMARY

The authors checked through the indirect immunofluorescence test for diagnosis of toxoplasmosis, samples of 270 blood donors from different blood banks in São Paulo, to obtain source of "accessory factor". They verified high incidence of reagents, mainly when compared with previous findings obtained by Nussenzweig in 1957 in our environment, who found 28,74% of incidence of non reagents in blood donors, while in this paper is reported only 4,08% of non reagents, so as the incidence of high titers was greater.

Critical and comparative studies with similar investigations done in Roma, São Paulo and Belo Horizonte, were made.

INTRODUÇÃO

Ao coletarmos amostras de sangue de 270 doadores assim considerados por diferentes "Bancos de sangue", não era nossa intenção fazer o levantamento do número de reagentes para detecção de anticorpos anti-toxoplasma mas sim a de selecionar um grupo de doadores considerados como não reagentes para dentre eles conseguir fontes de "fator acessório". Este intento não foi logrado pois dentre os não reagentes nem um só apresentou o referido fator.

Impressionados pela alta incidência de reagentes, máxime em se comparando com os resultados previamente obtidos, em nosso meio, em doadores de sangue do Hospital da Clínicas, por NUSSENZWEIG ⁶, pareceu-nos de bom alvitre publicar os dados que obtivemos atribuindo-lhes sobretudo o caráter ilustrativo das incidências de anticorpos anti-toxoplasma entre doadores de sangue em nosso meio. A propósito deve ser referido o achado de AMATO NETO et. al. ¹ que isolaram *Toxo-*

plasma gondii do sangue de doador do Hospital das Clínicas de São Paulo.

MATERIAL E MÉTODOS

A amostra de sangue foi retirada por punção venosa; separado o soro, era o mesmo submetido à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico de toxoplasmose de acôrco com a técnica descrita por CAMARGO ⁸ ligeiramente modificada por Hyakutake. Segundo a experiência deste autor, os resultados obtidos na prova de imunofluorescência indireta são superponíveis, até cerca de 98%, àqueles da prova de Sabin-Feldman. As modificações introduzidas por Hyakutake na técnica da reação são as seguintes:

1) Com referência ao tempo da reação antígeno-anticorpo, preferimos incubar as lâminas da reação durante meia hora à temperatura de 37°C dentro da câmara úmida, em vez de uma hora a 37°C.

(1) Trabalho apresentado ao 18.º Congresso Brasileiro de Higiene, São Paulo, S.P., de 26 a 31 de outubro de 1970.

(2) Do Instituto Adolfo Lutz.

2) A observação da lâmina no microscópio de fluorescência é feita através de tubo monocular, pois o binocular acarretaria 40% de redução da luminosidade da imagem.

3) Na preparação de antígeno, em vez de usar a centrifugação diferenciada, isto é, o uso de baixa rotação para sedimentar os leucócitos (GOLDMAN⁴), antes de formulação do antígeno, rompemos os leucócitos utilizando uma seringa munida de agulha BD n.º 3 ou n.º 4 (US n.º 27 ou 30), com a qual praticamos a expulsão e aspiração do exsudato, repetindo de 10 a 15 vezes a manobra.

4) Para a titulação do conjugado escolhemos um soro reagente padrão, ou melhor, um soro reagente de título estável conhecido

obtido através da reação de Sabin-Feldman, como por exemplo um soro de título 1:1024. Com este soro fazemos as diluições sucessivas a partir de 1:16, obtendo assim as diluições de 1:512, 1:1024 e 1:2048 distribuídas cada uma delas em uma lâmina quadriculada e incubamos meia hora a 37°C. Em seguida, preparamos as diluições sucessivas do conjugado a testar, isto é, as diluições de 1:16, 1:32, 1:64, 1:128, 1:256, 1:512 e 1:1024 e distribuímos sobre as três lâminas das diluições mencionadas do soro padrão. Feita a leitura elegemos como título do conjugado aquela diluição que apresenta fluorescência de média intensidade (++)).

O quadro abaixo ilustra uma titulação em que o título do conjugado foi de 1:128.

Conj. \ Soro	1:16	1:32	1:64	1:128	1:256	1:512	1:1024
1:512	++++	++++	+++	++	+	neg.	neg.
1:1024	++++	++++	+++	++	+	+	neg.
1:2048	+	+	neg.	neg.	neg.	neg.	neg.

RESULTADOS, DISCUSSÕES E CONCLUSÕES

No quadro I estão discriminados os dados obtidos entre duzentos e setenta doadores de dois Bancos de Sangue particulares, de acordo com a idade e de acordo com o título alcançado.

A comparação do quadro I do nosso trabalho, com o quadro de NUSSENZWEIG⁶, mostra de início uma incidência de reagentes a títulos considerados elevados muito maior em nosso inquérito. Com efeito, ao título de 1:1024 obtivemos 34% de reagente enquanto que Nussenzweig obteve apenas 3,29%; este autor obteve apenas 0,29% de incidência para título maior de 1:4096 (um caso a 1:16.384), enquanto obtivemos 21,8% ao título de 1:8000 e 0,7% a 1:16.384.

No quadro I figuram na segunda coluna os títulos menores de 1:256 que discrimina-

mos com maior detalhe no quadro II a fim de tornar possível a comparação com os dados de Nussenzweig.

Enquanto Nussenzweig obteve em nosso meio em 1957 a incidência de 28,74% de não reagentes na mesma categoria de pacientes examinados ou seja, doadores de sangue, encontramos apenas 4,08% em nosso material examinado em 1969. Como aquele autor não utilizou a diluição 1:32 passando de 1:16 para 1:64, onde encontrou a incidência de 30,13%, computamos neste título aqueles casos que se mostraram reagentes a 1:32, resultando pois sob aquela cifra o número de 33 casos correspondendo a 12,2%. Finalmente, ao título de 1:256 Nussenzweig obteve 13,47% de reagentes enquanto nossos resultados alcançaram 11,8%, para o mesmo título.

É discutível o critério de positividade ou melhor, de reagência para esta ou aquela

QUADRO I

Grupo etário	Número examinado	Títulos da imunofluorescência indireta						
		Não re-agente	< 1:256	1:256	1:1 024	1:4 000	1:8 000	1:16 000
18 a 30	175	9	27	21	55	43	18	2
31 a 40	68	2	16	6	27	11	6	0
41 a 50	16	0	5	2	5	3	1	0
> de 51	11	0	0	3	5	2	1	0
Total	270	11	48	32	92	59	26	2
Porcentagem	100	4	17,7	11,8	34	21,8	9,6	0,7

QUADRO II

Discriminação dos casos de título menor que 1:256.

Grupo etário	Número examinado	Títulos obtidos em 59 casos			
		Negativos	1:16	1:32	1:64
18 a 30	36	9	11	10	6
31 a 40	18	2	3	6	7
41 a 50	5	0	1	1	3
51 a 60	0	0	0	0	0
Total	59	11	15	17	16

diluição; em outras palavras, é muito variável para os diferentes autores de diferentes países o critério de positividade ou de delimitação destas categorias de dados:

- 1 — aqueles considerados não reagentes ou absolutamente negativos;
- 2 — aqueles considerados reagentes cuja significação seria a de uma cicatriz imunológica;
- 3 — aqueles reagentes cujos títulos traduziriam doenças em atividade, particu-

larmente quando disponíveis duas ou mais amostras colhidas em períodos de tempo variáveis.

Quaisquer que sejam os critérios adotados para individualizar títulos significativos críticos, fica evidente que houve radical mudança em nosso meio na categoria de doadores de sangue. Com efeito houve aumento indiscutível no número de reagentes dentro das diferentes parcelas definidas pelos títulos utilizados no levantamento por nós efetuado em 1969, quando comparados com os resultados de Nussenzweig efetuados em 1957

dentro da mesma categoria por assim dizer profissional.

Para fins comparativos, podemos utilizar os dados da Tabela 2 de JAMRA⁵, que efetuou um inquérito sobre toxoplasmose entre moradores de uma área da cidade de São Paulo (1961-62) considerando-se apenas os dados correspondentes aos grupos etários de mais de 20 anos: dentre 209 soros de pessoas examinadas foram encontrados 173 com título de Sabin-Feldman igual ou maior que 1:16, ou seja aproximadamente uma incidência percentual de 82,7 na amostra considerada.

Em Roma, ZARDI et al.⁷ encontraram 33,15% (250 casos) de reagentes dentre 754 doadores de sangue e 56,2 de reagentes dentre não doadores, o que parece demonstrar que em Roma, em face dos exames médicos de critérios rígidos para os doadores de sangue, ocorre seleção de rigidez física. Em nosso meio, dentro do critério comparativo, ocorre cerca de 96% de positividade explicável quer pelo baixo nível econômico-social dos doadores examinados quer pela inoperante ou inexistente seleção médica prévia, que deveria ser aplicada como mínimo de garantia exigível.

Quando já estava redigido este artigo, tomamos conhecimento do trabalho de ARAUJO² no qual expõe os resultados das reações de Sabin-Feldman e imunofluorescência indireta em 729 amostras de soro provenientes de doadores de sangue em Belo Horizonte. Em todos os testes, considerando a diluição do soro de 1:16 ou mais como título indicativo de infecção pelo *Toxoplasma gondii*, foram detectados 371 reagentes alcançando o percentual de 50,3%.

RESUMO

Os autores examinaram, através da prova de imunofluorescência indireta para o diagnóstico de toxoplasmose, amostras de sangue de 270 doadores de diferentes bancos de sangue em São Paulo, a fim de conseguir fontes de "fator acessório", verificando alta inci-

dência de reagentes, máxime em se comparando com os resultados previamente obtidos em nosso meio por Nussenzweig. Este autor em 1957 encontrou a incidência de 28,74% de não reagentes, em doadores de sangue, enquanto que os autores encontraram apenas 4,08% de não reagentes, assim como incidência quantitativamente maior de títulos diagnósticos elevados. Foi efetuado estudo crítico comparativo com inquéritos semelhantes realizados em Roma, São Paulo e Belo Horizonte.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; COTRIM, J. X.; LAUS, W. C. & GOMES, M. C. O. — Nota sobre o encontro de *Toxoplasma gondii* em sangue destinado a transfusão. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 5:69-9, 1963.
2. ARAUJO, F. G. — Anticorpos anti-*Toxoplasma gondii* em doadores de sangue. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 12:105-11, 1970.
3. CAMARGO, M. E. — Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta, para a toxoplasmose, em 1000 soros humanos. Comportamento anômalo em alguns soros. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 24:1-26, 1964.
4. GOLDMAN, M. — Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein labelled antibody. 1. The reaction in smears of peritoneal exudate. *J. Exp. Med.*, 105:549-556, 1957.
5. JAMRA, L. N. F. — Contribuição para a epidemiologia da toxoplasmose. Inquérito em 100 famílias de uma área da cidade de São Paulo. Tese. Fac. Med. U.S.P., 1964.
6. NUSSENZWEIG, R. S. — Toxoplasmose: inquérito sorológico feito pela prova do corante em doadores de sangue. *Hospital, Rio de Janeiro*, 51:723-8, 1957.
7. ZARDI, O.; D'ARCA, S. U.; DRISALDI, D.; GRAZIANO, F. & VENDITTI, G. — Diffusione dell'infezione de *Toxoplasma gondii* in donatori e non donatori di sangue residenti in Roma e nell'agro romano. *Nuovi Annali Ig. Microbiol.*, 17 (6bis): 634-42, 1966.

Recebido para publicação em 2 de julho de 1971.