

INCIDÊNCIA DE REAGENTES À PROVA DA IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA
PARA O DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE ENTRE ESCOLARES
DO MUNICÍPIO DE PRESIDENTE PRUDENTE (1)

THE INCIDENCE OF REAGENTS TO INDIRECT IMMUNOFLORESCENCE TEST FOR
DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS AMONG STUDENTS IN THE
REGION OF PRESIDENTE PRUDENTE, SÃO PAULO, BRAZIL

MARCELO OSWALDO ÁLVARES CORRÊA (2)
SABURO HYAKUTAKE (2)
JOSÉ FERREIRA TOGNOLI (3)

SUMMARY

CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & TOGNOLI, J.F. — The incidence of reagents to indirect immunofluorescence test for diagnosis of toxoplasmosis among students in the region of Presidente Prudente, São Paulo, Brazil. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 41-46, 1972.

Three hundred and thirty eight sera from students of 9 to 15 years of age were tested by indirect immunofluorescence for toxoplasmosis.

One hundred and fifty one sera (44,7%) showed titers equal or higher than 1:256. These data when compared with those of another survey among indians of same age group of Upper Xingu River, Central Brazil (R. G. Baruzzi, 1968) showed similar results. The incidence of positive sera was higher in the urban area than in rural area.

The more frequent titer found was 1:8,000.

INTRODUÇÃO

Dentre as zoonoses de distribuição ubiqüitária avulta, pela sua importância em patologia humana, a toxoplasmose, como atesta o impressionante número de publicações científicas a ela referentes que têm enriquecido a bibliografia médica particularmente nos dois últimos decênios.

Entre nós, a toxoplasmose tem sido estudada sob múltiplos e diferentes aspectos desde a descoberta do agente causal por Splendore em 1908 até os nossos dias, conforme se pode avaliar pela recente revisão da bibliografia nacional efetuada por GOMES⁵ em 1970.

Em 1969 e 1970 tivemos oportunidade de proceder a inquérito sorológico entre escolares do ciclo primário matriculados em escolas pú-

blicas estaduais no município de Presidente Prudente, com o fito de averiguar a incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para evidenciação de anticorpos anti-toxoplasma. A apresentação destes dados constitui o objetivo da presente publicação.

MATERIAL E MÉTODOS

As amostras de sangue foram colhidas por punção venosa dentre escolares de 9 a 15 anos de idade, residentes nas zonas urbana e rural do município de Presidente Prudente, Estado de São Paulo, localizado a 22° 7'4,8" de latitude Sul e 51° 23'1,5" de longitude, com área de 555 km², altitude de 468 m e população de 105.455 habitantes.

Em sua absoluta maioria, os escolares exa-

- (1) Realizado na Seção de Parasitoses Sistêmicas do Instituto Adolfo Lutz. Apresentado ao 9º Congresso da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical, realizado em Fortaleza, Ceará, de 4 a 7 de fevereiro de 1973.
- (2) Do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo.
- (3) Do Laboratório I de Presidente Prudente, S.P., do Instituto Adolfo Lutz.

minados são naturais do município de Presidente Prudente, raros dos municípios vizinhos ou de outros estados.

Uma vez separados, os soros foram submetidos à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose, de acordo com a técnica descrita por CAMARGO² ligeiramente modificada por Hyakutake que introduziu as seguintes modificações técnicas:

1. Com referência ao tempo de reação antígeno-anticorpo, é preferível 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.

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 do antígeno, em vez de usar a centrifugação diferenciada, isto é, o uso de baixa rotação para sedimentar os leucócitos (Goldman) antes de formolação do antígeno, rompem-se 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 se pratica a expulsão e aspiração do exsudato, repetindo de 10 a 15 vezes a manobra.

4. Para a titulação do conjugado é escolhido 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 1:1 024. Com este soro fazem-se as diluições sucessivas a partir de 1:16, obtendo-se assim as diluições de 1:256, 1:512, 1:1 024 e 1:2 048 distribuídas em lâmina quadriculada e incuba-se meia hora a 37°C. Em seguida, preparam-se 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 1:1 024 e distribuem-se sobre as três lâminas das diluições mencionadas do soro padrão. Feita a leitura, elege-se como título

do conjugado aquela diluição que apresenta fluorescência de média intensidade (++).

De acordo com a experiência de Hyakutake, os resultados obtidos com a prova da imunofluorescência indireta são superponíveis, até cerca de 98%, àqueles da prova de Sabin-Feldman.

COUTINHO *et alii*³ chegaram a conclusões análogas ao proceder à análise comparativa entre as sensibilidades das referidas provas diagnósticas.

RESULTADOS E COMENTÁRIOS

Foram examinadas 338 amostras de sangue de 123 escolares residentes na zona urbana e de 215 residentes na zona rural. Para efeito de comparação, com levantamentos sorológicos semelhantes foram considerados negativos os soros com títulos menores do que 1:256, e positivos, aqueles com valores iguais ou maiores do que 1:256. Assim sendo, encontraram-se 187 soros negativos e 151 reagentes à pesquisa de anticorpos antitoxoplasma, correspondendo às percentagens, respectivamente, de 55,3 de negatividade e 44,7 de positividade.

No quadro I estão configuradas a discriminação entre os resultados obtidos nas zonas rural e urbana, a distribuição por sexo, a distribuição dos reagentes entre os diferentes títulos e a distribuição por anos de idade.

Considerando-se apenas os grupos etários verifica-se:

1º grupo de 9 a 10 anos de idade: total de 174 examinados, sendo 71 reagentes (41%) e 103 negativos (59%).

2º grupo de 11 a 15 anos: total de 164 examinados, sendo 80 reagentes (49%) e 84 negativos (51%).

Estes resultados foram projetados em gráfico para comparação com os obtidos, em grupos etários análogos, por BARUZZI¹, entre índios do Alto Xingu e, em São Paulo, por JAMRA⁶

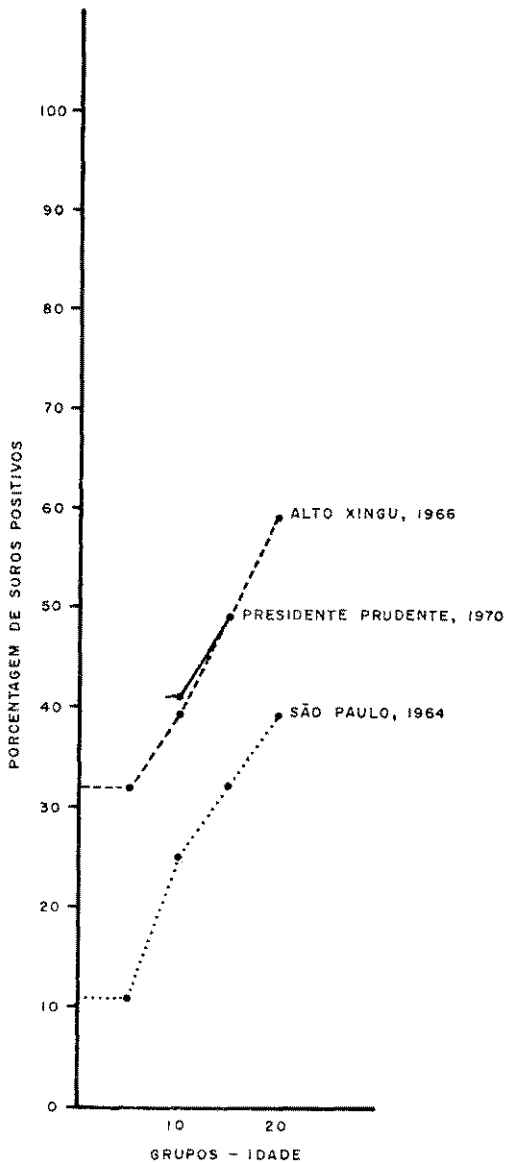
QUADRO I

Distribuição dos títulos dos soros reagentes segundo "habitat" e idade

| "Habitat" Idade (anos) | N.º de soros testados | N.º de soros negativos | Número de soros positivos. Título 1: | | | | | | | | Porcentagem de soros positivos (%) | |
|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------------|-------|-------|-------|-------|--------|--------|-------|---|--|
| | | | 256 | 1 024 | 2 048 | 4 000 | 8 000 | 16 000 | 32 000 | Total | | |
| Zona urbana | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 33 | 18 | 6 | 1 | 0 | 3 | 5 | 0 | 0 | 15 | 45,4 | |
| 10 | 38 | 17 | 4 | 1 | 0 | 0 | 12 | 3 | 1 | 21 | 55,2 | |
| 11 | 32 | 10 | 7 | 0 | 0 | 3 | 6 | 3 | 3 | 22 | 68,7 | |
| 12 | 9 | 2 | 2 | 0 | 0 | 1 | 4 | 0 | 0 | 7 | 77,7 | |
| 13 | 6 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 | 3 | 0 | 1 | 5 | 50,0 | |
| 14 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 3 | 100,0 | |
| 15 | 2 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 | 1 | 0 | 2 | 100,0 | |
| Total | 123 | 48 | 21 | 2 | 0 | 7 | 32 | 8 | 5 | 75 | 60,9 | |
| Masc. | 66 | 24 | 11 | 1 | 0 | 4 | 19 | 5 | 2 | 42 | 63,6 | |
| Fem. | 57 | 24 | 10 | 1 | 0 | 3 | 13 | 3 | 3 | 33 | 57,8 | |
| Zona rural | | | | | | | | | | | | |
| 9 | 54 | 36 | 0 | 1 | 3 | 3 | 8 | 0 | 3 | 18 | 33,3 | |
| 10 | 49 | 32 | 5 | 1 | 1 | 4 | 4 | 2 | 0 | 17 | 34,6 | |
| 11 | 37 | 21 | 2 | 2 | 3 | 3 | 6 | 0 | 0 | 16 | 43,2 | |
| 12 | 37 | 27 | 1 | 3 | 0 | 1 | 3 | 1 | 1 | 10 | 27,0 | |
| 13 | 23 | 15 | 2 | 0 | 0 | 3 | 2 | 1 | 0 | 8 | 34,7 | |
| 14 | 11 | 6 | 0 | 1 | 1 | 0 | 1 | 1 | 1 | 5 | 45,4 | |
| 15 | 4 | 2 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 | 2 | 50,0 | |
| Total | 215 | 139 | 10 | 9 | 8 | 15 | 24 | 5 | 5 | 76 | 35,3 | |
| Masc. | 121 | 71 | 9 | 5 | 4 | 10 | 14 | 4 | 4 | 50 | 41,3 | |
| Fem. | 94 | 68 | 1 | 4 | 4 | 5 | 10 | 1 | 1 | 26 | 27,7 | |

CORREIA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & TOGNOLI, J.F. - Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre escolares do município de Presidente Prudente. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 41-46, 1972.

Gráfico 1



Ao exame do gráfico I, verifica-se que as linhas representativas da incidência de reagentes entre os escolares do município de Presidente Prudente e os índios, de igual idade, residentes no Alto Xingu, se superpõem praticamente, confirmando-se assim um dos comentários de Baruzzi.

“O presente trabalho nos permite concluir que, a prevalência de anticorpos ao toxoplasma numa população isolada, homogênea, do ponto de vista étnico e de hábitos e costumes identificáveis àqueles dos homens primitivos, não difere substancialmente quer daquela observada em uma população de um grande centro civilizado, quer daquela verificada em pequenos núcleos populacionais da região amazônica. Este achado nos induz a inferir que a disseminação da toxoplasmose não é influenciada por hábitos civilizados”.

BARUZZI¹ assinala que 1:256 foi o título mais freqüente no inquérito que realizou no Alto Xingu, o mesmo ocorrendo no Amapá (DEANE *et alii*⁴) e em São Paulo (JAMRA⁶), representando esse título, respectivamente, 29,8%, 34,4% e 34,8% do total de reações positivas.

No inquérito atual, conforme demonstra o quadro II, o título mais freqüente foi o de 1:8 000 (37%) tanto entre escolares da zona urbana (42,6%) como entre os da zona rural (31,5%).

QUADRO II

Distribuição dos títulos entre os soros reagentes

| Títulos da reação (1) | Soros reagentes | |
|-----------------------|-----------------|-----------------|
| | Número | Porcentagem (%) |
| 256 | 31 | 20,6 |
| 1.024 | 11 | 7,3 |
| 2.048 | 8 | 5,3 |
| 4.000 | 22 | 14,5 |
| 8.000 | 56 | 37,0 |
| 16.000 | 13 | 8,6 |
| 32.000 | 10 | 6,7 |
| Total | 151 | 100,0 |

O quadro III evidencia a incidência de reagentes nas zonas urbana e rural.

A análise estatística dos dados constantes do quadro III mostra ser significativamente

QUADRO III

Incidência de reagentes nas zonas urbana e rural

| "HABITAT" | Soros examinados | | Total |
|-------------|------------------|---------------|-------|
| | Reagentes | Não reagentes | |
| Zona Urbana | 75 | 48 | 123 |
| Zona Rural | 76 | 139 | 215 |
| Total | 151 | 187 | 338 |

$X^2 = 20,67$

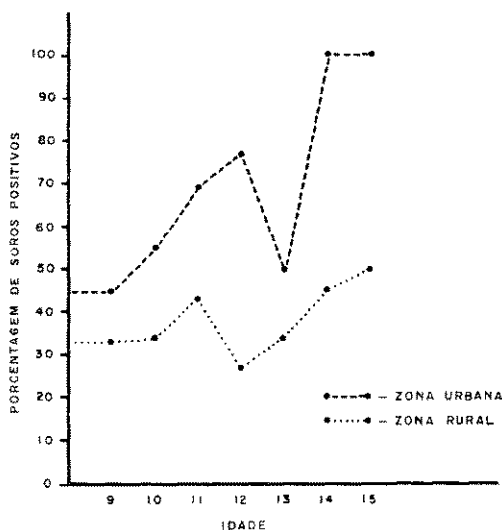
GL = 1

P < 0,001

maior a incidência de reagentes na zona urbana comparada com a zona rural permitindo a sugestão de que, ao menos neste agrupamento humano estudado, houve influência da maior densidade populacional da zona urbana na incidência de reagentes anti-toxoplasma.

O gráfico 2 evidência este mesmo fato através da comprovação percentual dos reagentes nas zonas urbana e rural.

Gráfico 2



CONCLUSÕES

1. As incidências de reagentes entre os escolares do município de Presidente Prudente e os índios de idade análoga do Alto Xingu, praticamente se superpõem.

2. O título mais freqüente no atual inquérito foi o de 1:8.000, correspondendo à percentagem de 37%.

3. A incidência de reagentes foi significativamente maior entre escolares da zona urbana em comparação aos escolares da zona rural.

RESUMO

CORRÊA, M. O. A.; HYAKUTAKE, S. & TOGNOLI, J. F. — Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre escolares do município de Presidente Prudente. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 32: 41-46, 1972.

Os autores examinaram amostras de sangue de 338 escolares do município de Presidente Prudente, de 9 a 15 anos de idade, pelo método da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose, encontrando 151 soros reagentes à pesquisa de anticorpos anti-toxoplasma (44,7%) ao título igual ou maior do que 1:256.

Concluíram que:

1. As incidências de reagentes entre escolares do município de Presidente Prudente e os índios de idade análoga do Alto Xingu praticamente se superpõem (R.G.Baruzzi, 1968).

2. O título mais freqüente foi o de 1:8.000 (37%).

3. A incidência de reagentes foi significativamente maior entre escolares da zona urbana.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BARUZZI, R.G. — Contribuição para o estudo epidemiológico da toxoplasmose. Levantamento sorológico em índios do Alto Xingu, Brasil Central. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 29/30: 105-139, 1969/70,
2. CAMARGO, M.E. — Estudo comparativo das reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência direta para a toxoplasmose, em 1 000 soros humanos. Comportamento anômalo de alguns soros. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 24: 1-26, 1964.

CORRÊA, M.O.A.; HYAKUTAKE, S. & TOGNOLI, J.F. — Incidência de reagentes à prova da imunofluorescência indireta para o diagnóstico da toxoplasmose entre escolares do município de Presidente Prudente. *Rev. Inst. Adolfo Lutz* 32: 41-46, 1972.

3. COUTINHO, S.G.; ANDRADE, C.M.; MALVAR, G.S. & FERREIRA, L.F. — Análise comparativa entre as sensibilidades da reação indireta de anticorpos fluorescentes e da reação de Sabin-Feldman na pesquisa de anticorpos séricos para toxoplasmose. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* (Rio de Janeiro), 4(5): 314-325, 1970.
4. DEANE, L.M. *et alii* — Inquérito de toxoplasmose e de tripanossomíases realizado no território do Amapá pela III Bandeira Científica do Centro Acadêmico "Oswaldo Cruz" da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. *Rev. Med.* (São Paulo), 47 (1): 7-12, 1963.
5. GOMES, M.C.O. — Estado atual da toxoplasmose no Brasil. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* (Rio de Janeiro), 4(2): 121-128, 1970.
6. JAMRA, L.M.F. — *Contribuição para a epidemiologia da toxoplasmose. Inquérito em 100 famílias de uma área da cidade de São Paulo.* São Paulo 1964. [Tese — Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo].

Recebido para publicação em 25 de maio de 1972.