

## ANÁLISE DA SENSIBILIDADE DO «AGGLUTINOTEST» PARA O DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE

Vicente AMATO NETO (1), Mário E. CAMARGO (2), Luiz Jacintho da SILVA (3) e Antonietta ROCCA (4)

### RESUMO

Analisaram os Autores a sensibilidade do "agglutinotest" relativamente ao diagnóstico sorológico da toxoplasmose, comparando as informações por ele fornecidas com as indicadas pela reação de imunofluorescência indireta e pela pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma. Como fatos fundamentais, verificaram 23,5% de resultados falso-negativos e freqüente discordância entre os números que indicariam a vigência de atividade da protozoose. Essas deficiências, aliadas a outros inconvenientes notados, demonstraram não ser possível confiar, com adequada margem de segurança, na prova em apreço, que representa tentativa no sentido de simplificar a confirmação etiológica de acometimentos devidos ao *Toxoplasma gondii*.

### INTRODUÇÃO

Para a confirmação do diagnóstico etiológico relativo a muitas doenças infecciosas e parasitárias, são úteis procedimentos laboratoriais de diversas naturezas, entre os quais as reações sorológicas ocupam posição destacada. Quanto à execução dessas provas, é sempre desejável que técnicas singelas e não custosas fiquem padronizadas, a fim de facilitar trabalhos assistenciais e a efetivação de inquéritos epidemiológicos, especialmente quando a moléstia em cena corresponde a problema disseminado. É fácil compreender, então, porque tentativas no sentido de precorizar exames realizáveis com simplicidade têm ocorrido também no que concerne à toxoplasmose, pois essa protozoose atualmente suscita habituais e reiteradas cogitações, em tarefas de diferentes ordens.

Partículas de acrílico, de bentonita e de látex serviram para a agregação de antígeno, com o advento de técnicas sugeridas como

válidas para revelar anticorpos toxoplasmóticos e aceitas com entusiasmos não idênticos pelos que chegaram a aplicá-las. SIIM & LIND<sup>9</sup>, BOZDĚCH & JÍRA<sup>3</sup>, GARIN & DESPEIGNES<sup>5</sup>, LUND & JACOBS<sup>7</sup>, THIERMANN & APT<sup>8</sup>, KWANTES & col.<sup>6</sup> e BIAGI & GONZÁLEZ<sup>2</sup>, investigaram as características desses métodos e, como aspectos destacáveis, após confronto com condutas consagradas, frisaram que demarcaram resultados falso-negativos e falso-positivos, que comumente houve maior concordância quando reatividade surgia nas diluições mais elevadas e que influência de anticorpos heterófilos é preocupante.

No Brasil, passou a ser usado nos últimos anos, de forma generalizada, "agglutinotest" destinado ao reconhecimento da infecção devida ao *Toxoplasma gondii*, sendo que "kits" contendo o antígeno em partículas de látex e outros materiais necessários estão à venda, de molde a permitir emprego rotineiro, fá-

Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia (Prof. João Alves Meira), São Paulo, Brasil

- (1) Assistente-docente do Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia
- (2) Assistente-doutor, Chefe da Seção de Imunologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo
- (3) Médico-residente do Departamento de Medicina Tropical e Dermatologia
- (4) Técnica de laboratório

cil e rápido. Julgamos, portanto, que se afirmava imprescindível estudar melhor as eventuais qualidades desse processo, a fim de decidir se o emprego do mesmo pode ficar encarado como recomendável.

Nesta oportunidade, relatamos as observações que a respeito praticamos, comparando os resultados fornecidos pelo citado "agglutintest" com os indicados por outras provas costumeiramente utilizadas para diagnosticar a toxoplasmose.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Usamos 60 amostras de sangue, retiradas de 51 pessoas em jejum, no decurso de tarefas destinadas a reconhecer acometimentos toxoplasmóticos ou a permitir controles evolutivos. Executamos o "agglutintest" respeitando as diretrizes indicadas pela firma fabricante (\*) e os prazos de validade anotados. Para empreender as comparações programadas levamos a efeito sistematicamente a prova de imunofluorescência indireta e a pesquisa de anticorpos IgM anti-toxoplasma por imunofluorescência (CAMARGO<sup>4</sup>; AMATO NETO & col.<sup>1</sup>). Aproveitamos os soros pouco após terem sido convenientemente obtidos ou realizamos os exames no máximo três dias depois de conservação em geladeira.

Ao "agglutintest" recorremos a soro não diluído e a 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 e assim por diante, com cifras correspondentes a múltiplos de dois. Aos 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 1/4.000, 1/8.000, 1/16.000 e da mesma forma subsequente.

#### RESULTADOS

As nossas verificações estão consignadas nos Quadros I e II.

Logo de início, ressalta a discrepância dos números fornecidos pelo "agglutintest" com os decorrentes dos dois outros tipos de reações escolhidas para possibilitar comparações. Além disso, ao detalharmos as análises, notamos três fatos que nos parecem mais dignos de ênfase e adiante apontados:

- "agglutintest" negativo e prova da imunofluorescência indireta positiva (desde 1/256 até 1/8.000): 12 vezes;
- "agglutintest" negativo e pesquisa de anticorpos IgM anti-toxoplasma por imunofluorescência positiva (1/16): uma vez;
- "agglutintest" positivo (desde soro não diluído até 1/1.000, sendo em sete oportunidades as taxas superiores a 1/16) e pesquisa de anticorpos IgM anti-toxoplasma por imunofluorescência negativa: 17 vezes.

O exame baseado na apreciação da aglutinação deixou patente alguns acontecimentos muito significativos sob o ponto de vista prático: a) foram relativamente comuns observações interpretadas como duvidosas e por nós não computadas; b) pudemos perceber claramente a reatividade diversa de materiais de "kits" diferentes; c) em reiteradas ocasiões detectamos o fenômeno de pré-zona; d) a intensidade da aglutinação nem sempre correspondeu à concentração de soro presente.

#### DISCUSSÃO

Como dedução mais proeminente, destacamos que o "agglutintest" deixou de identificar a toxoplasmose no que concerne a 12 indivíduos, entre os 51 considerados. Essa deficiência, surgida em comparação com prova dotada de efetividade consagrada e retratada pela taxa de 23,5% de falhas, não é desprezível, sobretudo se levarmos em conta que à reação de imunofluorescência usamos soro diluído a partir de 1/16 e não em concentrações maiores, como sucedeu a propósito da modalidade de exame antes citada.

(\*) "Italdagnostic s.r.l.", Via Gorizia 31, Ciampino, Roma, Itália.

QUADRO I

Estudo comparativo entre resultados do "agglutintest" (AG) e da reação de imunofluorescência indireta (IF) para o diagnóstico da toxoplasmose

Caso n.º	AG	IF	Caso n.º	AG	IF
1 — A.M.	N	N	26 — L.A.R.	1/4	1/8.000
2 — A.A.F.	1/64	1/8.000	27 — L.C.A.	1/256	1/64.000
3 — A.B.N.	1/32	1/8.000	28 — L.T.C.A.	N	N
4 — A.S.A.	1/2	1/8.000	29 — M.A.A.	N	1/4.000
5 — C.A.C.J.	N	N	30 — M.G.P.M.	N	N
6 — C.N.M.	N	N	31 — M.I.S.F.	N	N
7 — C.W.	1/4	1/1.000	32 — M.M.C.	1/4	1/4.000
8 — C.A.G.	N	N	33 — N.L.S.	N	1/256
9 — C.I.F.	N	1/1.000	34 — N.R.	N	N
10 — C.B.M.O.	N	N	35 — N.S.C.	N	N
11 — D.V.	1/16	1/4.000	36 — O.L.F.	N	N
12 — D.M.	1/4.096	1/32.000	37 — P.S.	N	1/4.000
D.M.	1/1.024	1/8.000	38 — P.M.C.	1/32	1/8.000
13 — D.G.	1/4	1/4.000	39 — P.S.A.	1/512	1/16.000
14 — E.M.Q.S.	N	N	P.S.A.	1/256	1/8.000
15 — E.V.L.	1/16	1/4.000	40 — R.A.N.	N	N
16 — E.N.L.	N	1/4.000	R.A.N.	N	N
17 — F.J.N.M.	1/64	1/16.000	41 — R.B.A.	ND	N
F.J.N.M.	1/256	1/16.000	42 — R.F.S.	N	N
F.J.N.M.	1/32	1/8.000	43 — R.B.	1/128	1/16.000
18 — F.F.	1/1.024	1/64.000	44 — S.C.S.	N	1/256
F.F.	1/1.024	1/32.000	45 — S.D.C.	ND	1/4.000
F.F.	1/1.024	1/32.000	46 — S.R.F.	1/128	1/8.000
19 — H.R.S.	N	1/4.000	47 — S.M.R.S.	1/512	1/8.000
20 — I.M.V.G.	1/2	1/64.000	48 — W.J.S.F.	N	1/256
21 — I.K.	N	N	49 — W.P.R.	N	1/8.000
22 — J.F.F.	N	1/1.000	50 — W.I.S.	N	1/4.000
23 — J.D.T.	N	1/1.000	51 — W.I.S.	ND	1/16.000
24 — J.F.A.	ND	1/256	W.I.S.	1/2	1/8.000
25 — L.P.S.	N	N	W.I.S.	1/4	1/4.000

N: negativo(a); ND: positivo com soro não diluído

QUADRO II

Estudo comparativo entre resultados do "agglutinotest" (AG) e da pesquisa, por imunofluorescência, de anticorpos IgM antitoxoplasma para o diagnóstico da toxoplasmose

Caso n.º	AG	IgM	Caso n.º	AG	IgM
1 — A.M.	N	N	26 — L.A.R.	1/4	1/64
2 — A.A.F.	1/64	1/256	27 — L.C.A.	1/256	1/1.000
3 — A.B.N.	1/32	1/256	28 — L.T.C.A.	N	N
4 — A.S.A.	1/2	N	29 — M.A.A.	N	N
5 — C.A.C.J.	N	N	30 — M.G.P.M.	N	N
6 — C.N.M.	N	N	31 — M.I.S.F.	N	N
7 — C.W.	1/4	N	32 — M.M.C.	1/4	N
8 — C.A.G.	N	N	33 — N.L.S.	N	N
9 — C.I.F.	N	N	34 — N.R.	N	N
10 — C.B.M.O.	N	N	35 — N.S.C.	N	N
11 — D.V.	1/16	N	36 — O.L.F.	N	N
12 — D.M.	1/4.096	1/16.000	37 — P.S.	N	N
D.M.	1/1.024	1/4.000	38 — P.M.C.	1/32	1/4.000
13 — D.G.	1/4	N	39 — P.S.A.	1/512	1/256
14 — E.M.Q.S.	N	N	P.S.A.	1/256	1/256
15 — E.V.L.	1/16	N	40 — R.N.A.	N	N
16 — E.N.L.	N	N	R.N.A.	N	N
17 — F.J.N.M.	1/64	1/256	41 — R.B.A.	ND	N
F.J.N.M.	1/256	N	42 — R.F.S.	N	N
F.J.N.M.	1/32	N	43 — R.B.	1/128	N
18 — F.F.	1/1.024	1/256	44 — S.C.S.	N	N
F.F.	1/1.024	N	45 — S.D.C.	ND	N
F.F.	1/1.024	N	46 — S.R.F.	1/128	1/64
19 — H.R.S.	N	N	47 — S.M.R.S.	1/512	1/4.000
20 — I.M.V.G.	1/2	1/256	48 — W.J.S.F.	N	N
21 — I.K.	N	N	49 — W.P.R.	N	N
22 — I.F.F.	N	N	50 — W.I.S.	N	1/16
23 — J.D.T.	N	N	51 — W.I.S.	ND	N
24 — J.F.A.	ND	N	W.I.S.	1/2	N
25 — L.P.S.	N	N	W.I.S.	1/4	N

N: negativo(a); ND: positivo com soro não diluído

O encontro de anticorpos IgM antitoxoplasma no soro, não cogitada a infecção congênita, é tida como coerente com a vigência de toxoplasmose recente e ainda compatível com a existência de atividade. A respeito desse aspecto, notamos que 17 vezes o teste de aglutinação revelou positividade, sem que tenham sido identificados aqueles anticorpos.

Nas instruções que acompanham os "kits" referentes ao "agglutino-test" figura a seguinte interpretação: negativo — ausência de infecção; não diluído e 1/2 — infecção não recente; 1/4 e 1/8 — infecção recente, muito provavelmente; 1/16 ou maior — infecção atual, recente. Não conhecemos a base que amparou essa concepção, mas de qualquer maneira salientamos a discordância mencionada no parágrafo anterior e, mormente, a documentada por sete resultados expressos por cifras iguais ou maiores do que 1/16, com negatividade paralela da procura dos anticorpos IgM.

Essas deficiências, aliadas a outros inconvenientes especificados no item pertinente aos resultados, demonstram não ser possível confiar, com boa margem de segurança, no "agglutino-test" estudado. Para estabelecer essa conclusão não valorizamos as discrepâncias numéricas globalmente notadas, pois elas poderiam talvez decorrer de comportamento peculiar, como o seguido pela reação de fixação do complemento, que não repete de forma idêntica os valores obtidos com o emprego das provas de imunofluorescência indireta e de Sabin-Feldman. Valerá a pena certamente efetuar estreita correlação clínico-laboratorial, mediante seguimento longitudinal de acometimentos seguramente devidos ao *Toxoplasma gondii*. Os elementos que coletamos evidenciaram, porém, defeitos sensíveis.

O desejo de dispor de exames executáveis com simplicidade e não ligados a percalços ponderáveis, entre os quais o alto custo é lembrável, representa desiderato merecedor de pleno apoio. Estabilidade dos antígenos, reprodutibilidade de resultados, especificidade e sensibilidade devem ser, no entanto, qualidades documentadas e não desprezadas quando singeleza, sem virtudes fundamentais, fica colocada em primeiro plano.

No Brasil, encontram-se comercializados amplamente equipamentos para a execução de "provas rápidas", indicadas para fornecer informes diagnósticos. Entre eles, rememoramos os que pretendem determinar o teor de anti-estreptolisina O, evidenciar o antígeno da hepatite B e reconhecer a presença de infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Comentários não elogiosos sobre o valor deles são freqüentes, documentando a conveniência de vigilância por parte de instituições governamentais e de patologistas escrupulosos.

#### SUMMARY

##### *Sensitivity analysis of the "agglutino-test" for the diagnosis of toxoplasmosis*

The Authors studied the "agglutino-test" sensitivity for the serological diagnosis of toxoplasmosis. Results were compared with those obtained through the test of indirect immunofluorescence and detection of anti-toxoplasma IgM antibodies. The Authors observed then 23.5% of false negative results besides the frequent occurrence of discrepancy between the "agglutino-test" values and the ones that point to recent infection of activity of the disease. These failures, together with other observed inconveniences, led to the conclusion that the test cannot be relied upon in the sense of simplifying the diagnosis of *Toxoplasma gondii* infections.

#### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AMATO NETO, V.; CAMARGO, 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. BIAGI, F. & GONZALEZ, C. — Estudio comparativo de una reaccion serologica para el diagnostico de la toxoplasmose. *Rev. Soc. Brasil. Med. Trop.* 7:349-351, 1973.
3. BOZDECH, V. & JÍRA, J. — Latex-Agglutinationstest mit dem Toxoplasmaantigen. *Dtsch. Gesundheitsw.* 16:2398-2400, 1961.

---

AMATO NETO, V.; CAMARGO, M. E.; SILVA, L. J. da & ROCCA, A. — Análise da sensibilidade do "agglutinotest" para o diagnóstico da toxoplasmose. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 17: 277-282, 1975.

---

4. 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.
5. GARIN, J.-P. & DESPEIGNES, J. — Une méthode sérologique de diagnostic de la toxoplasmose. L'agglutination des particules de bentonite sensibilisées. *Presse Med.* 40:2317-2320, 1964.
6. KWANTES, W.; PAYNE, R. A.; LUDLAM, G. B.; BRIDGES, J. B. & FLECK, D. G. — An assessment of a latex agglutination slide test for toxoplasma antibody. *J. Clin. Path.* 25:359-360, 1972.
7. LUNDE, M. N. & JACOBS, L. — Evaluation of a latex agglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasitol.* 53:933-936, 1967.
8. THIERMANN, E. & APT, W. — Ensayo de un nuevo antígeno para la reacción de aglutinación con látex en toxoplasmosis. *Bol. Chileno Parasitol.* 26:53-55, 1971.
9. SIIM, J. C. & LIND, K. — A toxoplasma flocculation test. *Acta Path. Microbiol. Scand.* 50:445-446, 1960.

Recebido para publicação em 28/11/1974.