

DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

III — Teste de floculação em cartão

J. PELLEGRINO

RESUMO

O teste de floculação em cartão foi praticado em um grupo de 260 escolares, residentes em Medina e Comercinho (Minas Gerais), onde a esquistossomose é altamente endêmica. Os resultados foram: 86,6% positivos, 1,9% duvidosos e 11,5% negativos. Em um grupo de 248 crianças, residentes em área seguramente não endêmica (Osório, Rio Grande do Sul), o teste foi negativo em 94,4% dos casos, duvidoso em 2,0% e positivo em 3,6%.

Os resultados obtidos mostram que o teste do cartão possui sensibilidade e especificidade satisfatórias e que, portanto, pode ser usado em levantamentos epidemiológicos, particularmente quando as circunstâncias tornam difícil a colheita de sangue por punção venosa e demorada a remessa do material para laboratórios centrais.

INTRODUÇÃO

Em vista das falhas e dificuldades inerentes aos métodos de demonstração parasitológica da infecção esquistossomótica, especialmente quando aplicados em levantamentos epidemiológicos, numerosas reações sorológicas têm sido desenvolvidas para o diagnóstico desta helmintose (KAGAN & PELLEGRINO⁴; ANDERSON & SADUN²). Entretanto, a não ser para o teste cutâneo, a realização destas reações sorológicas depende da colheita do material no campo (punção venosa para a obtenção de soro; colheita de sangue em papel de filtro, por punção digital, para a reação de imunofluorescência) e de sua remessa para laboratórios centrais, bem equipados, onde os testes são praticados. Com a finalidade de proporcionar um diagnóstico rápido e seguro da esquistossomose em condições de campo, SADUN, ANDERSON & SCHOENBECHLER⁷ desenvolveram recentemente

o teste de floculação em cartão ("schistosomiasis plasma card test"). Neste teste é empregado antígeno cercariano adsorvido a cristais de lecitina-colesterol (ANDERSON¹), ao qual se adiciona carvão finamente dividido como agente de visualização. A reação, feita com o plasma, é rápida, simples, econômica, não requer aparelhamento especial, nem pessoal técnico altamente diferenciado. Pode ser praticada em condições de campo, as mais adversas.

Neste trabalho são apresentados os resultados obtidos com o teste do cartão em crianças residentes em área endêmica e não endêmica para a esquistossomose mansônica.

MATERIAL E METODOS

Grupos de crianças — O teste do cartão foi feito em dois grupos de crianças, com

Instituto Nacional de Endemias Rurais e Instituto de Biologia, Faculdade de Filosofia da Universidade de Minas Gerais (Caixa Postal 253, Belo Horizonte, Brasil).

Trabalho realizado com auxílio financeiro da Organização Mundial da Saúde (Division of Communicable Diseases, Parasitic Diseases Section, World Health Organization).

10 a 15 anos de idade, tomadas sem seleção. O primeiro grupo, constituído por 260 escolares, residia em Medina e Comercinho, cidades situadas no Norte do Estado de Minas Gerais, em zona onde a esquistossomose mansônica é altamente endêmica. O segundo grupo incluiu 248 escolares residindo em Osório, Estado do Rio Grande do Sul, onde nunca foram descritos casos autóctones de esquistossomose. O exame de fezes, pelo método de MIFC (CHAIA & COELHO²), foi feito em 194 crianças do primeiro grupo e em todos os escolares do segundo grupo.

Antígeno — O antígeno foi preparado de acordo com a técnica descrita por ANDERSON¹, a partir de cercárias de *S. mansoni* liofilizadas. Após a adsorção do antígeno a cristais de lecitina-colesterol, a emulsão foi centrifugada e o sedimento suspenso em solução contendo carvão finamente dividido (PORTNOY, BREWER & HARRIS³).

Colheita do plasma — O sangue é obtido por punção digital (Fig. 1, B). Três ou quatro gotas (cerca de 0,15 ml) são deixadas cair em um cartão especialmente desenvolvido por BREWER (Fig. 1, A), coberto com anticoagulante e lecitina para provocar

a aglutinação dos glóbulos brancos e vermelhos. O cartão é mantido inclinado e assim o plasma escorre para uma pequena depressão onde pode ser recolhido. Poucos minutos são suficientes para a obtenção do plasma.

Reação de floculação — Com uma pipeta especial (Fig. 1, C) transferem-se 0,03 ml do plasma para um outro cartão (Fig. 2), onde podem ser feitas até 10 reações. Uma gota do antígeno (cerca de 1/60 ml) é deixada cair sobre cada amostra de plasma. Com um pequeno aplicador de madeira ou um palito, plasma e antígeno são misturados e espalhados de modo a cobrir uma determinada área, marcada no cartão. Este é então movimentado com as mãos, durante 2 minutos, de modo que a mistura de plasma e antígeno sofra um ligeiro movimento de rotação dentro da área marcada para cada teste. A leitura é feita a olho nu, logo em seguida. Nas reações positivas formam-se flocos onde se acumulam as partículas de carvão, tornando-os visíveis (Fig. 2). Nas reações negativas, o aspecto inicial da mistura de plasma e antígeno não se altera. As reações intermediárias são interpretadas como duvidosas.

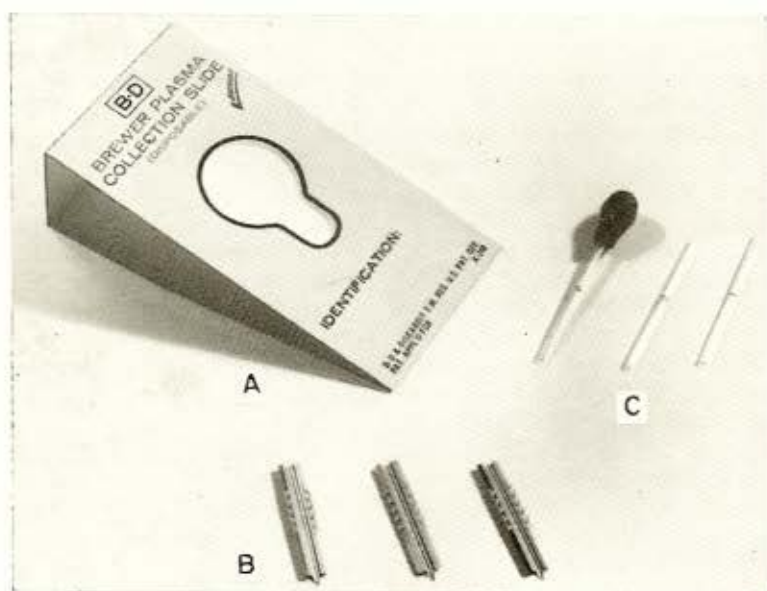


Fig. 1 — Material para a colheita de plasma: A — Cartão de Brewer com lecitina e anticoagulante; B — Lancetas para punção digital; C — Pipetas calibradas para 0,03 ml.

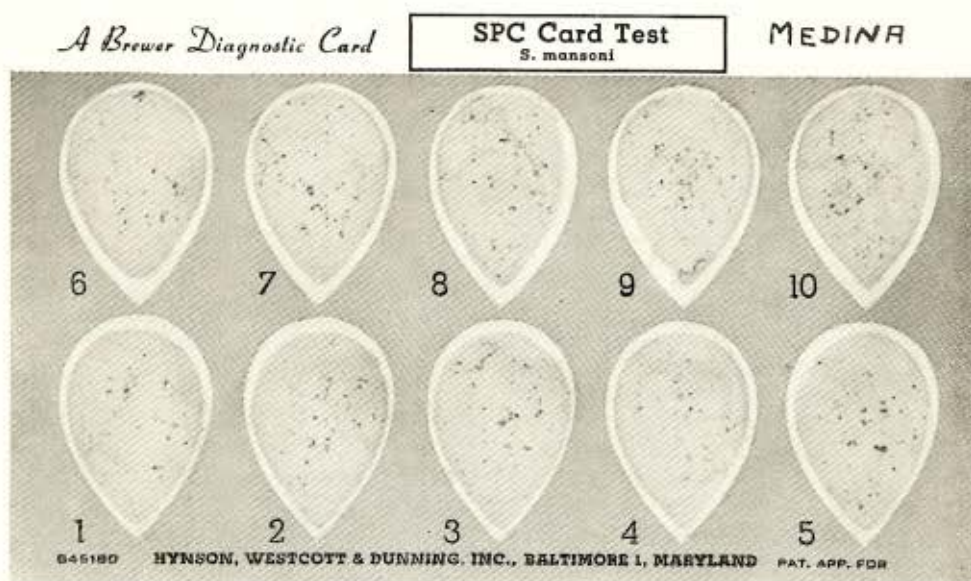


Fig. 2 — Teste de floculação em cartão. Reações positivas com o plasma de crianças com esquistossomose.

RESULTADOS

Os resultados acham-se resumidos no Quadro 1. No grupo de escolares residentes em Medina e Comercinho, onde a esquistossomose é altamente endêmica, o teste do cartão foi positivo em 86,6% das 260 crianças tomadas sem seleção. O exame de fezes, praticado em 194 crianças deste grupo, revelou a presença de ovos de *S. mansoni* em 174 casos (89,7%). Isto mostra que apesar das crianças terem sido tomadas sem seleção,

praticamente todas estavam infectadas. De fato, o resultado do teste do cartão no grupo de 174 escolares com ovos de *S. mansoni* nas fezes foi muito semelhante ao obtido no grupo de 260 crianças tomadas sem seleção (87,9% positivo; 1,2% duvidoso e 10,9% negativo).

Em crianças residentes em área não endêmica, a percentagem de resultados negativos foi de 94,4% (Quadro 1), o que confere ao teste do cartão uma boa especificidade.

QUADRO I

Resultados do teste de floculação em cartão praticado em escolares (10 a 15 anos) residentes em área endêmica (Medina e Comercinho, Estado de Minas Gerais) e não endêmica (Osório, Estado do Rio Grande do Sul) para a esquistossomose (os números entre parênteses indicam percentagens).

Características dos grupos estudados	Teste de floculação em cartão			
	Total	Positivo	Duvidoso	Negativo
Escolares não selecionados, residentes em zona de alta endemicidade	260	225 (86,6)	5 (1,9)	30 (11,5)
Escolares com exame de fezes positivo para ovos de <i>S. mansoni</i>	174	153 (87,9)	2 (1,2)	19 (10,9)
Escolares residentes em zona não endêmica ..	248	9 (3,6)	5 (2,0)	234 (94,4)

DISCUSSÃO

Vários fatores devem ser levados em consideração quando se pretende apreciar o valor de uma determinada reação imunológica para levantamentos epidemiológicos da esquistossomose. Assim, as reações de fixação do complemento e de floculação (PELLEGRINO⁵) podem ser aplicadas com êxito quando se dispõe de facilidades para a colheita de sangue por punção venosa e de remessa do material para laboratórios centrais (SALGADO & PELLEGRINO⁹). Quando a colheita do sangue é feita em papel de filtro, após punção digital, a reação de imunofluorescência (SADUN et al.⁸) assume grande importância. No caso de haver interesse ou necessidade de se praticar a triagem diagnóstica nas próprias áreas endêmicas, pode-se recorrer à reação intradérmica ou ao teste de floculação em cartão. As vantagens, de ordem prática, desta última reação imunológica, foram analisadas por SADUN et al.⁷. Os nossos resultados confirmam que a sensibilidade do teste em cartão é satisfatória (87,9% de positividade em crianças com esquistossomose) e que a sua especificidade é aceitável para levantamentos epidemiológicos. A este respeito é oportuno lembrar que a prevalência de vários helmintos no grupo de crianças que residia em zona livre de esquistossomose foi particularmente elevada: *Ascaris lumbricoides*, 74%; *Trichocephalus trichiurus*, 83%; *Strongyloides stercoralis*, 85%; ancilostomídeos, 88%. Mesmo assim, não foi alta a percentagem de resultados positivos e duvidosos neste grupo.

Um pequeno detalhe de ordem técnica pareceu-nos importante: observamos que os resultados são mais nítidos quando a leitura da reação é feita 2 minutos depois de misturado o plasma com o antígeno. Se o cartão foi girado além deste limite, aumenta a percentagem de resultados duvidosos e falsos positivos.

O único fator limitante para o uso do teste do cartão em levantamentos epidemiológicos é o preparo do antígeno em larga escala, pois não constitui tarefa fácil a obtenção de cercárias liofilizadas em grande quantidade.

Embora os nossos dados e aqueles apresentados por SADUN et al.⁷ sejam altamente favoráveis em relação ao valor do teste do car-

tão em levantamentos epidemiológicos, é necessário que as observações sejam ampliadas, especialmente em áreas de média ou baixa endemicidade, para que se possa ter um julgamento definitivo a este respeito.

SUMMARY

Serologic diagnosis of schistosomiasis mansoni; III. The plasma card test.

The cercarial slide flocculation test antigen is centrifuged and resuspended with a solution containing charcoal powder as a visualization agent. The plasma card test for the serodiagnosis of schistosomiasis mansoni is performed on plastic coated cards and all materials employed are disposable.

The test was performed with the plasma from 260 unselected school children (10-15 years of age) living in a region where schistosomiasis mansoni is highly endemic. The results were as follows: positive, 86.6%; doubtful, 1.9%; negative, 11.5%. In another group of 248 school children, living in a non-endemic area, the results were: positive, 3.6%; doubtful, 2.0%; negative, 94.4%.

Our findings show that the test possesses an adequate sensitivity and specificity and therefore can be used for field epidemiological surveys, particularly in areas where it is difficult to collect blood by venopuncture and/or to mail the specimens to a central laboratory.

AGRADECIMENTOS

A colaboração dos Drs. Paulo Magalhães e Abdias de Melo Leite, respectivamente, chefe do Setor Medina e da Circunscrição Rio Grande do Sul do Departamento Nacional de Endemias Rurais, e do técnico L. Chiari, foi decisiva na realização deste trabalho. Agradecemos aos Drs. Elvio Sadun e Robert Anderson, Walter Reed Army Institute of Research, Washington, pelas facilidades que nos foram proporcionadas para o preparo do antígeno e ao Dr. N. Ansari, Organização Mundial da Saúde, pela cooperação e estímulo.

REFERÊNCIAS

1. ANDERSON, R. I. — Serologic diagnosis of *Schistosoma mansoni* infections. I. Development of a cercarial antigen slide flocculation test. *Am. J. Trop. Med. & Hyg.* 9:229-303, 1960.
2. ANDERSON, R. I. & SADUN, E. H. — Some recent advances in the diagnosis of Schistosomiasis. *Med. Ann. of the Distr. Columbia* 31:211-215, 1962.
3. CHAIA, G. & COELHO, M. V. — A técnica de Sapero & Lawless (M.I.F.), modificada por Coutinho, no diagnóstico da esquistossomose mansoni. *Rev. bras. Malariol. e Doenc. trop.* 12:331-363, 1960.
4. KAGAN, I. G. & PELLEGRINO, J. — A critical review of immunological methods for the diagnosis of bilharziasis. *Bull. World Health Organ.* 25:611-674, 1961.
5. PELLEGRINO, J. — Diagnóstico sorológico da esquistossomose mansônica. I. Estudo comparativo entre as reações de flocculação, de imunofluorescência e de fixação do complemento. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 5:147-153, 1963.
6. PORTNOY, J.; BREWER, J. H. & HARRIS, A. — Rapid plasma reagin card test for syphilis and other treponematoses. *Pub. Health Rep.* 77:645-652, 1962.
7. SADUN, E. H.; ANDERSON, R. I. & SCHOENBECHLER, M. J. — A plasma card test for rapid serodiagnosis of schistosomiasis (SPC). *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 112:280-283, 1963.
8. SADUN, E. H.; ANDERSON, R. I. & WILLIAMS, J. S. — Fluorescent antibody test for the laboratory diagnosis of schistosomiasis in humans by using dried blood smears on filter paper. *Exper. Parasitol.* 11:117-120, 1961.
9. SALGADO, A. A. & PELLEGRINO, J. — Realização de inquérito sorológico escolar em zona rural: processo prático para a obtenção de amostras de sangue. *Rev. bras. Malariol. e Doenc. trop.* 12:359-360, 1960.

Recebido para publicação em 23 novembro 1963.