

## Avaliação da sensibilidade da diluição 1/20 pela reação de imunofluorescência indireta, no diagnóstico sorológico da doença de Chagas

Evaluation of the sensitivity of the indirect immunofluorescence test at the 1:20 dilution in the diagnosis of Chagas disease

Vicente Amato Neto<sup>1,2</sup>, Cláudia Regina De Marchi<sup>1,2</sup>, Sandra Therezinha Rossitto<sup>1,2</sup>  
e Maria Savoia Nascimento<sup>1,2</sup>

**Resumo** Soros de pessoas com doença de Chagas em fase crônica, comprovada parasitologicamente, foram utilizados para realização de reação de imunofluorescência indireta, a fim de avaliar o comportamento da prova na diluição 1/20. Sistemáticamente houve positividade nessa diluição e em maiores, mesmo quando presente co-infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV). Portanto, é válido valorizar resultados positivos na diluição citada, que a propósito da casuística analisada demonstrou expressiva sensibilidade.

**Palavras-chaves:** Doença de Chagas. Diagnóstico. Reação de imunofluorescência indireta. Diluição 1/20. Sensibilidade.

**Abstract** Sera from people in the chronic stage of Chagas disease, whose infection had been parasitologically validated, were assayed by using the indirect immunofluorescence test to evaluate its performance at the 1:20 dilution. All tests were consistently positive at 1:20 and higher dilutions, even in the presence of concomitant infection with the human immunodeficiency virus (HIV). It is thus valid, into the light of this experiment, to take into account the remarkable sensitivity of such serological test at the above mentioned dilution.

**Key-words:** Chagas disease. Diagnosis. Indirect immunofluorescence test. 1:20 dilution. Sensitivity.

Vários tipos de provas sorológicas são atualmente usadas para possibilitar diagnóstico da doença de Chagas, em tarefas científicas ou de variadas ordens, como as assistenciais, epidemiológicas ou referentes à seleção de doadores de sangue, entre outras. Constituem exames bastante usados para a identificação da parasitose em pessoas que estão na fase crônica. Vale lembrar ainda que fazem parte sistematicamente das medidas utilizadas para realizar avaliação do tratamento etiológico da enfermidade.

Os testes mais em foco correspondem, no momento, à hemaglutinação indireta, à imunofluorescência indireta e ao ELISA, imunoenzimático. A reação de fixação do complemento, pioneira, encontra-se praticamente desativada<sup>2</sup>. Contudo, noventa e um anos depois da

evidenciação da doença, não contamos com exame capaz de receber o rótulo de "gold standard", por permitir indiscutível segurança em termos de especificidade e sensibilidade.

Nesse contexto ainda vigoram ocorrências que evidenciam a inexistência de uma situação ideal. Sucodem resultados duvidosos ou indeterminados mormente quando fornecidos em conjunto as deduções derivadas de diversas provas, há execução de mais de uma modalidade de prova com o soro não para melhor performance mas a fim de que o verificado numa fique confrontado com o apurado na outra e, ainda mais, reagentes oficialmente liberados pela vigilância sanitária propiciam informações heterogêneas. Tudo isso sem valorizar comuns inabilidades técnicas.

1. Laboratório de Parasitologia do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo e 2. Laboratório de Investigação Médica – Parasitologia do Hospital das Clínicas, da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência: Prof. Vicente Amato Neto. Av. Dr. Enéas de Carvalho Aguiar 500, 0543-000 São Paulo, SP, Brasil.

Fax: 55 11 852-3622.

e-mail: amatonet@usp.br

Recebido para publicação em 26/9/2000.

Preocupamo-nos também com circunstância que logo, provavelmente, piorará tal panorama. Começam a ser comercializados “kits” para a efetivação de testes qualificados como rápidos e considerados como extremamente simples. Poderão gerar interpretações equivocadas e requerem adequadas análises de qualidades, infelizmente não costumeiramente providenciadas no país.

No âmbito desse assunto, ou seja, do emprego de exame sorológico para diagnosticar a doença de Chagas, um detalhe não raramente figura como complicador. Trata-se da interpretação da especificidade do grau de positividade de 1/20 da reação de imunofluorescência indireta. Sem levar em conta inadequações de caráter técnico-operacional, é comumente mencionado esse nível como vinculado a falsas positivities, como ainda podendo depender de baixas quantidades de anticorpos no soro de algumas pessoas, especialmente quando moradoras de regiões nas quais a parasitose em questão existe endemicamente.

A falta de confiabilidade na diluição 1/20 chega a ganhar projeção até em tarefas oficiais, porquanto o Comitê indicado para formar juízo sobre qualidade de conjuntos diagnósticos concernentes à hemaglutinação indireta, disponíveis no Brasil, usou o nível 1/40 da imunofluorescência indireta nas apreciações comparativas que empreendeu<sup>3</sup>.

Vale lembrar que Serviços de Hemoterapia descartam sangues quando nos doadores respectivos o exame revelou, à triagem, positividade de 1/20. Com essa conduta há intenção de agir com prudência e maior segurança, convindo cogitar da ocasional incidência de falsas positivities, determinantes da obrigatoriedade de recorrer a procedimentos suplementares quando desejado rigoroso diagnóstico de doença de Chagas.

Diante do exposto, decidimos aduzir colaboração ao conhecimento do assunto, aparentemente de pequeno porte mas sem dúvida relacionado com aspectos operacionais, técnicos e até econômicos.

Dispomos de painel de soros de pessoas certamente infectadas pelo *Trypanosoma cruzi* e em fase crônica da

doença de Chagas. A propósito de todas, hemocultura ou xenodiagnóstico documentaram o diagnóstico etiológico e, por vezes, essas duas modalidades de exames revelaram a participação do protozoário.

Sem qualquer maneira especial de seleção, separamos 100 soros para estabelecer dois Grupos: A – com 50; B – com outros 50 de indivíduos co-infectados pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV), com ou sem síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), tendo a virose sido identificada por provas sorológicas habitualmente utilizadas e, inclusive, por teste confirmatório. Os soros estavam mantidos a -20°C e para executar a reação de imunofluorescência indireta respeitamos as diretrizes estipuladas por Camargo<sup>1</sup>. As diluições foram sempre de 1/20, 1/40, 1/80 e 1/160.

Obtivemos os resultados a seguir especificados.

Grupo A – diluições máximas nas quais os soros foram reagentes: 1/20, 0; 1/40, 6; 1/80, 3; 1/160, 29. Positivos a 1/160 ou em diluição maior: 12.

Grupo B – diluições máximas nas quais os soros foram reagentes: 1/20, 0; 1/40, 1; 1/80, 10; 1/160, 21. Positivos a 1/160 ou em diluição maior: 18.

Portanto, nenhum resultado foi positivo apenas a 1/20. Sempre aconteceu positividade a 1/20 ou em diluição maior, tanto no Grupo A como no B.

Valorizando a circunstância de que todos os soros eram de pessoas indiscutivelmente infectadas pelo *T. cruzi*, é justo destacar a sensibilidade pertinente a 1/20. Em outras palavras, os exames de infectados confirmaram o diagnóstico nesse nível de positividade, na casuística utilizada, que inclui HIV-positivos, em diferentes graus de evolução da virose.

Não nos preocupamos com falsas positivities, ou seja, com especificidade e deixamos claro que destacamos a sensibilidade, valorizando a diluição 1/20. Paralelamente, é oportuno concordar com a habitual cautela adotada em Serviços de Hemoterapia que julgam tal grau de positividade incompatível com a aceitação de doadores.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Camargo ME. Introdução às técnicas de imunofluorescência. Revista Brasileira de Patologia Clínica 9: 57-71, 87-107, 143-171, 1974.
2. Ostermayer AL, Alquézar AS, Moreira EF, Zapata MTG, Guimarães MC, Gadelha F, Pereira JB, Arruda AHS, Nasser LF. Recomendações e conclusões da II Reunião do Comitê Técnico Assessor para o Diagnóstico Laboratorial da Doença de Chagas – São Paulo – SP, 19-21/03/96. Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo 38: 328, 1996.
3. Sáez-Alquézar A, Luquetti AO, Borges-Pereira J, Moreira EL, Gadelha MFS, Garcia-Zapata MT, Arruda AHS. Estudo multicêntrico: avaliação do desempenho de conjuntos diagnósticos de hemaglutinação indireta, disponíveis no Brasil, para o diagnóstico sorológico da infecção pelo *Trypanosoma cruzi*. Revista de Patologia Clínica Tropical 26: 343-374, 1997.