

## OBSERVAÇÕES SOBRE O COMPORTAMENTO DO TESTE DO «NITRO-BLUE TETRAZOLIUM» RELATIVAMENTE À TOXOPLASMOSE ADQUIRIDA, FORMA LINFOGLANDULAR \*

Carlos Armando de Ávila \*\*, Jacyr Pasternak \*\*\*  
João Silva de Mendonça e Vicente Amato Neto \*\*\*

*O teste de "nitroblue tetrazolium", apesar de inespecífico, tem-se mostrado útil no sentido de facilitar diagnóstico diferencial relativo a diversas afecções e, sobretudo, de indicar se determinado processo mórbido é presumivelmente bacteriano. Diante da conveniência de analisar o comportamento dessa prova no que concerne a doenças das mais diferentes naturezas, foi efetuada investigação referente à toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular.*

*Quanto à casuística considerada, composta de 26 indivíduos, ficaram detectados valores variáveis de 6% a 50%, mas habitualmente superiores a 17% na vigência de infecção com até quatro meses de duração, de acordo com a época de início das manifestações clínicas. Em face a evoluções já mais prolongadas, as cifras registradas comumente mostraram-se inferiores à por último citada.*

*Nenhum tipo de comprometimento estava presente associadamente, o que permitiu avaliação isenta de ponderáveis influências falseadoras.*

*O estudo efetuado retrata contribuição dotada do intuito de possibilitar eventuais aplicabilidades, do exame em questão, também no âmbito do reconhecimento das enfermidades parasitárias talvez em vigor em determinadas circunstâncias.*

### INTRODUÇÃO

O teste do "nitroblue tetrazolium" tem-se mostrado útil no sentido de facilitar o diagnóstico diferencial relativo a diversas afecções e, sobretudo, com a finalidade de indicar se determinado processo mórbido é presumivelmente bacteriano. A execução dessa prova permite também obter informação acerca do decurso evolutivo de enfermidades, retratando outra virtude, por vezes valiosa em tarefas assistenciais rotineiras, já que o controle de cura recebe outro amparo.

Afigura-se conveniente analisar o comportamento do exame laboratorial em apreço relativamente a doenças das mais diferentes naturezas e, inclusive, aos problemas regionais de muitos países e aos comprometimentos que se apresentam como febres de, origens indeterminadas ou obscuras.

Fatos ligados ao citado teste estão registrados em várias comunicações, entre as quais julgamos oportuno destacar as efetuadas por Park & cols. (10), Cocchi & cols. (1), Park & Good (11), Park & cols. (12), Feigin & cols. (4, 5), Humbert & cols.

\* Trabalho do Serviço de Doenças Transmissíveis, do Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira", de São Paulo (Diretor: Prof. Vicente Amato Neto).

\*\* Médico do Serviço de Doenças Transmissíveis.

\*\*\* Médico-chefe da Seção de Diagnóstico e Terapêutica, do Serviço de Doenças Transmissíveis.

(6), Matula & Paterson (7), Park (9), Douwes (2) e Miescher & Lambert (8). No Brasil, Pasternak (13) e Pasternak & col. (14) preocuparam-se com o tema e, paralelamente à apresentação de apreciável casuística, concretizaram efetiva padronização e descreveram procedimento técnico dotado, em especial, de singeleza; lembramos também a contribuição de Farhat (3), relacionada com a detecção de complicações no decurso do sarampo.

Levando em conta as considerações antes expostas, julgamos oportuno empreender investigação referente à toxoplasmose, estando agora detalhadas as observações que coletamos.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Recorremos à conduta indicada por Pasternak (13) e Pasternak & cols. (14), em prosseguimento explicada.

Utilizamos "nitroblue tetrazolium" da firma "Sigma" e com o de outras procedências não conseguimos emprender a prova. Empregamos o corante a 0,1% (peso/volume), em solução salina, fisiológica, a 0,85%.

Usamos sempre heparina de mesma origem ("Liquémine", "Roche") e o sangue foi sistematicamente colhido e manipulado em recipientes de vidro e, portanto, não trabalhamos com materiais de plástico. Para haver constantemente maior simplicidade, decidimos não incluir a glicose na mistura de incubação.

A técnica adotada envolve obediência aos detalhes a seguir pormenorizados:

a) obtenção de 5 ml de sangue, com seringa molhada interiormente em heparina, em quantidade suficiente para haver umedecimento, sendo rejeitado o excesso;

b) deposição imediata do líquido coletado em tubo estéril e início do exame propriamente dito antes de decorridos 15 minutos em relação à sangria;

c) colocação de 0,5 ml da solução de "nitroblue tetrazolium" em banho-maria a 37°C e, após decurso de pelo menos três minutos, adição de 1 ml de sangue, com conveniente agitação;

d) retirada de alíquota aos 15 minutos, para preparo de esfregaço a ser exposto ao método de Leishman, com fixação no

prazo de 15 a 20 segundos e coloração em fase habitual de sete minutos, havendo acréscimo da costumeira porção, igual, de água;

e) determinação da taxa de neutrófilos "nitroble-tetrazolium" positivos, por contagem de 100 células, consecutivamente;

f) as estruturas computadas são as que englobam granulações negras diferentes das tóxicas habituais, perceptíveis quase sempre em blocos e em quantidades variáveis, possuindo tamanhos até iguais à metade de lobo de núcleo;

g) preparação, paralelamente, de esfregaço de sangue não incubado, para emprego do processo de Leishman e determinação da percentual de neutrófilos, em seguida à apreciação de 200 leucócitos; para estabelecer números globais por  $\text{mm}^3$ , é preciso recorrer às condutas tradicionais ou, para facilitar as tarefas, a aparelhos que funcionam automaticamente;

h) caracterização da cifra absoluta de neutrófilos "nitroblue tetrazolium"-positivos por multiplicação da percentagem registrada pelo valor estabelecido na etapa indicada no item anterior.

Julgamos apropriado frisar que captação não valorizada por nós é perceptível inclusive em monócitos e, eventualmente, em plaquetas.

O diagnóstico de toxoplasmose dependeu das manifestações clínicas presentes e da documentação fornecidas por provas sorológicas e, basicamente, pelos valores de 1/4.000 e 1/8.000 ou superiores, indicados pelas reações de Sabin-Feldman e de imunofluorescência indireta, respectivamente, tendo por vezes ocorrido positividade traduzidas por números como os citados, em seqüência a resultados negativos anteriores. Houve também apoio de pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência e de análises dependentes de fixação do complemento e de hemaglutinação passiva.

A modalidade da parasitose corresponde sempre à linfoglandular e, a fim de afastar ponderáveis influências falseadoras, excluímos os acometimentos associados a quaisquer outras doenças, cuidadosamente procuradas através de condutas rotineiras ou motivadas por eventos específicos.

No Quadro I estão consignados informes suplementares a propósito dos pacientes que serviram de base para este estudo.

## RESULTADOS

As nossas verificações estão registradas nos Quadros I e II.

Pasternak (13) e Pasternak & cols. (14) apuraram a taxa média de 7,2% e as cifras extremas de 2% a 17% na aprecia-

ção que levaram a cabo em São Paulo, no que concerne a indivíduos qualificados como normais.

Os valores contidos nos Quadros citados são bastante diversos e evidenciam oscilações entre 6% e 50%. Analisando a distribuição desses números, percebemos que quanto aos reunidos no grupo A muitos mostraram-se iguais ou superiores a 17% e, sobretudo, os englobados nos itens pertinentes aos segundo, terceiro e quarto meses de evolução; os situados no B comumente não atingiram essa cifra.

## QUADRO I

Teste do "nitroblue tetrazolium" correspondente a pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular: resultados e informações sobre a casuística considerada

Caso nº	Idade (anos)	Sexo	Período decorrido entre o início das manifestações clínicas e a execução da prova	Resultado %	Grupo
1—M.T.T.A.	12	F	29 d	19	A
2—C.F.O.	20	F	22 d	33	A
3—R.M.	7	F	30 d	19	A
4—A.N.C.S.	13	M	10 d	11	A
5—J.E.S.	21	M	15 d	34	A
6—C.F.M.	40	F	21 d	12	A
7—I.M.V.G.	24	F	9 d	17	A
8—H.M.	8	M	27 d	12	A
9—F.T.A.	7	M	28 d	10	A
10—A.W.B.	15	M	51 d	21	A
11—M.Z.P.	44	M	41 d	40	A
12—A.L.Z.	12	M	60 d	23	A
13—A.R.F.	13	M	37 d	29	A
14—L.L.B.	15	M	60 d	49	A
15—A.B.N.	11	M	31 d	32	A
16—A.A.F.	7	F	52 d	10	A
17—E.A.C.R.	2	M	65 d	24	A
18—P.T.C.	2 1/2	F	66 d	31	A
19—M.E.R.	20	F	100 d	50	A
20—R.B.	4	F	120 d	17	A
21—P.L.C.	17	M	105 d	36	A
22—A.P.L.B.	6	M	1 a	10	B
23—O.T.F.	14	M	7 m	6	B
24—R.R.X.	13	M	1 a	14	B
25—S.R.X.	11	F	4 1/2 m	10	B
26—E.V.P.	46	M	8 m	22	B

F: feminino; M: masculino; d: dias; a: ano; m; meses; grupo A: início das manifestações clínicas há menos de quatro meses; grupo B: início das manifestações há mais de quatro meses

## QUADRO II

Teste do "nitroblue tetrazolium" correspondente a pacientes com toxoplasmose adquirida, forma linfoglandular: distribuição dos resultados de acordo com o período decorrido entre o início das manifestações clínicas e a execução da prova

Grupo	Época de execução do teste segundo o início das manifestações clínicas	Resultados (%)
A	Primeiro mês	10, 11, 12, 12, 17, 19, 19, 33, 34
	Segundo mês	10, 21, 23, 29, 32, 40, 49
	Terceiro mês	24, 31
	Quarto mês	17, 36, 50
B	Há mais de quatro meses	6, 10, 10,14, 22

## DISCUSSÃO

Os fatos expostos permitem, acreditamos, efetuar os comentários a seguir especificados.

1 — Não obtivemos percentagens uniformes à realização do teste do "nitroblue tetrazolium" e a variação de 6% a 50% atesta essa conclusão, convindo frisar que selecionamos casuística homogênea, pelo menos em face à escolha de um mesmo tipo clínico da toxoplasmose e ausência de moléstias concomitantes, procuradas conforme as condutas habituais determinam e exigem.

2 — No entanto, ficou patente que em etapas mais precoces do decurso da protozoose e, em especial, nos segundo, terceiro e quarto meses, resultados traduzi-

dos por 17% ou por taxas maiores podem mais frequentemente ser constatados, caracterizando dedução talvez útil em trabalhos assistenciais e diagnósticos rotineiros.

3 — Cremos que em nossa investigação ficaram coletados dados capazes de estimular novas averiguações congêneres e, evidentemente, as fundamentadas em exames mais numerosos e na consideração de outras feições clínicas da infecção humana motivada pelo *Toxoplasma gondii*.

4 — Na verdade, não há dúvida que o estudo que executamos retrata contribuição dotada do intuito de possibilitar eventuais aplicabilidades, do recurso laboratorial em questão, também no âmbito do reconhecimento das parasitoses talvez em vigor em determinadas circunstâncias.

## SUMMARY

*The nitroblue tetrazolium test, although unespecific, seems to be useful to ease the differential diagnosis of several affections, specially in indicating wheter a given illness is of a presumably bacterial nature. Consequently, it is*

worth testing it in diseases of different origin. We carried out here an investigation in cases of acquired toxoplasmosis, lymphadenopathic form.

Twenty-six cases were studied and the obtained values ranged from 6% ou 50%, but usually over 17% during course of the disease up to four months of duration, the starting date being the beginning of clinical symptoms. In cases of longer course the obtained figures were usually lower than 17%.

There was no simultaneous disease in the studied group, thereby disclosing any false positive result.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COCCHI, P., MORI, S. & BECATTI-NI, A. — N.B.T. tests in premature infants. *Lancet*, 2: 1426-1427, 1969.
2. DOUWES, F.R. — Clinical value of NBT test. *N. Engl. J. Med.*, 287: 822, 1972.
3. FARAHT, C.K. — Contribuição ao estudo das complicações bacterianas do sarampo mediante o emprego do teste do "nitroblue-tetrazolium" (N. B. T.) Tese. São Paulo, Escola Paulista de Medicina, 1973.
4. FEIGIN, R.D., SCHACKELFORD, P.G. & CHOI, S.C. — Prospective use of the nitroblue tetrazolium dye test in febrile disorders. *J. Pediat.*, 79: 943-947, 1971.
5. FEIGIN, R.D., SCHACKELFORD, P.G., CHOI, S.C., FLAKE, K.K., FRANKLIN JR., F.A. & EISENBERG, C.S. — Nitroblue tetrazolium dye test as an aid in the differential diagnosis of febrile disorders. *J. Pediat.*, 78: 230-237, 1971.
6. HUMBERT, J.R., MARKS, M.I., HATHAWAY, W.E. & THOREN, C.H. — The histochemical nitroblue tetrazolium reduction test in the differential diagnosis of acute infections. *Pediatrics*, 48: 259-267, 1971.
7. MATULA, G. & PATERSON, P.Y. — Spontaneous in vitro reduction of nitroblue tetrazolium by neutrophils of adult with bacterial infection. *N. Engl. J. Med.*, 285: 311-317, 1971.
8. MIESCHER, P.A. & LAMBERT, H. — L'apport du test au N.B.T. dans le diagnostic des états inflammatoires. *Praxis*, 61: 335-336, 1972.
9. PARK, B.H. — The use and limitations of the nitroblue tetrazolium test as a diagnostic aid. *J. Pediat.*, 78: 376-378, 1971.
10. PARK, B.H., FIKRIG, S.M. & SMITHWICK, E.M. — Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils: a diagnostic aid. *Lancet*, 2: 532-534, 1968.
11. PARK, B.H. & GOOD, R.A. — N.B.T. test stimulated. *Lancet*, 2: 616, 1970.
12. PARK, B.H., SOUTH, M.A., BARRETT, F.F., MONTGOMERY, J.R., HEIM, L. & GOOD, R.A. — The use of the nitroblue tetrazolium reduction (NBT) test in diagnosis and treatment of bacterial endocarditis. *Pediat. Res.*, 4: 463, 1970.
13. PASTERNAK, J. — Padronização e estudo da utilidade clínica do teste do nitroblue-tetrazolium. Tese. Campinas, Fac. Ci. Méd. Univ. Estadual Campinas, 1973.
14. PASTERNAK, J., AMATO NETO, V. & ÁVILA, C.A. — Observações de caráter diagnóstico relativas ao teste do "nitroblue tetrazolium". *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo (em publicação)*.