

EMPREGO DO ANTÍGENO TRÍPLICE, EM FIXAÇÃO DO COMPLEMENTO, PARA O DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA MOLÉSTIA DE CHAGAS, SÍFILIS E BRUCELOSE *

THEREZINA APARECIDA CUNHA**

RESUMO

O método de fixação de complemento em gotas, sobre placas de plástico, usando antígeno misto de cardioli-pina, suspensão de brucelas e extrato de *T. cruzi*, foi utilizado no exame de 112.365 soros provenientes de bancos de sangue e do Hospital das Clínicas de Ribeirão Preto. Os 18.279 soros que reagiram com o antígeno tríplice foram re-examinados com cada um dos antígenos, verificando-se que 77% a 88% deles eram chagásicos, de 8% a 23% eram sífilíticos e que 1% a 3% reagiam com o antígeno de brucelas.

Pela sua simplicidade, economia de tempo e de material, a técnica de fixação de complemento, com antígeno tríplice, se recomenda para a rotina dos bancos de sangue, hospitais e laboratórios de saúde pública.

INTRODUÇÃO

O uso de antígenos mistos em fixação de complemento para exclusão dos doadores chagásicos, sífilíticos, tuberculosos ou lepro-

sos, foi recomendado por Almeida et al.⁴, que verificaram a independência das reações antígeno-anticorpo nesses sistemas.

O emprego da técnica de Fulton & Dumbell⁹, adaptada à sorodiagnose da moléstia de Chagas² poderia justificar o uso de um antígeno misto, por seus resultados serem comprováveis com os obtidos por método quantitativo em tubos, quer empregando hemácias de carneiro, quer hemácias humanas, para o sistema hemolítico, segundo Arantes⁵.

O funcionamento da reação com antígeno tríplice foi estudado por Costa⁷, comparando as curvas de isofixação¹ obtidas em reações com antígenos isolados e com o antígeno tríplice. As curvas se superpunham, demonstrando a perfeita independência dos sistemas moléstia de Chagas, sífilis e brucelose.

No presente trabalho apresentamos os resultados obtidos com a reação de fixação de complemento, em gotas, com o antígeno tríplice, em soros provenientes de

* Trabalho realizado na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

** Técnica da COLRESAN, Ribeirão Preto. Convênio com o Depto. de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

bancos de sangue e de pacientes do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto.

MATERIAL E MÉTODOS

Soros Humanos

Os soros examinados provieram de três amostragens: dos bancos de sangue da cidade de Ribeirão Preto, de 1969 a 1971, totalizando 102.741 soros; do Banco de sangue da COLRESAN, de 1971 a 1974, num total de 7.342 doadores e de pacientes do Hospital das Clínicas, matriculados em 1973, com 2.282 soros.

Antígenos

Os antígenos usados foram os seguintes: CARDIOLIPINA 72, Sylvania, segundo as especificações de Wadsworth¹⁰, suspensão de *Brucella abortus*, segundo Almeida⁴, e os antígenos aquoso⁸ e metílico⁶ de *Trypanosoma cruzi*.

Na composição do antígeno tríplice cada um dos antígenos era diluído ao terço de sua dose de máxima reatividade, misturando-se um volume de cada um deles, com os outros, de forma que cada um ficava diluído apropriadamente.

Técnicas da Reação

A técnica, descrita em detalhe por Almeida³, utiliza salina-borata, três e meia unidades hemolíticas, 50% de complemento, uma gota de 0.01 ml de soro e uma gota de 0.02 ml de antígeno. A incubação preliminar é de 90 minutos a 37.°C em estufa úmi-

da. Hemácias sensibilizadas são empregadas num volume de 0,04 ml e o tempo de hemólise é de 60 minutos.

Os soros reagentes se apresentam com as hemácias íntegras e aglutinadas no centro da gota, sendo a aglutinação favorecida por trepidação da placa, produzida por pancadas ligeiras na sua borda.

Reações negativas são as que se mostram totalmente hemolisadas, de gotas transparentes ou com um pequeno depósito aglutinado de estromas residuais.

Em um e outro caso, a gota controle do soro deve se mostrar hemolisada. Quando não, o soro é classificado de anticomplementar.

Todos os soros reagentes foram re-examinados com cada um dos antígenos para o diagnóstico da ou das infecções. É de se notar que alguns soros podem se mostrar reagentes com o antígeno tríplice, e negativos em reações com os antígenos em separado, por efeito da soma de propriedades anticomplementares de cada um dos antígenos com a do soro em questão.

RESULTADOS

Foram examinados 112.365 soros, dos quais 102.741 provinham dos bancos de sangue de Ribeirão Preto, de 1969 a 1971; 2.282 soros eram de pacientes do Hospital das Clínicas (1973-1974) e 7.342 da Colresan (Coleta Regional de Sangue) de 1971 a 1974.

Os resultados estão apresentados nas Tabelas I e II.

TABELA I

RESULTADOS DOS EXAMES POR FIXAÇÃO DE COMPLEMENTO COM ANTÍGENO TRÍPLICE PARA EXCLUSÃO DA MOLÉSTIA DE CHAGAS, SÍFILIS E BRUCELOSE

Reação Tríplice	Bancos de sangue	Hosp. das Clínicas	COLRESAN	Totais
Reagentes	17.136(16,7%)	669(29,3%)	474(6,5%)	18.279
Não reagentes	85.605(83,3%)	1.613(70,7%)	6.868(93,5%)	94.086
	102.741	2.282	7.342	112.365

TABELA II

RESULTADOS DOS EXAMES COM OS ANTÍGENOS DE CARDIOLIPINA (SÍFILIS), BRUCELAS (BRUCELOSE) E EXTRATOS DE TRYPANOSOMA CRUZI (MOLÉSTIA DE CHAGAS) EM SOROS REAGENTES COM O ANTÍGENO TRÍPLICE.

Moléstia de Chagas	Sífilis	Brucelose	Sub totais
Em 17.136 soros dos Bancos de Sangue			
+	—	—	12.803
+	+	—	566
+	—	+	86
—	+	—	3.325
—	+	+	20
—	—	+	336
13.455	3.911	442	17.136(16,7%)
13,1%	3,8%	0,4%	(percentagem do total)
78,5%	22,8%	2,5%	(percent. dos reagentes)
Em 669 soros do Hospital das Clínicas			
+	—	—	600
+	+	—	16
—	+	—	46
—	—	+	7
616	62	7	699(29,3%)
27,0%	2,7%	0,3%	(percentagem do total)
88,1%	8,8%	1,0%	(percent. dos reagentes)
Em 474 soros de COLRESAN			
+	—	—	358
+	+	—	5
—	+	—	96
+	—	+	1
—	—	+	14
364	101	15	474(6,5%)
5%	1,4%	0,2%	(percentagem do total)
76,8%	21,3%	3,2%	(percent. dos reagentes)

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O exame sorológico dos doadores de sangue e dos pacientes que procuram assistência médica, quando feito em rotina, permite a avaliação das endemias prevalentes na região.

Quando o número de soros a examinar é grande, é altamente conveniente o emprego de técnicas que permitam a exclusão imediata dos soros "Negativos" podendo-se então fazer o re-exame dos soros reagentes, para a identificação da ou das infecções presentes.

A reação de fixação de complemento em gotas sobre placas de plástico^{3,9}, por suas características de precisão, economia, de trabalho e de material, foi empregada, utilizando-se um antígeno composto de cardioliplina¹⁰, suspensão de brucelas⁴ e do antígeno metílico de *T. cruzi*⁶.

No antígeno tríplice empregamos o antígeno metílico⁶ enquanto no exame dos soros reagentes, utilizamos o antígeno aquoso por ser mais específico para soros chagásicos.

O teste inicial em gotas, com o antígeno tríplice, permitiu excluir como soros não reagentes para sífilis, brucelose e moléstia de Chagas, uma proporção que variou de 70% a 94% dos examinados (Tabela I).

Os soros reagentes com o antígeno tríplice foram reexaminados, pela mesma técnica em gotas³, com cada um dos antígenos, diluídos em dose de máxima sensibilidade, para identificar a ou as infecções presentes. Os resul-

tados estão apresentados na Tabela II.

Observando esses resultados, verifica-se que, quando os doadores são selecionados por um cuidadoso interrogatório, a percentagem de chagásicos é muito menor.

Assim, entre doadores de sangue da COLRESAN, somente 5% eram chagásicos, enquanto entre os dos outros hospitais chegavam a 13%. A maior incidência de chagásicos entre os doadores dos bancos de sangue dos hospitais, decorre da prática de se solicitar familiares dos pacientes, doação de sangue. Como em grande parte são pacientes provenientes de zonas endêmicas de doença de Chagas, seus familiares podem estar infectados, como sugere a maior incidência da moléstia (27%) entre pacientes hospitalizados.

Da experiência acumulada no uso do antígeno tríplice em reações de fixação de complemento em gotas, pode-se concluir de sua praticabilidade, recomendando-se para hospitais, bancos de sangue e laboratórios de saúde pública.

SUMMARY

USE OF TRIPLE ANTIGEN IN COMPLEMENT TEST FOR CHAGAS' DISEASE, SYPHILIS AND DIAGNOSIS OF BRUCELLOSIS.

The complement-fixation in drops, using a triple antigen, was employed for screening out sera from Chagas' disease, syphilis or brucellosis. A total of 112,365 sera were tested, from which 18,279 reacted with the triple

antigen (composed of cardioliplín, suspension of brucellas and *T. cruzi* antigen). All the reactive sera were retested with each one of the antigens, in order to identify the infection. Chagas' disease was found in the proportion of 77% to 88% in this group, syphilis from 8% to 23% and 1% to 3% reacted with brucella antigen.

The use of a triple antigen in the complement-fixation test in drops showed very suitable for screening out reacting sera for Chagas' disease, syphilis and brucellosis, for blood donors and patients.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J.O. - Isofixation curves as a method for standardization of quantitative complement-fixation test. *J. Immunol.* 76:259-263, 1956
2. ALMEIDA, J.O. - Técnica da la reacción de fijación del complemento en gotas, para excluir donadores de sangue chagásicos. *Bolet. Ofic. San. Panamer.* 55:133-145, 1963
3. ALMEIDA, J.O. - Estudos sobre a reação de fixação de complemento em brucelose. I. Influência de ordem de se misturar antígeno, anticorpos e complemento, sobre a quantidade de complemento fixado *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 9:63-72, 1967
4. ALMEIDA, J.O., PEDREIRA DE FREITAS, J.L. & BRANDÃO, H. - Complement-fixation test with triple antigen for syphilis, tuberculosis, leprosy of Chagas' disease. *Amer. J. Trop. Med.* 3:490-494, 1954
5. ARANTES, M.A.A. - Emprego da reação de fixação de complemento em gotas com um antígeno tríplice é sistema hemolítico anti-homem, em bancos de sangue. Tese da Fac. Med. Ribeirão Preto. Mimeografada. 62 pgs. 1970.
6. BARACCHINI, O., COSTA, A. & CARLONI, J. - Emprego do calor e do metanol no preparo de antígeno de *Trypanosoma cruzi*. *O Hospital*, 68: 193-199, 1965
7. COSTA, A. - Estudo da reação de fixação de complemento com antígeno tríplice. Tese da Fac. Farmácia e Odontologia de Ribeirão Preto. Mimeografada. 134 pgs., 1964
8. FREITAS, J.L.P. & ALMEIDA, J.O. - Nova técnica de fixação de complemento para moléstia de Chagas. Reação quantitativa com antígeno gelificado de culturas de *Trypanosoma cruzi*. *O Hospital* (Rio de Janeiro), 35:787-800, 1949
9. FULTON, F. & DUMBELL, K.R. - The serological comparison of strains of influenza virus. *J. Gen. Microbiol.* 3:97-111, 1949
10. WADSWORTH, A.B. - Standard methods of the Division of Laboratories and Research of the New York State Department of Health. Third Ed. The Williams and Wilkins Co., 1947.