

DISCREPÂNCIAS RELATIVAS ENTRE RESULTADOS DE REAÇÕES DE GUERREIRO-MACHADO EXECUTADAS EM TRÊS DIFERENTES LABORATÓRIOS*

ALOISIO PRATA** WILSON MAYRINK*** ALTINA G. SODRÉ****
JOSÉ OLIVEIRA DE ALMEIDA*****

RESUMO

Soros de pacientes chagásicos foram examinados em três diferentes laboratórios. Dezesesseis soros de 26 casos agudos de moléstia de Chagas reagiram positivamente nos três laboratórios. Isoladamente, em um laboratório, 24 soros foram positivos, em outro, 23 e no último apenas 20. Em casos de moléstia de Chagas crônica, com xenodiagnóstico positivo, um dos laboratórios reportou 117 reações positivas em 123 soros (95%), outro, 39 positivos em 44 soros (89%) e em outro, 144 reações em 224 soros (64%).

Em 339 soros examinados nos três laboratórios, 158 foram positivos em um, 131 em outro e 127 no terceiro.

Quando se compararam os resultados obtidos em um e outro laboratório, verificou-se que 15% dos so-

ros tinham reações discrepantes entre o segundo e terceiro laboratórios; 22% de resultados em conflito entre o primeiro e o terceiro e 29% de reações contraditórias entre o primeiro e o segundo laboratórios.

Os dados indicam a necessidade de se adotarem as mesmas normas de preparo e padronização dos reagentes, assim como a adoção da técnica de fixação de complemento baseada no conhecimento das relações quantitativas entre os elementos da reação.

INTRODUÇÃO

O estudo da discrepância relativa entre os resultados obtidos por reação de fixação de complemento com antígeno de *Trypanosoma Cruzi* foi feito por Almeida e Siqueira⁶, com soros chagásicos examinados em duplicado. Observaram esses autores que em

* Trabalho realizado nos laboratórios da Fundação Gonçalo Muniz, em Salvador - Bahia, no Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e no Instituto Nacional de Endemias Rurais, em Belo Horizonte. MG.

** Professor Catedrático da Universidade de Brasília, D.F.

*** Laboratorista de Sorologia do Centro de Pesquisas Rene Rauchou. INERU., MG.

**** Professor da Fundação Gonçalo Muniz, Salvador, Bahia.

***** Professor da Fundação de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, USP.

pares de reações paralelas e simultâneas, utilizando-se os mesmos reativos, as discrepâncias observadas e produzidas por erros técnicos, não eram de maior grandeza e frequência, que as determinadas em outros sistemas, como sífilis⁷ e lepra⁴. Desses estudos se pode concluir que os mesmos critérios adotados naqueles sistemas, para a avaliação de antígenos, podiam ser empregados na reação de **Guerreiro-Machado**¹⁰, por técnica quantitativa, com o antígeno de **T. cruzi** preparado segundo **Freitas e Almeida**⁹.

No entanto, antígenos preparados por outros métodos aliados à técnicas diversas de fixação de complemento, poderiam dar resultados discrepantes, quando os mesmos soros eram examinados nessas diferentes condições.

Neste trabalho são apresentados os resultados obtidos nos mesmos soros examinados nos laboratórios da Fundação Gonçalo Muniz, em Salvador - Bahia, no Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto e no Instituto Nacional de Endemias Rurais, em Belo Horizonte.

MATERIAL E MÉTODOS

Soros humanos

Os soros foram de pacientes residentes em São Felipe, no Recôncavo Baiano. Vinte e seis pacientes estavam em fase aguda da moléstia de Chagas e 224, em fase crônica, com tripanosomas demonstráveis por xeno-diagnose. Além desses soros, foram exami-

nados pelos três laboratórios mencionados, trezentos e trinta e nove soros, colhidos na mesma área.

Antígenos

Dois tipos de antígenos foram empregados: o antígeno gelificado cloroformado, preparado segundo **Freitas e Almeida**⁹, e o extrato metílico, de acordo com a técnica de **Batista e Santos**⁸.

Técnica da reação de fixação de complemento

Nos três laboratórios a técnica básica da reação foi a descrita por **Freitas e Almeida**⁹, com pequenas alterações.

O soro humano foi usado no volume de 0,05 ml. de antígeno em dose de máxima reatividade³ no volume de 0,1 ml. sendo o complemento empregado na dose de 3,0 a 3,6 unidades hemolíticas 50%. O tempo de incubação para a fixação foi de 90 minutos e para hemólise de 15 a 30 minutos a 37°C. Em dois laboratórios, reações com títulos menores que 1,7 eram consideradas não reagentes enquanto em outro, definia-se um resultado negativo pela hemólise total no tubo reação. Em dois laboratórios empregou-se somente o antígeno cloroformado de **Freitas e Almeida**⁹, enquanto em outro empregou-se também o antígeno metílico de **Batista e Santos**⁸.

RESULTADOS

1. Dos soros de 26 pacientes em fase aguda da moléstia de Chagas

apenas 16 tiveram reações positivas, coincidentes, de fixação de complemento nos três laboratórios. Isoladamente um dos laboratórios apresentou 20 resultados positivos, outro 23 e o último 24. Nenhum dos soros apresentou resultado negativo concomitantemente, pelos três laboratórios.

2. Soros de pacientes com xeno-diagnóstico positivo foram examinados pelos três laboratórios, numa amostragem desigual. Em um dos laboratórios, dos 224 soros examinados obtiveram resultados positivos em apenas 144 (64%); noutro, em 44 soros teve 39 (89%) reações positivas e um terceiro laboratório em 123 soros apresentou 117 (95%) reações positivas.

3. Trezentos e trinta e nove soros foram examinados pelos três laboratórios. Um deles reportou 127 reações positivas, um outro 158 e o terceiro 131.

Quando se compararam os resultados obtidos pelo primeiro e segundo laboratórios verificou-se que 28,6% dos soros tinham reações em conflito. Entre o primeiro e o terceiro laboratórios, 22,4% dos soros tinham reações discordantes, enquanto entre o segundo e terceiro laboratórios, 15% dos soros tinham reações discrepantes.

DISCUSSÃO

As discrepâncias observadas entre os resultados da reação de **Guerreiro-Machado**, de três laboratórios, não podem ser consequência das pequenas diferenças da técnica de fixação de complemento preconizada por **Freitas e Almeida**⁹.

Maior influência teria a diversa reatividade dos antígenos empregados: o antígeno benzeno-cloroformado⁹ e o antígeno metílico⁸ de **T. cruzi**. Em recentes investigações levadas a efeito pelo "Grupo de Estudos sobre a avaliação de antígenos de *Trypanosoma cruzi*" sobre os auspícios da Organização Panamericana de Saúde ficou demonstrada a diversa reatividade específica de antígenos preparados em diferentes laboratórios.

Outros fatores podem influenciar na sensibilidade da reação de fixação de complemento, como o congelamento e o degelo de soros¹, a re-inativação a 56°C de soros já inativados, a manutenção de soros em geladeira² e eventuais contaminações bacterianas.

Quando, no entanto, os mesmos soros foram examinados num mesmo laboratório, com a mesma técnica, diferenciando apenas o antígeno, os resultados foram comparáveis quanto à sensibilidade, de acordo com **Salgado et al.**¹¹.

As discrepâncias dos resultados verificados entre os três laboratórios, mostram claramente a necessidade de uma padronização rigorosa dos elementos da reação de fixação de complemento, dentro de critérios já adotados para outros sistemas, como lepra⁴ e sífilis⁵.

As normas adotadas e preconizadas³ baseiam-se nas relações quantitativas entre os elementos da reação de **Guerreiro-Machado** determinadas pelas curvas de isofixação³. É no entanto mister fazer uma verificação preliminar sobre a incidência de discrepân-

cias relativas entre pares de reações simultâneas de fixação de complemento, para que não se impute ao antígeno a diferença de resultados devidos erros técnicos⁶.

SUMMARY

RELATIVE DISCREPANCIES BETWEEN RESULTS OF GUERREIRO-MACHADO REACTIONS IN THREE DIFFERENT LABORATORIES.

Sera from chagasic patients were tested by complement-fixation with *T. cruzi* antigens, in three different laboratories. Sixteen sera from twenty six acute cases of Chagas' disease gave positive results in all three laboratories; however in one of them 24 sera reacted, in another 23 and in the last, only 20. In chronic cases of the disease, with positive xenodiagnostic, one of the laboratories reported 117 positive reactions in 123 sera (95%); in another 39 reacted among 44 (89%) sera and in the last 144 reactions were obtained in 224 sera (64%).

When 339 sera were tested in the three laboratories, 158 were reported as positive in one, 131 in another and 125 by the last one.

The data show that it is necessary to standardize the reagents and the technic employed in the complement fixation test in order to have results which can be compared with each other.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALMEIDA, J.O. - Wassermann quantitativo. Alteração do título em soro congelado e degelado várias vezes. *Folia Clínica et Biologica*, 19:3-6, 1952. (Em colaboração com C. Padron).
2. ALMEIDA, J.O. - Estudos sobre as reações de fixação de complemento. I alteração de títulos em reações de fixação de complemento pela inativação e manutenção dos soros em geladeiras, nos sistemas sífilis, doença de Chagas, tuberculose e lepra. (Em colaboração com Luiz Gonzaga Saraiva e Victor Nussenzweig). *Rev. Paul. Med.*, 43 (5):446, 1953.
3. ALMEIDA, J.O. - Isofixation curves as a method for standardization of quantitative complement fixation test. *J. Immunol.*, 76:259-263, 1956.
4. ALMEIDA, J.O. - Preparo, padronização e comparação de antígenos em reações quantitativas de fixação de complemento com soro de doentes de lepra. *Rev. Brasil. Leprol.* 26 (3,4): 181-271, 1958.
5. ALMEIDA, J.D. & FIFE, E.JR. - The PAHO quantitative complement-fixation technic for the evaluation of antigens prepared from cultures of *Trypanosoma cruzi*, 1974. Em publicação.
6. ALMEIDA, J.O. & SIQUEIRA, A.F. - Estudo da discrepância relativa entre pares de reações simultâneas de fixação de complemento no sistema moléstia de Chagas. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 2(4):204-212, 1960.
7. ALMEIDA, J.O. & THOMPSON, W.R. - Sequential tests of antigen componets. Influence of technical variability and of producer aim. Annual Report of the Div. Lab. Res. New York State Dep. Health, 35-36, 1955.
8. BATISTA, M.S. & SANTOS, U.M. - Antígeno metílico de cultura de *Schizotrypanum cruzi*. *O Hospital*, 56 (6): 1045-1051, 1959.
9. 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*, 35:787-800, 1949.
10. GUERREIRO, C. & MACHADO, A. - Da reação de Bordet e Gengou na moléstia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. *Brasil. Med.* 27 (23): 225-226, 1913.
11. SALGADO, A.A., MAYRINK, W. & DIAS, J.C.P. - Estudos comparativo entre a reação de fixação de complemento, com os antígenos benzeno-clorofornado e metílico e o xenodiagnóstico. *Rev. Inst. Med. Trop. São Paulo*, 12 (1): 36-40, 1970.