

## TESTE DO LATEX NO DIAGNÓSTICO DO CALAZAR AMERICANO

Wilson MAYRINK<sup>(1)</sup>, Cléa de Andrade CHIARI<sup>(2)</sup>, Paulo Araújo MAGALHÃES<sup>(3)</sup>  
e Carlos Alberto da COSTA<sup>(4)</sup>

### RESUMO

Os Autores realizaram o teste de aglutinação de partículas de latex de poliestireno, previamente sensibilizadas com antígeno heterólogo, em 30 soros de pacientes portadores de leishmaniose visceral americana. A aglutinação foi positiva em todos os casos. Como testemunho negativo foram utilizados 26 soros provenientes de indivíduos normais e, como controle, soros de pacientes com diagnóstico comprovado para tuberculose, Doença de Chagas, lepra e leishmaniose tegumentar. A reação mostrou-se específica para Calazar.

### INTRODUÇÃO

A leishmaniose visceral, no Brasil, é uma doença endêmica que tem sido assinalada principalmente em regiões rurais de difícil acesso. Várias pesquisas foram realizadas em busca de métodos de diagnóstico específicos, sensíveis, de fácil execução e que possam substituir a reação de fixação do complemento nos levantamentos epidemiológicos e no diagnóstico desta parasitose. Visando-se, principalmente, eliminar as dificuldades decorrentes da coleta, conservação e transporte de amostras de sangue foi estudada a possibilidade do emprêgo da reação de aglutinação de partículas de latex sensibilizadas com antígeno heterólogo (BCG), no diagnóstico da leishmaniose visceral. A reação sendo realizada em lâmina, utilizando uma pequena quantidade de soro e um antígeno de fácil preparação e estável, e dispensando a utilização de aparelhos ópticos para leitura dos resultados, poderá ser executada no campo, em localidades de pequeno recurso ou em levan-

tamentos epidemiológicos de áreas em que forem assinalados surtos da leishmaniose.

O emprêgo de aglutinação de partículas de poliestireno sensibilizadas com antígeno específico tem facilitado o diagnóstico de algumas doenças infecciosas. CARLISLE & LASLAW<sup>2</sup> conseguiram resultados satisfatórios empregando partículas de latex sensibilizadas com antígeno de *Histoplasma capsulatum* em teste com soros de macacos e coelhos imunizados com o referido antígeno. INNELA & REONER<sup>3</sup>, trabalhando com partículas de latex sensibilizadas com extrato de *Trichinella spiralis* obtiveram sensibilidade e especificidade iguais às da reação de fixação do complemento, em soros de indivíduos comprovadamente positivos para *Trichinella*. Assinalaram que em alguns casos a prova de latex mostra-se mais sensível. Também MURASCHI<sup>4</sup> verificou que a aglutinação de partículas de latex sensibilizadas com extrato de *Leptospira* é uma reação simples e de fácil leitura para o diagnóstico de leptospirose.

Trabalho realizado no Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais com auxílio do CPq — UFMG e convênio SUCAM-Vale do Rio Doce

- (1) Professor Titular do Departamento de Zoologia e Parasitologia do ICB da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil
- (2) Professora Auxiliar de Ensino do Departamento de Zoologia e Parasitologia do ICB da U.F.M.G.
- (3) Médico Sanitarista do Ministério da Saúde
- (4) Laboratorista do Departamento de Zoologia e Parasitologia do ICB da U.F.M.G.

BRAY & LAINSON<sup>1</sup> sensibilizaram partículas de latex com antígenos provenientes de várias cepas de *Leishmania* e experimentaram o teste de aglutinação com a finalidade de diferenciação das espécies do gênero. Segundo os Autores, a fração sensibilizadora comum a todas as espécies estudadas é de natureza protéica.

SINGER<sup>6</sup> estudou o sistema de fixação para o latex em doenças reumáticas chegando à conclusão de que a reação sorológica para artrite reumatóide detecta certas macroglobulinas agrupadas sob a denominação geral de "fatores reumatóides". O título da reação de fixação pelo latex, de 1:20 ou maior, é indicativo da presença de macroglobulinas reativas com gamaglobulinas existente na superfície das partículas de latex.

TODOIOVIE & col.<sup>7</sup> associaram partículas de latex com soros ou hemácias obtidas de galinhas infetadas com *Plasmodium gallinaceum* em fase aguda. Os Autores observaram que a reação não funcionou quando o latex foi sensibilizado por eritrócitos. Quando a sensibilização foi realizada com soro verificaram ser positiva para soros humanos de pacientes com *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae* e *P. ovale* ou para soros de outros animais — macacos e roedores — infetados com plasmódios. Não foram observadas reações cruzadas com sífilis, babesiose e leptopirose.

#### MATERIAL E MÉTODOS

*Preparo do antígeno* — Em vidro âmbar, com rôlha esmerilhada, colocou-se uma grama de BCG liofilizado ao qual foram adicionados, agitando-se, 30 ml de acetona. A mistura foi deixada em repouso por 24 horas, findas as quais realizou-se nova purificação por duas vezes consecutivas. Após a terceira purificação em acetona, o BCG foi colocado em estufa a 37°C para secagem. Ao BCG seco adicionou-se 100 ml de álcool metílico a fim de se processar à extração do antígeno. A suspensão foi deixada à temperatura ambiente durante 15 dias obtendo-se assim o mesmo antígeno utilizado na reação de fixação do complemento para o diagnóstico de Calazar. Tomou-se 100 ml deste extrato metílico e colocou-se em evaporador "Flash-Evaporator", à temperatura de 37°C e ao vácuo. O material evaporado foi adicionado de, aproximadamente, 20 ml de solução salina de

modo que a suspensão obtida fôsse cinco vezes mais concentrada em relação ao volume original do extrato metílico. Esta suspensão foi centrifugada a 10 000 rpm durante 10 minutos, obtendo-se três camadas. Com auxílio de uma agulha montada em seringa, colheu-se aliquotas das diferentes camadas. Verificou-se que somente a camada intermediária apresentou atividade antigênica, e foi usada para sensibilizar as partículas de latex.

*Preparo do latex* — Empregamos latex Difco, partículas do tamanho 0,81  $\mu$ , padronizadas segundo RHEINS & col.<sup>5</sup>, tendo sido feita a sensibilização segundo os Autores citados e com modificações segundo as quantidades. Procedeu-se do seguinte modo: 1 ml da preparação de latex Difco foi suspenso em 10 ml de água destilada e em seguida filtrado em papel Watman n.º 40. Ao filtrado adicionou-se tampão borato pH 8,2, contendo NaCl a 0,85%, de modo que 0,1 ml da solução de latex, adicionado a 10 ml de tampão, correspondesse a uma transmitância de 70%, medida em espectrofotômetro com comprimento de onda de 650 nm.

*Sensibilização do latex* — A suspensão de volumes iguais de antígeno e latex foi mantida em banho-maria a 37°C durante uma hora.

*Soros* — Foram utilizados soros de 30 pacientes portadores de Calazar, todos com a reação de fixação do complemento positiva. Em 26 casos comprovou-se a presença de leishmânias pelo exame direto e pela cultura do material obtido através de punção esternal.

A fim de avaliar a especificidade da reação do latex, examinou-se soros de pacientes comprovadamente positivos para leishmaniose cutânea, Doença de Chagas, tuberculose e lepra. Foram também testados 30 soros negativos, provenientes de indivíduos normais.

*Técnica da reação* — Os soros foram inativados a 56°C durante 30 minutos e diluídos a 1:10 em salina. Em seguida, uma gota de soro foi colocada em uma lâmina à qual foi adicionada uma gota da suspensão de latex previamente sensibilizado. Após agitação durante 30 a 60 segundos foi realizada a leitura.

## RESULTADOS

Os resultados das reações de aglutinação

de partículas de latex acham-se expostos na Tabela I.

TABELA I

Resultados da reação de aglutinação de partículas de latex em soros humanos diluídos a 1:10, de pacientes de Calazar, de outras doenças e de indivíduos normais

Tipo de soro	N.º de amostras	Reagentes	Não reagentes
Calazar	30	30	0
Tuberculose	15	—	15
Chagas	10	—	10
Lepra tuberculóide	3	—	3
Lepra lepromatosa	3	—	3
Leishmaniose tegumentar	12	—	12
Testemunhas normais	30	—	30

## DISCUSSÃO

No presente trabalho visou-se aplicar ao diagnóstico do Calazar a técnica de aglutinação de partículas de latex sensibilizadas pelo extrato metílico de BCG.

Os resultados obtidos mostraram que não ocorre reação cruzada com soros de pacientes comprovadamente positivos para leishmaniose tegumentar, Doença de Chagas e tuberculose, o que nos leva a admitir ser a mesma específica para Calazar.

A sensibilidade da reação foi de 100% (30 soros, 30 reações positivas) utilizando soro diluído a 1:10. A especificidade também foi de 100% pois de 73 soros, não de Calazar, todos foram negativos, utilizando soros diluídos a 1:10. Em soros não diluídos observaram-se reações falso positivas, como aliás foi assinalado por SINGER<sup>6</sup>, na reação do latex para artrite reumatóide.

Em vista dos bons resultados obtidos, o teste de latex poderá ser indicado para levantamentos epidemiológicos do Calazar em zonas endêmicas, após experimentação em maior número de casos.

## SUMMARY

### *Latex test for diagnosis of American Kala-Azar*

A latex agglutination test for the serological diagnosis of Kala-Azar is described. Assays have been done on the sera from 30 patients presenting *L. donovani* infections using as antigen latex particles sensitized with heterologous BCG antigen. All Kala-Azar sera positive by standard methods produced agglutination of latex particles and this test showed to be specific for visceral leishmaniasis.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BRAY, R. S. & LAINSON, R. — Studies on the immunology and serology of leishmaniasis. V — The use of particles as vehicles in passive agglutination tests. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 61:490-505, 1967.
2. CARLISLE, H. N. & LASLAW, S. — A histoplasmin latex agglutination test. I — Results with animal sera. *J. Lab. Clin. Med.* 51:793-801, 1958.

3. INNELA, F. & REDNER, W. J. — Latex-agglutination serologic test for trichinosis. *J. Amer. Med. Ass.* 171:885-887, 1959.
4. MURASCHI, T. F. — Latex-leptospiral agglutination test. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 99:235-238, 1958.
5. RHEINS, M. S.; McCOY, F. W.; BURREL, R. G. & BUEHLER, E. V. — A modification of the latex-fixation test for the study of rheumatoid arthritis. *J. Lab. Clin. Med.* 50: 113-116, 1957.
6. SINGER, M. J. — The latex fixation test in rheumatic diseases. *Amer. J. Med.* 31:766-773, 1961.
7. TODOIOVIC, R.; MIODRAG, R. & DEAM, F. — A tube latex agglutination test for the diagnosis of Malaria. *Trans. Roy Soc. Trop. Med. Hyg.* 62:58-68, 1968.

Recebido para publicação em 13/8/1971.