

DIAGNÓSTICO DA TOXOPLASMOSE ADQUIRIDA, FORMA GANGLIONAR, MEDIANTE UTILIZAÇÃO DE GÂNGLIOS LINFÁTICOS E INOCULAÇÃO EM CAMUNDONGOS

João Silva de MENDONÇA (1), Vicente AMATO NETO (2) e José Xavier COTRIM (3)

R E S U M O

Com base em casuística composta por 38 doentes com toxoplasmose adquirida, forma ganglionar, caracterizada através de elementos de ordem clínica e laboratorial, analisaram os Autores o aspecto relativo à confirmação etiológica dependente da utilização de gânglios linfáticos e inoculação em camundongos. Registraram a taxa de positividade de 60,5%, considerada expressiva em confronto com valores variáveis de 26% a 75%, indicados em comunicações científicas sobre o assunto. Foi salientado que a porcentagem estabelecida, derivada da técnica posta em prática, pode inegavelmente orientar especulações diagnósticas e facilitar interpretações diante de situações surgidas no âmbito de trabalhos assistenciais rotineiros.

I N T R O D U Ç Ã O

O diagnóstico da toxoplasmose não pode ser exclusivamente clínico. Há necessidade de confirmá-lo por exames laboratoriais, com o desiderato de obter a confirmação etiológica.

É lícito reconhecer que, presentemente, provas sorológicas vêm merecendo ampla e costumeira utilização, em clara desproporção com a procura de documentação da natureza da doença por demonstração e isolamento do *Toxoplasma gondii*. Os métodos de Sabin-Feldman, imunofluorescência indireta, fixação do complemento e hemaglutinação passiva, ao lado da pesquisa de anticorpos IgM antitoxoplasma por imunofluorescência, pelo menos em São Paulo são agora habitualmente preferidos, porque encontram-se padronizados, têm sensibilidades bem avaliadas e dependem apenas de contar com soro, compondo facilidade maior que a imanente a determinações mais trabalhosas e, por vezes, conclusivas só depois de fase com relativamente grande duração,

inoportuna se valorizada a conveniência de logo definir situação de ordem assistencial.

Nesse contexto, assume relevância a modalidade ganglionar da toxoplasmose adquirida, que é razoavelmente comum e entra em cena, de maneira reiterada, em tarefas rotineiras relacionadas com atendimentos clínico-diagnósticos de caráter prático. A propósito desse tipo de parasitose, freqüente como foi frisado, o valor de táticas destinadas a mostrar a presença do agente causal deve sofrer abordagens prioritárias, para situá-las adequadamente no grupo de recursos indicados para delinear com segurança o rótulo etiológico. Como fruto dessa maneira de encarar o assunto, decidimos investigar o mérito de tentativa de elucidação calcada na retirada de gânglios linfáticos para inoculação em camundongos.

O tema já mereceu observações por parte de múltiplos pesquisadores e algumas experi-

Hospital do Servidor Público Estadual «Francisco Morato de Oliveira», de São Paulo. Serviço de Doenças Transmissíveis

(1) Médico do Serviço de Doenças Transmissíveis

(2) Diretor do Serviço de Doenças Transmissíveis

(3) Técnico de laboratório da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

mentações, segundo nossa interpretação, não chegaram a definir o rendimento do processo, como consequência das pequenas casuísticas coletadas 3,4,7,8,11,12,14,15,16,17,19. Os estudos de maior porte estão, por seu turno, apontados na discussão da presente publicação.

Recorremos a procedimento sem dúvida factível, justamente para conhecer em que grau atitude isenta de sensíveis dificuldades concede auxílio, sem esbarrar em percalços, evidentemente mais notórios em locais pouco providos de recursos materiais. As comunicações que compõem a literatura médica, genericamente, indicaram parâmetros que precisamos não olvidar e estão adiante sumarizados: a) cobaia, camundongo e hamster são animais que permitem eficientes inoculações; b) a eventual infecção crônica latente neles representa empecilho e o roedor em segundo lugar citado é o mais livre dela; c) o problema lembrado no item anterior torna aconselhável efetuar prova sorológica, como controle, antes da injeção; d) o camundongo, mormente se jovem, é tido como altamente suscetível, possibilitando o exame de exsudato peritoneal com muitos parasitas; e) as vias preferidas são a intraperitoneal e a intracerebral, com predileção por aquela; f) não há uniformidade quanto às proposições referentes ao número de passagens a realizar e virulência da cepa, assim como a quantidade de protozoários inoculados, ficaram indicadas como influentes; g) o seguimento através de provas sorológicas afigura-se apropriado; h) a pequena resistência do *T. gondii* a condições adversas torna prudente aproveitar logo os materiais coletados; i) emprego prévio de corticóide chegou a ser proposto, como tentativa de aumentar a oportunidade de recuperação de amostras pouco virulentas 1,5,6,9,18,20.

A infecção espontânea de camundongos criados em laboratório, desde que respeitadas normas convenientes, não é habitualmente esperável. No Instituto Biológico de São Paulo, com produção anual de 60.000, ela nunca foi assinalada, refletindo fato digno de ênfase e contestador de algumas opiniões em contrário.

Como, em certas pessoas, cistos permanecem em tecidos durante muitos anos, resultado positivo de inoculação não indicaria, com

certeza, acometimento agudo. Entretanto, tal interpretação não seria válida no que diz respeito a gânglios linfáticos, podendo isolamentos deles originados ter nexos bastante provável com agressão ativa ou recente.

MATERIAL E MÉTODOS

Contamos com casuística composta por 38 doentes, de ambos os sexos e com idades de 13 meses a 66 anos, atendidos no Serviço de Doenças Transmissíveis, do Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira", de São Paulo. Todos estavam acometidos de toxoplasmose adquirida, forma ganglionar, diagnosticada com base em dados de ordem clínica e em prova sorológica de Sabin-Feldman, que sempre mostrou teor de anticorpos igual ou superior a 1/4.000 ou passagem de resultado negativo para positivo, à evolução da moléstia.

Após a exérese cirúrgica, colocamos parte do gânglio linfático removido em solução fisiológica estéril, conservando-a em geladeira, a 4-8°C, até a inoculação, realizada sempre antes de decorridas 24 horas. A tal material, triturado nas condições mais assépticas possíveis e em suspensão aproximadamente a 1:5 no veículo já citado, adicionamos penicilina G, de acordo com a quantidade de 100 unidades por ml, com o intuito de evitar eventual contaminação bacteriana.

Em três camundongos brancos, preferentemente jovens, com um a dois meses de idade, inoculamos pela via intraperitoneal cerca de 0,2 ml da preparação antes descrita. Os animais, procedentes do Biotério da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, foram considerados livres de infecção pelo *Toxoplasma gondii*, naturalmente adquirida, em virtude de várias circunstâncias ligadas ao emprego deles em trabalhos desenvolvidos a propósito de verificações rotineiras de caráter parasitológico.

Decorrido período de observação de 21 dias, se os roedores permaneciam aparentemente sadios eram sacrificados, ocorrendo exame microscópico do líquido peritoneal e do tecido cerebral, com reinoculação, paralelamente, a igual número de camundongos. Em face a adocimento, traduzido por adinamia e pelos

erçados, por exemplo, as mencionadas provi-
dências ficavam antecipadas.

Procedemos, no máximo, a quatro repi-
ques e executamos as análises microscópicas
em lâminas, a fresco ou em seguida à colora-
ção pela técnica de Leishmann. Positividade
esteve sempre configurada pelo encontro de
formas típicas do protozoário.

Morte precoce, pouco tempo depois da ino-
culação, com a influência de bactérias consi-
derada muito viável, demarcou resultado in-
terpretado como inconclusivo.

Não recorremos, durante a investigação
pertinente aos animais, a exames histopato-
lógicos e a provas sorológicas.

RESULTADOS

As nossas observações fundamentais estão
registradas no Quadro I.

Q U A D R O I

Diagnóstico da toxoplasmose adquirida, forma linfo-
ganglionar, mediante utilização de gânglios linfáticos
de 38 pacientes e inoculação em camundongos

Resultado	Número de pacientes	Porcentagem
Negativo	13	34,2
Inconclusivo	2	5,2
Positivo	23	60,5

No Quadro II fornecemos informações
úteis à melhor interpretação dos dados cons-
tatados e relacionados com o tempo de dura-
ção da doença na ocasião da retirada do gân-
glio.

Q U A D R O II

Tempo de duração da toxoplasmose adquirida, forma
linfoganglionar, na ocasião da retirada de gânglios lin-
fáticos de 38 pacientes para inoculação em camundongos

Resultado	Período médio de duração, em dias	Duração extrema, em dias
Negativo	65	28 a 163
Positivo	87,6	27 a 240

Vale a pena assinalar, nesta oportuni-
dade, que não percebemos correlação sistemá-

tica entre os três padrões histológicos que
identificamos e que designamos como "S" ou
sugestivo de toxoplasmose, "I" ou inespecífico
e "L" ou confundível com linfoma, conforme
detalharemos em futura publicação, e os acha-
dos provenientes das inoculações.

DISCUSSÃO

O rendimento de 60,5% que demonstramos
é expressivo se comparado aos relatados nas
diferentes comunicações pertinentes ao assun-
to. Ele serve, paralelamente, para valorizar a
qualidade da seleção clínico-sorológica que
efetuamos.

Pesquisa mais precoce talvez influa na po-
sitividade e as médias consignadas no Quadro
II são indícios da veracidade dessa afirmação.

Não buscamos auxílio em sensíveis sofis-
ticações e, mesmo assim, conseguimos ponde-
ráveis sucessos, talvez coerentes com trabalho
pleno de rigor, se bem que presentemente re-
inoculações não são interpretadas como cos-
tumeiramente necessárias, fazendo com que se
consiga encurtamento do prazo de espera pa-
ra definição do diagnóstico¹⁶.

Em confronto com as porcentagens en-
contradas em notificações científicas e que os-
cilaram de 26% a 75%, a que conseguimos afi-
gura-se, repetimos, alta, especialmente em fa-
ce ao tipo de metodologia usada. A diversida-
de de cifras, tão ampla, tem ligação, sem dú-
vida, com numerosas circunstâncias e, a res-
peito, à heterogeneidade de procedimentos de-
ve-se obviamente imputar responsabilidade
maior^{4,5,10,13,17,18}.

A taxa que estabelecemos, derivada do pro-
cesso posto em prática, pode inegavelmente
orientar especulações diagnósticas e facilitar
interpretações diante situações surgidas no
âmbito de trabalhos assistenciais rotinei-
ros.

SUMMARY

**Lymphadenopathic acquired toxoplasmosis:
diagnosis through inoculation of lymph nodes
in mice**

The Authors analysed the etiologic con-
firmation of 38 patients with lymphadenopa-

thic acquired toxoplasmosis, whose diagnosis was based on clinical and laboratory grounds, through inoculation of lymph nodes in mice. This relatively simple method allowed a 60.5% positivity rate, considered as expressive compared with the range of 26-76% found in the literature. The Authors emphasized the fact that such a simple procedure may undoubtedly help differential diagnosis and interpretations in routine medical practice.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABBAS, A. M. A. — Comparative study of methods used for the isolation of *Toxoplasma gondii*. *Bull. WHO* 36: 344-346, 1967.
2. AMATO NETO, V. & CAMPOS, R. — *Toxoplasmose*. 2ª Ed. Rio de Janeiro e São Paulo, Livraria Atheneu S.A., 1970.
3. ARMSTRONG, C. & MACMURRAY, F. G. — Toxoplasmosis found by recovery of *Toxoplasma gondii* from excised axillary gland. *JAMA* 151: 1103-1104, 1953.
4. BEVERLY, J. K. A. & BEATTIE, C. P. — Glandular toxoplasmosis. A survey of 30 cases. *Lancet* 2: 379-383, 1958.
5. DESMONTS, G. & VINH, L. T. — L'isolement du toxoplasme par inoculation à l'animal. *Rev. Franc. Études Clin. Biol.* 2: 555-565, 1957.
6. EICHENWALD, H. F. — The laboratory diagnosis of toxoplasmosis. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64: 207-211, 1956.
7. ETCHEVERRY, R.; REGONESI, C.; GUZMAN, C.; KATALINIC, V.; NAQUIRA, F. & THIERMANN, E. — Toxoplasmosis adquirida. Forma ganglionar. *Bol. Chil. Parasit.* 56: 22-27, 1956.
8. FOURNIER, A. — Toxoplasmose acquise. Forme fébrile monoganglionnaire. *J. Sc. Méd. Lille* 74: 580-586, 1956.
9. JONES, F. E.; EYLES, D. E.; COLEMAN, N. & GIBSON, C. L. — A comparison of methods for the isolation of *Toxoplasma* from suspected hosts. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.* 78: 531-535, 1958.
10. JONES, T. C.; KEAN, B. H. & KIMBALL, A. C. — Toxoplasmic lymphadenitis. *JAMA* 192: 87-91, 1965.
11. KAYHOE, D. E.; JACOBS, L. BEYE, H. K. & McCULLOUGH, N. B. — Acquired toxoplasmosis. Observations on two parasitologically proved cases treated with pyrimethamine and triple sulfonamides. *New Engl. J. Med.* 257: 1247-1254, 1957.
12. LELONG, M.; DESMONTS, G.; VINH, L. T.; NÉZELOF, C.; SATGE, P. & COUVREUR, J. — La forme ganglionnaire de la toxoplasmose acquise de l'enfant (deux observations personnelles). *Arch. Franc. Péd.* 11: 1092-1099, 1954.
13. REGONESI, C.; ETCHEVERRY, R.; GUZMAN, C.; MURANDA, M. & THIERMANN, E. — Toxoplasmosis ganglionar. Estudio clínico y serológico de 50 casos, 13 de ellos con comprobación parasitológica. *Rev. Méd. Chile* 95: 268-275, 1967.
14. SIIM, J. C. — Studier over toxoplasmosis acquista. III. Dyrkning of toxoplasma fra eu forstret lymfeknude fjernet ved biopsi. *Ugeskrift for Laeger* 114: 1375-1376, 1952.
15. SIIM, J. C. — Aetiological investigations in acquired toxoplasmosis with lymphadenopathy in children and adults. *Proc. Roy. Soc. Med.* 48: 1067-1071, 1955.
16. SIIM, J.-C. — L'état actuel de la toxoplasmose acquise humaine. Isolement du parasite du ganglion ou du tissu musculaire. *Pédiatrie* 11: 902-907, 1956.
17. SIIM, J.-C. — Toxoplasmosis acquisita lymphonodosa: clinical and pathological aspects. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 64: 185-206, 1956.
18. THIERMANN, E. — Virulencia del *Toxoplasma gondii* en 27 cepas de origen humano. *Rev. Méd. Chile* 103: 170-174, 1975.
19. THIERMANN, E. & NAQUIRA, F. — Contribución al diagnóstico parasitológico de la toxoplasmosis. Demostración del *Toxoplasma gondii* en 5 casos. *Bol. Chil. Parasit.* 11: 13-16, 1956.
20. WERNER, H.; EGGER, J. & MEISEL, C. — Über den Nachweis von *Toxoplasma gondii* durch den Tierversuch. III. Mitteilung: Experimentelle Untersuchungen über die Abhängigkeit der Anzuchtungsversuche von Anzahl und Virulenz der injizierten Toxoplasmen. *Z. Tropenmed. Parasit.* 19: 132-138, 1968.

Recebido para publicação em 6/9/1977.