

ANÁLISE DA INTERPRETAÇÃO HUMANA NA TÉCNICA DE IMUNOFLORESCÊNCIA INDIRETA (RIFI) PARA *TOXOPLASMA GONDII*

CAROLINA CAETANO DOS SANTOS¹; FERNANDO CAETANO DE OLIVEIRA²;
PLÍNIO AGUIAR DE OLIVEIRA³; LAURA MARIA JORGE DE FARIA³; JERONIMO
LOPES RUAS⁴; NARA AMÉLIA DA ROSA FARIAS⁵

¹Graduanda em Biologia - UFPel – carol_csantos@hotmail.com

²PPG-Veterinária - UFPel – fernando_oliveira88@hotmail.com

³PPG-Parasitologia - UFPel – plinio-vet@hotmail.com

³PPG-Parasitologia - UFPel – gauchadejaguarao@hotmail.com

⁴LRD - UFPel – jeronimo.ruas@gmail.com

⁵DEMP – IB - UFPel – nafarias@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

Toxoplasma gondii é um protozoário intracelular obrigatório, pertencente ao Filo Apicomplexa por possuir complexo apical, e à Família Sarcocystidae por formar cistos nos tecidos dos hospedeiros intermediários (KAWAZOE, 2002). O diagnóstico para a toxoplasmose é essencialmente laboratorial, uma vez que a infecção, tanto no homem como nos animais domésticos e silvestres, pode assumir quadros clínicos facilmente confundidos, dificultando a tomada de medidas específicas de tratamento e controle (VIDOTTO, 1992).

A reação de imunofluorescência indireta (RIFI) é a técnica de escolha para a detecção de anticorpos IgG anti-*T. gondii*. Esta técnica consiste na reação antígeno, anticorpo e anti-anticorpo conjugado com isotiocianato de fluoresceína fixados em lâminas de microscopia, e posteriormente avaliadas em microscopia de imunofluorescência. Os soros que apresentarem a fluorescência total são considerados positivos para *T. gondii*, enquanto que os soros que apresentarem fluorescência parcial, apical ou não apresentarem fluorescência são considerados negativos.

A RIFI é uma técnica utilizada desde 1960 e atualmente destaca-se por ser um dos métodos mais utilizados em estudos epidemiológicos. Entretanto, apresenta alguns pontos negativos, pois necessita profissionais treinados para sua execução, há subjetividade na avaliação humana da leitura e interpretação dos resultados, podendo levar a diagnósticos incorretos. De acordo com FARIA e ANDRADE (2012) sua aplicação requer alto nível de habilidade, experiência e também equipamento especializado e de alto custo.

Para tanto, objetivou-se avaliar o treinamento e a correta avaliação microscópica da na RIFI entre estudantes do laboratório de Parasitologia-IB-UFPel.

2. METODOLOGIA

Foi realizada a avaliação simultânea das lâminas por quatro estudantes, um graduando, dois mestrando e um doutorando, ambos com prévio treinamento para realização e leitura da técnica.

Foram utilizadas lâminas de antígeno de *T. gondii* da Wama Diagnóstica[®], amostras de soro ovino e conjugado anti-ovino da Sigma Chemical[®]. A metodologia utilizada foi segundo CAMARGO (1974). As leituras, em microscópio de imunofluorescência, foram realizadas às cegas (o avaliador não sabia o número da amostra, nem o resultado do colega), todos no mesmo dia, para que não houvesse queima de fluoresceína das lâminas entre o primeiro e o último

avaliador. Foram analisadas 42 lâminas, com controle positivo e negativo em cada, totalizando 421 amostras.

A análise de correlação entre os avaliadores foi feita através do Teste de correlação de Pearson, pelo software Statistix 9.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na leitura de lâminas, o número de amostras positivas encontradas foram de 95/421 (22,56%) para o avaliador 1, 105/421 (24,94%) para o avaliador 2, 96/421 (22,8%) para o avaliador 3 e 102/421 (24,22%) para o avaliador 4, como demonstrado na Tabela 1.

Tabela 1. Demonstra a prevalência encontrada por cada avaliador.

Avaliador	Positivos/Total	Percentual (%)
1	95/421	22,56%
2	105/421	24,94%
3	96/421	22,8%
4	102/421	24,22%

Através da Correlação de Pearson, foi feita a avaliação dos resultados entre os avaliadores e a obtenção do índice Kappa (Tabela 2). O Coeficiente de Correlação de Pearson é uma medida do grau da correlação linear entre duas variáveis quantitativas que apresenta valores situados entre -1,0 e 1, onde o 1 significa uma correlação perfeita positiva entre as duas variáveis, -1 significa uma correlação negativa perfeita entre as duas variáveis e 0 significa que as duas variáveis não dependem linearmente uma da outra.

Tabela 2. Correlação de Pearson entre os avaliadores que analisaram as lâminas.

	Avaliador 1	Avaliador 2	Avaliador 3
Avaliador 2	0,8867		
Avaliador 3	0,9325	0,9001	
Avaliador 4	0,9395	0,8937	0,9799

O Coeficiente Kappa é uma medida de associação usada para descrever e testar o grau de concordância, ou seja, a confiabilidade e a precisão do estudo. Os valores maiores que 0,75 representam excelente concordância e valores abaixo de 0,40 representam baixa concordância e valores situados entre 0,40 e 0,75 representam concordância mediana. De acordo com índice Kappa, a comparação das avaliações determinadas pela Correlação de Pearson apresentou concordância de 0,9219 considerada excelente por este modelo estatístico. Não foram encontrados artigos comparando resultados de RIFI entre avaliadores.

4. CONCLUSÕES

O exame sorológico por RIFI, para detecção de anticorpos para *T. gondii*, em ovinos, quando feito por pesquisadores bem treinados, não é comprometido pela interpretação humana na determinação de resultados.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CAMARGO, M. E. Introdução as técnicas de imonuflorescência. **Revista Brasileira de Patologia Clínica**, v.10, p.143-169, 1974.

FARIA, A. R.; ANDRADE, H. M. Diagnóstico da Leishmaniose Visceral Canina: grandes avanços tecnológicos e baixa aplicação prática. **Revista Pan-Amazônica de Saúde**, v.3, n.2, p.47-57, Ananindeua, 2012.

KAWAZOE, U. *Toxoplasma gondii*. In: Neves D. P. **Parasitologia Humana**. 10 ed. São Paulo: Atheneu, p. 147-156, 2002.

Statistix®, Statistix 9.0 Analytical software. Tallahassee, FL, USA. 2008.

VIDOTTO, O. Toxoplasmose: epidemiologia e importância da doença na saúde animal. **Semina: Ciências Agrárias**, v.13, n.1, p.69- 75, 1992.