

**Avaliação do desempenho de um kit comercial de reagentes para detecção de anticorpos anti-*Toxocara canis* frente ao kit padronizado *in-house* utilizado no Instituto Adolfo Lutz**

***Performance evaluation of a commercially available reagent kit for anti-Toxocara canis antibodies detection as compared to an in-house established kit used in Instituto Adolfo Lutz***

**Elaine L. Oliveira; Edilene P. R. Silveira; Carmem Aparecida F. Oliveira**

Centro de Imunologia. Instituto Adolfo Lutz. Coordenadoria de Controle de Doenças. Secretaria de Estado da Saúde. São Paulo, SP, Brasil

---

**RESUMO**

A toxocaríase humana acomete o homem por meio da ingestão de ovos embrionados de *T. canis*. Geralmente, as infecções são assintomáticas, mas podem apresentar quadros graves como alterações pulmonares, distúrbios neurológicos e comportamentais e a perda da visão. Seu diagnóstico é principalmente imunológico. No Instituto Adolfo Lutz (IAL) o imunodiagnóstico de toxocaríase é realizado por meio de um ensaio imunoenzimático *in-house* (Elisa-IAL). O objetivo deste trabalho foi verificar o desempenho de um kit comercial Elisa (Ridascreen) para detecção de toxocaríase, em comparação ao Elisa-IAL, empregando-se o índice Kappa e taxas de sensibilidade e especificidade relativas. Foram analisadas 170 amostras de soro da rotina laboratorial de toxocaríase humana, paralelamente nos ensaios de Elisa-IAL e Ridascreen. Observou-se uma concordância substancial e taxas de sensibilidade e especificidade relativas de 88% e 75%, respectivamente. Considerando esses resultados, sugerimos que o kit comercial avaliado pode ser empregado alternativamente ao Elisa-IAL para o diagnóstico da toxocaríase humana.

**PALAVRAS-CHAVE:** Toxocaríase. *Toxocara canis*. Diagnóstico. Elisa.

## ABSTRACT

Human toxocariasis affects humans through the ingestion of embryonated eggs of *T. canis*. Generally, infections are asymptomatic, but may present severe symptoms as pulmonary, neurological and behavioral disturbs or even visual loss. The human toxocariasis diagnosis is mainly immunological. At Instituto Adolfo Lutz (IAL) the immunodiagnosis of toxocariasis has been performed using an in-house enzyme-linked immunosorbent assay (IAL-ELISA). The aim of this study was to verify the performance of a commercially available ELISA kit (Ridascreen), as compared to the IAL-ELISA, employing the Kappa test and relative sensitivity and specificity rates. A total of 170 sera from the routine laboratory of human toxocariasis were analyzed, in parallel, by means of IAL-ELISA and Ridascreen ELISA. Substantial level of agreement and relative rates of sensitivity and specificity of 88% and 75%, respectively, have been observed. Considering these results, we suggest that the commercially available kit evaluated can be used alternatively to the IAL-ELISA for human toxocariasis T diagnosis.

**KEY WORDS:** Toxocariasis. *Toxocara canis*. Diagnosis. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay.

## INTRODUÇÃO

A toxocaríase humana é uma zoonose que se caracteriza pela migração e persistência de larvas de nematódeos, em especial de *Toxocara canis*, nos tecidos de hospedeiros não habituais (paratênicos).<sup>1,2</sup>

O homem é um hospedeiro paratênico e pode se infectar pela ingestão de ovos embrionados de *T. canis* presentes em solo contaminado ou em carnes cruas de outros hospedeiros paratênicos.<sup>3</sup> A larva é liberada no intestino delgado, atravessa a mucosa e, pela veia porta, atinge o fígado, onde pode se encapsular ou migrar para outros órgãos, como pulmões, coração e olhos, pela circulação sistêmica.<sup>4</sup>

Geralmente as infecções por *T. canis* são assintomáticas, mas podem apresentar quadros graves, dependendo da carga parasitária, migração larvária e resposta imune do hospedeiro, sendo descritas três formas clínicas da doença:<sup>4,5</sup>

- toxocaríase visceral: febre, hepatomegalia, alterações pulmonares, miocardite, distúrbios neurológicos;
- toxocaríase ocular: estrabismo, endoftalmite, coriorretinite, granuloma retinino, uveíte, perda de visão; e
- toxocaríase oculta: tosse, dor abdominal, cefaleia, distúrbios comportamentais.

Ao contrário do que ocorre nos hospedeiros canídeos, no homem a larva de *T. canis* não completa seu ciclo, portanto, não há liberação de ovos nas fezes. Sendo assim, o diagnóstico da toxocaríase humana é feito, principalmente, pela avaliação da presença de anticorpos específicos anti-*T. canis* no soro ou outros fluidos biológicos (imunodiagnóstico) de indivíduos com epidemiologia, sinais e sintomas característicos da infecção.

No Instituto Adolfo Lutz (IAL) – órgão da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo (CCD/SES-SP) – o imunodiagnóstico de toxocaríase humana tem sido realizado há mais de 25 anos, por meio de um ensaio imunoenzimático – Elisa padronizado *in-house* (Elisa *T. canis* IAL), a partir da técnica descrita por Camargo *et al.*,<sup>7</sup> que permite a determinação de anticorpos da classe IgG no soro com emprego do antígeno de excreção e secreção da larvas de *T. canis* (TES).

## OBJETIVO

O objetivo desta avaliação foi verificar o desempenho de um kit de reagentes, disponível comercialmente em nosso meio, para detecção de anticorpos IgG anti-*T. canis* (Ridascreen/R-Biopharm), frente ao Elisa *T. canis* IAL.

## METODOLOGIA

De agosto a setembro/2010, todas as amostras de soro encaminhadas ao Instituto Adolfo Lutz para imunodiagnóstico da toxocaríase humana foram analisadas paralelamente, empregando-se o teste de Elisa *T. canis* IAL, padronizado no Instituto Adolfo Lutz com base na técnica descrita por

Bach-Rizzati<sup>6</sup> e com pequenas modificações introduzidas por Camargo *et al.*,<sup>7</sup> e o teste de Elisa Ridascreen (R-Biopharm/Alemanha), executado estritamente de acordo com as recomendações contidas na bula do fabricante. Em ambos os testes as amostras são classificadas como “reagentes” ou “não reagentes”, dependendo dos valores de absorbância dividido pelo cut-off da reação (índice cut-off), considerando-se o valor de corte igual a 1,0.

O grau de concordância entre os dois testes foi avaliado por meio da aplicação do teste Kappa<sup>8</sup> e o desempenho global foi verificado por meio das taxas de sensibilidade e especificidade relativas<sup>9</sup>, considerando-se o ensaio Elisa *T. canis* IAL como teste de referência. As absorbâncias das amostras com resultados discordantes nos dois testes foram analisadas quanto à distância do valor de corte por meio de gráfico de dispersão.

## RESULTADOS

Foram analisadas, prospectivamente, 170 amostras de soro provenientes da rotina diagnóstica de toxocaríase humana do Laboratório Central do Instituto Adolfo Lutz. Destas, 83 (49%) foram classificadas como “reagentes” e 87 (51%) como “não reagentes” para anticorpos IgG anti-*T. canis*, empregando-se o teste de referência. Entre as 83 amostras “reagentes” no teste de referência, 12% foram “não reagente” (falso-negativas) no teste Elisa Ridascreen. Por outro lado, entre as 87 amostras “não reagentes” no teste de referência, foram observados 25% de resultados reagentes (falso-positivas), quando se empregou o teste Elisa Ridascreen. A descrição dos resultados obtidos nos dois ensaios encontra-se na Tabela 1.

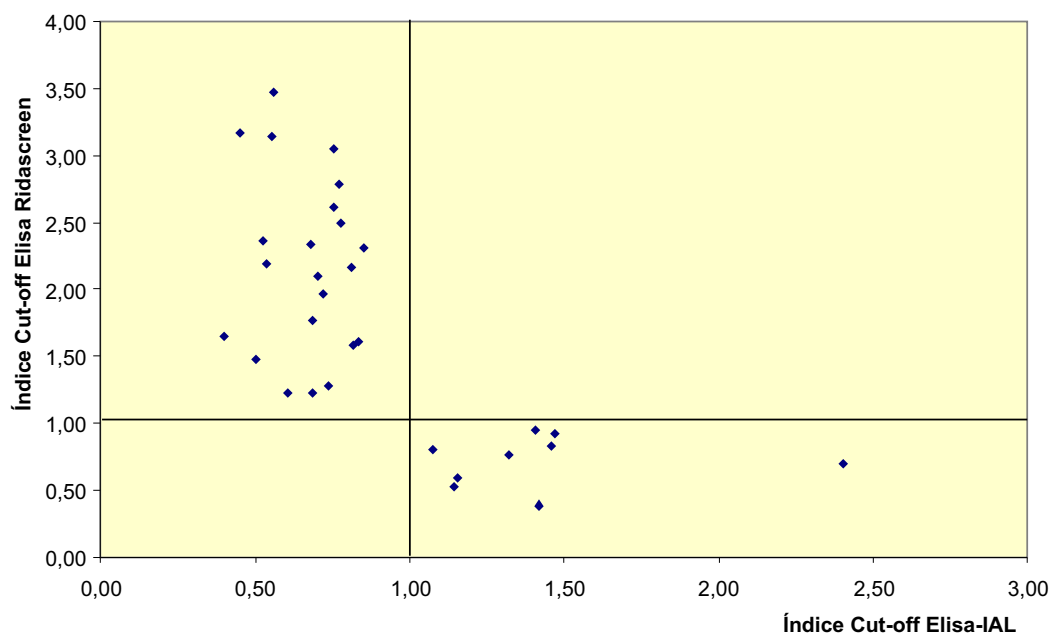
**Tabela 1:** Detecção de anticorpos IgG anti-*T.canis*. Comparação entre resultados obtidos empregando-se o Elisa *in-house* do IAL e o Elisa comercial Ridascreen/R-Biopharm.

Elisa <i>in-house</i>			
Elisa comercial	Reagente	Não reagente	Total
Reagente	73	22	95
Não reagente	10	65	75
Total	83	87	170

Aplicando-se o teste Kappa ao conjunto de resultados dos dois ensaios, observou-se índice de concordância de 0,62, considerado substancial.<sup>8</sup> A sensibilidade e a especificidade relativas do Elisa Ridascreen foram, respectivamente, de 88% e de 75%.

Quanto à dispersão dos valores de absorbância das amostras que apresentaram resultados discordantes por meio do teste de Elisa Ridascreen, observou-se

(Figura 1) que as amostras com resultados falso-negativos apresentaram, no teste de referência, valores de absorbância relativamente baixos, embora acima do valor de corte do referido teste. Quanto às amostras falso-positivas, a dispersão dos respectivos valores de absorbância no teste de referência indica distribuição homogênea próximo ao valor de corte do mesmo, porém inferior a este.



**Figura 1.** Distribuição dos resultados discordantes entre os testes Elisa para detecção de anticorpos IgG anti-*T.canis in-house* do IAL e o comercial Ridascreen/R-Biopharm (valor de corte = 1).

## DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Conforme pode ser verificado na Tabela 2, o teste comercialmente disponível avaliado neste estudo emprega a mesma composição de antígenos utilizados na confecção do teste de fabricação *in-house* do IAL, e ambos se baseiam na detecção de anticorpos da classe IgG. O teste comercial é de fácil execução e a obtenção dos resultados é mais rápida, em vista do menor tempo de execução.

Considerando os resultados apresentados, o índice de concordância (Kappa) observado entre o teste comercial e o teste de referência foi aceitável. Isto indica que os dois testes podem ser empregados alternativamente um ao outro para a mesma finalidade. Quanto aos resultados discordantes, a análise da dispersão das absorbâncias das amostras nos dois testes sugere que resultados falso-negativos no teste Elisa Ridascreen poderiam ser atribuídos a amostras com baixas concentrações de anticorpos específicos.

Por outro lado, resultados falso-positivos observados no Elisa Ridascreen podem ser atribuídos a reações inespecíficas

devido ao fato de as amostras de soro não serem absorvidas com extrato de *Ascaris* sp., procedimento que diminui as reações cruzadas com outros parasitas, muito frequentes em países tropicais. Observamos também que a especificidade relativa do teste comercial apresentou índices ainda mais baixos quando os ensaios realizados em data próxima à data de validade do kit (dados não mostrados).

O presente trabalho é resultado de um estudo modesto e com limitações, tendo em vista o número pequeno de amostras analisadas, a falta de informações clínicas dos pacientes e a não possibilidade de avaliação de diferentes lotes do kit de reagentes comercial, entre outras. Apesar disso, com base no índice de concordância observado nesta casuística, sugerimos que o ensaio comercial Elisa Ridascreen pode ser utilizado alternativamente ao ensaio Elisa - IAL para o atendimento da rotina de imunodiagnóstico da toxocaríase humana, sem impacto significativo para o desempenho global do serviço prestado.

**Tabela 2:** Comparação entre as técnicas utilizadas para detecção de anticorpos anti-*T. canis*.

	<b>Elisa comercial</b>	<b>Elisa <i>in-house</i></b>
Antígeno	Excreção e secreção de larvas de <i>T. canis</i>	Excreção e secreção de larvas de <i>T. canis</i>
Absorção de amostras	Não são absorvidas	Absorção com extrato de <i>Ascaris suum</i>
Anticorpo detectado	IgG	IgG
Reagentes	Prontos para uso	Preparados no laboratório
Tempo total de reação	1 hora	3 horas

## REFERÊNCIAS

1. Beaver PC, Snyder H, Carrera G, Dent J, Lafferty J. Chronic eosinophilia due to visceral larva migrans. Report of three cases. *Pediatrics*. 1952;9:7-19.
2. Beaver PC. Larva migrans: a review. *Exp Parasit*. 1956;5:587-621.
3. Santarém VA, Rubinsky-Elefant G, Chesine PAF, Leli FN. Toxocaríase canina e humana. *Vet. e Zootec*. 2009;16(3):437-47.
4. Abe-Jacob CM, Oselka GW. Toxocariase na infância. *Pediatria (São Paulo)*. 1991;13(2):48-55.
5. Chieffi PP, Santos SV, Queiroz ML, Lescano SAZ. Human toxocaríasis: contribution by Brazilian researchers. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 2009;51(6):301-8.
6. Bach-Rizzati BC. Desenvolvimento do teste imunoenzimático ELISA para o diagnóstico da toxocaríase humana [dissertação de mestrado]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP; 1984.
7. Camargo ED, Nakamura PM, Vaz AJ, Silva MV, Chieffi PP, Melo EO. Standardization of DOT-ELISA for the serological diagnosis of toxocaríasis and comparison of the assay with ELISA. *Rev Inst Med trop S Paulo*. 1992;34:55-60.
8. Landis JR, Koch GG. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics*. 1977;33:159-74.
9. Pereira MG. *Epidemiologia Teoria e Prática*. 10. ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2006.

**Correspondência/Correspondence to:**  
Elaine Lopes de Oliveira  
Av. Dr. Arnaldo, 351, 10º andar  
CEP: 01246-000 – São Paulo/SP – Brasil  
Tel.: 55 11 30682885  
E-mail: eloliveira@ial.sp.gov.br