

Diagnóstico Etiológico de Pneumonias Bacterianas Comunitárias e Empiomas em Crianças e Adolescentes: o Papel do Teste de Aglutinação de Partículas de Látex.

¹ALTACÍLIO APARECIDO NUNES; ²PAULO AUGUSTO MOREIRA CAMARGOS

¹Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Minas Gerais; ²Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte

Resumo

Objetivo: fazer uma revisão das publicações (literatura) em que o teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL) foi utilizado no diagnóstico etiológico de pneumonias bacterianas comunitárias.

Fontes de dados: banco de dados do Medline no período de 1966-2002 e através de citações secundárias e terciárias.

Síntese dos dados: dezassete publicações foram revistas, sendo nove originárias de países desenvolvidos, sete de subdesenvolvidos e um multicêntrico, envolvendo nações pobres e industrializadas. Em duas pesquisas, a população de estudo foi composta por crianças e adultos, para formação de grupo controle. Os métodos de diagnóstico mais utilizados como teste ou padrão de referência para o teste de aglutinação de partículas de látex foram as técnicas convencionais de microbiologia, a contra-imunoelektroforese (CIE), a coaglutinação (CoA) pela proteína A do *S. aureus* e o ensaio de imunoabsorção ligado a enzima (ELISA). Os fluidos biológicos pesquisados foram soro, urina, líquido pleural, expectoração, secreção de nasofaringe e saliva, em ordem decrescente de frequência. O teste de aglutinação de partículas de látex apresentou sensibilidade variando de 0% a 100% e especificidade de 61% a 100%, com rentabilidade melhor em amostras de líquido pleural.

Conclusões: os resultados obtidos foram bastante variados e discrepantes; contudo, o teste de aglutinação de partículas de látex apresentou rentabilidade semelhante aos métodos de imunodiagnóstico utilizados como referência e mostrou-se bastante superior às técnicas tradicionais de microbiologia (coloração pelo gram e cultura). Quando comparadas as características do teste de aglutinação de partículas de látex aos demais testes pesquisados, o mesmo

mostrou vantagens em aspectos importantes como: maior facilidade de execução, dispensando recursos humanos e técnicos qualificados e sofisticados, rapidez de leitura, menor custo, sensibilidade e especificidade satisfatórias.

Palavras-Chave: pneumonias comunitárias, diagnóstico etiológico, teste de aglutinação de partículas de látex.

Summary

The Etiological Diagnosis of Bacterial Community Acquired Pneumonia and Empyema in Children and Adolescents: the Role of Latex Particle Agglutination Test.

Objective: to review the publications (literature) about the use of latex particle agglutination test in the etiological diagnosis of bacterial community acquired pneumonia.

Sources of data: Medline database from 1966 – 2002 and through of secondary and tertiary citations.

Synthesis of data: seventeen publications were reviewed, nine of them from developed countries, seven from developing countries and one including poor and industrialized nations. In two studies the population studied was composed of the childrens and adults for formation of control group. The methods of diagnosis most utilized as a test or reference standard for the latex particle agglutination test were conventional methods of microbiology, countercurrent immunoelectrophoresis (CIE), coagglutination (CoA) with *Staphylococcus aureus* protein A and the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The body fluids researched were serum, urine, pleural fluid effusion, sputum, throat swab and saliva respectively. The latex particle agglutination test showed sensitivity varying from 0% to 100% and specificity from 61% to 100%, with better yield in samples of pleural fluid effusion.

Conclusions: the results obtained were extremely varied and with discrepancies, however, the latex particle agglutination test presented yield similar to the methods of immunodiagnosis used as reference, and showed itself to be superior to traditional techniques used in microbiology (gram stain and culture). When compared the characteristics of latex agglutination test with others tests

researched, the same showed itself to be advantageous in important aspects such as greater facility of execution eliminating the need of qualified human resources and sophisticated technology, more rapid reading results, lower cost, satisfactory sensitivity and specificity.

Key-Words: community acquired pneumonia, etiological diagnosis, latex particle agglutination test.

Introdução

As infecções respiratórias, destacando-se as pneumonias, são responsáveis por aproximadamente quatro milhões de óbitos em crianças – sobretudo as menores de cinco anos de idade, principalmente em países subdesenvolvidos^(1,2,3). A identificação do agente etiológico em pacientes pediátricos, é reconhecidamente um grande desafio. Baseando-se em levantamentos epidemiológicos, conduzidos em países desenvolvidos, estima-se que os vírus sejam os microorganismos mais frequentemente envolvidos, particularmente nas crianças mais novas⁽³⁾. Admite-se que, nos países em desenvolvimento, em contraste com os desenvolvidos, grande parte dos casos de pneumonias adquiridas na comunidade (PAC), em crianças, seja devida a bactérias, sendo o *Streptococcus pneumoniae*, o principal agente envolvido⁽³⁻⁹⁾. No entanto, esses dados foram obtidos utilizando-se da combinação de diversos métodos diagnósticos, com a finalidade de se obter uma melhor rentabilidade final, pois, isoladamente, nenhum teste oferece resultados adequados nas PAC.

A hemocultura é considerada o “padrão-ouro” para o diagnóstico etiológico das PAC em crianças; entretanto, é um método com sensibilidade insatisfatória, variando de zero a 40%^(8,9,10), tornando-se assim pouco utilizada na prática clínica diária. Exames laboratoriais complementares inespecíficos como leucograma, provas de atividade inflamatória (hemossedimentação, prot. C reativa, procalcitonina) têm-se mostrado incapazes de fornecer ajuda no tocante à diferenciação genérica entre etiologia viral ou bacteriana e, muito menos, em termos de agente etiológico definitivo^(2,4). A análise microbiológica de expectoração em crianças com pneumonia é destituída de valor clínico, pois verifica-se que, em tais pacientes, sobretudo nos menores de 7 anos de idade, a obtenção espontânea de amostras é praticamente impossível e, quando possível, o resultado quase sempre gera dúvidas, sabendo-se que pode haver contaminação por flora do trato respiratório superior⁽⁵⁾. O lavado broncoalveolar e a aspiração pulmonar transcutânea têm sido descritos como procedimentos de valor no auxílio ao esclarecimento da etiologia de pneumonias em crianças com evolução atípica; no entanto, nos casos que seguem um padrão esperado, não se justifica a utilização de tais técnicas, visto que podem apresentar complicações, além de exigirem pessoal tecnicamente treinado e infra-estrutura compatível e, quando

aplicados, não se tem obtido sensibilidade maior que 50 a 60%^(9,11).

Com o avanço da biologia molecular, alguns exames surgiram como potenciais ferramentas no elucidamento da etiologia definitiva das PAC; contudo, ao serem testados em diversos fluidos biológicos, verificaram-se resultados pouco animadores, devidos principalmente a um elevado índice de falso positivos, alto custo financeiro dos kits, complexidade técnica, necessidade de recursos humanos especializados e maior tempo na realização do procedimento. Entre os principais exames que podem ser citados e que se enquadram na descrição acima, estão a reação de polimerização em cadeia (RPC), que tem apresentado sensibilidade variando de 45-55% a 100% e especificidade de 83% a 100%, e a detecção de imunocomplexos circulantes, com sensibilidade de 15% a 83% e especificidade girando em torno de 90%^(12,13,14,15,16).

Apesar de existir por mais tempo que os métodos relatados anteriormente, o teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL) tem sido experimentado na identificação dos agentes etiológicos das pneumonias bacterianas comunitárias. É visto com especial interesse, pois, tem um custo relativamente baixo quando comparado aos exames mais recentes e até mesmo aos tradicionais, como a hemocultura; é de fácil execução, dispensa o uso de aparelhos sofisticados e onerosos, pode ser facilmente manuseado por pessoal com conhecimento básico em técnicas laboratoriais, oferece resultados rápidos com leitura a olho nu, pode ser realizado em laboratórios de qualquer porte – mesmo aqueles com recursos mínimos, utilizando materiais biológicos que são facilmente obtidos em crianças; por exemplo amostras de urina^(17,18).

Considerando tais argumentos, o presente artigo faz uma ampla revisão sobre a técnica e a utilidade clínica do teste de aglutinação de partículas do látex que, nesta doença, tem apresentado resultados variados com sensibilidade oscilando de 0% a 100% e especificidade de 60% a 100%.

Noções básicas sobre o teste de aglutinação de partículas de látex (TAPL)

O teste de aglutinação de partículas de látex baseia-se na interação entre antigénio e anticorpo, ou seja, micropartículas de látex são recobertas com anticorpos específicos a determinados componentes antigénicos do agente de interesse, obtidos a partir de soro sensibilizado de animais, mais precisamente de coelhos. Colhe-se o material biológico (soro, urina, líquido pleural, expectoração, saliva, etc) que supostamente contém antigénios capsulares, processa-se o mesmo de acordo com as recomendações de cada fabricante e adiciona-se o reagente no qual estão contidas as partículas do látex sensibilizadas. Quando há antigénio,

nota-se uma aglutinação nítida e rápida com um padrão de granularidade homogêneo; caso contrário, nada é observado^(17,18).

Histórico

A partir do estudo de Dochez e Avery⁽¹⁹⁾ em 1917, mostrando que pacientes com pneumonias pneumocócicas lobares excretavam uma “substância solúvel” de origem bacteriana, em amostras de urina, detectada através de reacção de precipitina, diversos outros estudos surgiram em busca do mesmo achado. Desta forma, Blake em 1918⁽²⁰⁾, Pepper em 1934⁽²¹⁾, Cruickshank em 1938⁽²²⁾, De Gara *et al* em 1939⁽²³⁾ e Bukantz *et al* em 1942⁽²⁴⁾, utilizando métodos bastante variados, de uma forma ou outra, contribuíram muito para a descoberta de que a referida “substância solúvel”, na verdade, é o polissacarídeo capsular pneumocócico (PCP), actualmente indispensável em estudos das infecções pneumocócicas, sendo importante substrato para aplicação do TAPL nas doenças infecciosas.

O Surgimento do Teste de Aglutinação de Partículas de Látex e a Disponibilização dos Kits Comerciais.

O primeiro relato com uso do TAPL em doenças infecciosas foi em 1963⁽²⁵⁾, sendo empregado no diagnóstico de infecção por *Cryptococcus neoformans*, através de reacção em diversos líquidos corporais.

A publicação inicial, utilizando o TAPL em pneumonia foi em 1976; Coonrod e Rylko-Bauer⁽²⁶⁾ seleccionaram 50 pacientes adultos com pneumonia pneumocócica e 45 indivíduos sadios ou com infecção não pneumocócica. Amostras de sangue foram colhidas de todos os participantes e submetidas ao teste para detecção de polissacarídeo capsular pneumocócico, houve sensibilidade de apenas 22% e especificidade de 100%. A contra-imunoelectroforese (CIE) foi o método de comparação adoptado, apresentando sensibilidade de 40% e especificidade de 100%.

Em 1978, Ward *et al*⁽²⁷⁾ realizaram um estudo com o TAPL, objectivando a detecção do antígeno polissacarídeo do *Haemophilus influenzae* tipo b (poliribosil fosfato de ribitol-PRP). O uso prévio de antimicrobianos não exerceu influência na sensibilidade do TAPL. A CIE foi realizada em amostras de soro de pacientes com pneumonia, sendo positiva em todas, e a especificidade foi de 82%. No referido estudo, qualquer análise sobre os resultados obtidos é prejudicada, dado o pequeno número de pacientes seleccionado com pneumonia.

Kumar *et al*⁽²⁸⁾ conduziram um estudo em 1980, com o TAPL em líquidos corporais de crianças de um dia a 18 anos de idade, com diversas infecções bacterianas, inclusive uma amostra de 26 pacientes com pneumonia pneu-

mocócica. No entanto, os autores não deixaram claro se foram incluídos casos com pneumonia por *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib). Os mesmos concluíram que o TAPL apresentou sensibilidade bastante superior à CIE. Entretanto, a metodologia adoptada não permite a clara identificação dos casos de pneumonia e nem mesmo da amostra biológica utilizada no teste, além de possuir uma casuística reduzida.

No ano seguinte, Scheifele *et al*⁽²⁹⁾ realizaram um estudo comparando o TAPL baseado em partículas de látex preparadas *in-house*, com a CIE, sobretudo em amostras de soro de pacientes com infecção pelo Hib, incluindo pneumonia. Também nesse estudo verifica-se uma descrição pouco detalhada e tímida da metodologia. Consequentemente, não se pode tirar daí qualquer conclusão, pois os autores não explicitam o número de pacientes com pneumonia pesquisado e, da mesma forma, não é citada a faixa etária seleccionada; a especificidade é tida como satisfatória.

Em 1982, uma outra pesquisa⁽³⁰⁾ foi conduzida para verificar as propriedades do TAPL através de kit comercial (convencional), ao reagir com o PRP do Hib, em soro e urina de apenas 14 crianças com pneumonia pelo referido agente, e em 39 controles adultos. O TAPL com reagentes preparados *in-house* foi utilizado como método de comparação. Igualmente, nos últimos três trabalhos acima relatados, não se podem tirar conclusões do estudo, visto que foi utilizada uma casuística muito reduzida.

Simon *et al*⁽³¹⁾, em 1985, publicaram um estudo com o uso do TAPL para detecção de antígeno polissacarídeo do *S. pneumoniae* e do Hib em soro e urina concentrada de 41 crianças com pneumonia; utilizaram o teste de coagulação (CoA) como método de comparação. O TAPL foi positivo em 29 dos 41 pacientes com pneumonia, sendo 15 com aglutinação para Hib e 14 para *S. pneumoniae*; a urina mostrou-se superior ao soro, principalmente no achado de antígeno pneumocócico. A CoA mostrou-se menos sensível do que o TAPL, apresentando-se positiva em apenas seis pacientes, tanto em urina quanto em sangue. Como controles, os autores recrutaram 271 crianças sem pneumonia, em cinco casos, o teste foi positivo (especificidade de 98,2%), sendo quatro para Hib e um para *pneumococo*, nos dois fluidos biológicos testados. Esse estudo deixa clara a superioridade do TAPL em relação à CoA quanto à detecção de antígenos pneumocócicos e do Hib em amostras biológicas de crianças com pneumonia comunitária, destacando-se sua satisfatória sensibilidade e excelente especificidade.

No ano seguinte, Ramsey *et al*⁽³²⁾ publicaram um experimento em que pesquisaram o TAPL na detecção de antígeno polissacarídeo capsular do Hib, e a CoA para detectar o antígeno do *S. pneumoniae*, em 162 crianças de dois meses a 18 anos de idade, com infecções do trato respiratório inferior (ITRI), mais precisamente dos pulmões,

além de outras 97 crianças sadias (controles). A hemocultura exibiu sensibilidade de apenas 2%. Como os autores utilizaram individualmente os testes para diagnóstico etiológico também individualizado, ou seja, TAPL para Hib e CoA para pneumococo, as conclusões sobre as propriedades de cada método ficam prejudicadas, pois sabe-se que a prevalência das bactérias acima relatadas na etiologia de ITRI difere significativamente. Um outro ponto a destacar é o facto da não caracterização clínico-radiológica de pneumonia bacteriana nos pacientes seleccionados, sendo incluídos casos com achados radiográficos bastante variados, a maioria compatível com quadro viral⁽³³⁾ como, espessamento peribrônquico (35%), hiperinsuflação pulmonar (27%), atelectasias (23%), infiltrados intersticiais (7%).

Em 1988, Rusconi *et al*⁽³⁴⁾ divulgaram um estudo em que compararam o TAPL com a CIE em urina, soro, expectoração ou secreção de nasofaringe no diagnóstico etiológico de pneumonia presumivelmente por *S. pneumoniae* ou Hib em crianças; a rentabilidade da hemocultura foi também avaliada. Os autores relataram que a concentração da urina aumentou consideravelmente a sensibilidade dos dois testes e que, mesmo após cinco dias de uso de antimicrobianos, não foi observada redução na reacção de aglutinação (TAPL) ou precipitina (CIE). A hemocultura apresentou sensibilidade de 11,5%. Trata-se de um estudo bem delineado, com tamanho de amostra adequado, permitindo uma avaliação satisfatória das principais propriedades do TAPL quando comparado à CIE.

No ano seguinte, O'Neill *et al*⁽³⁵⁾ publicaram uma pesquisa na qual avaliaram as propriedades do TAPL, usando reagente serotipo específico a dez tipos serológicos de *S. pneumoniae*, comparando-o ao mesmo método, no entanto, com o uso de dois kits comerciais diferentes que empregam reagentes polivalentes, e à CIE, à hemocultura e à cultura de aspirado pulmonar de 101 crianças, com pneumonia pneumocócica, e de 70 crianças saudáveis, além de 32 com outras doenças que foram seleccionadas para controle. Amostras de soro e urina concentrada dos pacientes foram submetidas aos testes, verificando-se que, com o TAPL serotipo específico, a sensibilidade em detectar polissacarídeo capsular pneumocócico foi de 19% no sangue e 76% na urina, ao passo que a especificidade foi 100% e 96%, respectivamente para os dois materiais biológicos. Com o mesmo teste, utilizando kits comerciais, a sensibilidade em espécimes de soro e urina variou de 0% a 11%, e a especificidade em torno de 98%. Os autores concluíram que o TAPL serotipo específico apresentou-se superior aos kits comerciais e à CIE, podendo ser de utilidade no diagnóstico etiológico rápido de pneumonia comunitária, apesar de demandar a serotipagem do pneumococo isolado. O presente estudo apresenta-se com metodologia organizada e casuística adequada.

Ainda em 1989, Isaacs⁽³⁶⁾ seleccionou crianças de um mês a 12 anos de idade com pneumonia comunitária, e crianças com crise asmática (controles), para testar o valor do TAPL e da CIE em amostras de urina. A pesquisa de Isaacs apresenta um desenho metodológico apropriado e nos exhibe o TAPL com boa especificidade, porém com baixa sensibilidade em todos os líquidos biológicos testados. A hemocultura apresentou sensibilidade de apenas 7%.

Em 1990, Witt *et al*⁽³⁷⁾ descreveram um estudo onde compararam o TAPL com a CIE, em amostras biológicas de crianças menores que seis anos de idade com pneumonia comunitária. A CIE apresentou especificidade semelhante ao TAPL para os reagentes aos dois agentes bacterianos. O estudo acima descrito, mostra resultados semelhantes para ambos os testes pesquisados em termos de sensibilidade e especificidade, com a CIE sendo superior ao TAPL no diagnóstico da infecção pelo pneumococo.

Um ano mais tarde, Requejo e cols⁽³⁸⁾ conduziram importante pesquisa, com destaque para métodos de preparação de urina, soro e líquido pleural a serem submetidos ao TAPL e à CIE. Foram seleccionadas crianças de zero a 12 anos de idade com pneumonia comunitária, amostras de urina e soro foram obtidas antes do início da antibioticoterapia (amostras I), com 24 horas após seu início (amostras II) e com sete dias de tratamento (amostras III), outras 27 amostras de líquido pleural foram pesquisadas. Para o estudo da especificidade e ocorrência de reactividade cruzada nos testes, foram avaliados espécimes de soro e urina de crianças sadias, e ainda espécimes de urina de pacientes com infecção do trato urinário por *E. coli*, *S. aureus*, *Proteus sp* e *Klebsiella sp*. O TAPL em urina concentrada por método proposto pelos autores, apresentou sensibilidade satisfatória, sobretudo nas amostras I e II, ao passo que no soro, a mesma foi consideravelmente inferior, na detecção de antígeno polisacarídeo do *S. pneumoniae* e do Hib. A CIE na urina foi positiva em uma percentagem menor de casos, tanto em espécimes de urina quanto de soro. Quando foram realizados em líquido pleural (27 amostras), a sensibilidade foi de 100% para ambos os testes. Das 20 amostras de pacientes com infecção urinária, houve seis reacções positivas (reactividade cruzada) com o TAPL, sendo dois casos com *S. aureus*, respondendo como positivos para *S. pneumoniae*, dois casos de *Klebsiella sp*, um caso de *Proteus sp* e um caso de *E. coli* aglutinando com anti-Hib. Outro aspecto a destacar foi o facto de o TAPL, em urina, ainda apresentar sensibilidade de 40,6% no 7º dia de antibioticoterapia (amostras III), resultado semelhante ao verificado com a CIE (39,5%). A hemocultura mostrou sensibilidade de 19,3%. A referida pesquisa apresenta-se com metodologia minuciosamente detalhada, tamanho de amostra expressivo, bem como descrição clara e objectiva dos resultados, trazendo o TAPL sobretudo em amostras de urina concen-

trada com etanol-acetona 1:1, como teste de imunodiagnóstico com rentabilidade superior em relação a CIE e hemocultura no diagnóstico etiológico rápido e confiável de pneumonias comunitárias.

Também em 1991, Capeding *et al* ⁽³⁹⁾ avaliaram um “novo” TAPL serotipo específico a vários tipos serológicos de *S. pneumoniae* empregando reagentes preparados *in-house*, com a finalidade de detectar polissacarídeo capsular em amostras de urina de pacientes com pneumonia. O estudo em questão apresenta descrição pouco detalhada, e é difícil qualquer comparação entre os métodos pesquisados, além de possuir um tamanho de amostra reduzido no grupo de estudo.

Camargos e cols, em 1993 ⁽⁴⁰⁾, publicaram artigo onde relatam o uso do TAPL em amostras de soro e urina não concentrada de crianças de dois a 12 anos de idade com pneumonia adquirida na comunidade, presumidamente bacteriana, e de crianças sadias. No presente estudo, a baixa sensibilidade, especialmente na urina pode ser atribuída à sua não concentração, pois é conhecido que tal procedimento facilita a expressão antigénica aumentando significativamente a rentabilidade do TAPL ⁽³⁸⁾. Já o resultado em amostras de soro não foi aquele verificado em outros estudos, apesar do material ter sido adequadamente tratado com adição de EDTA, aquecimento e centrifugação. A especificidade de 100% em parte pode ser também explicada pela não concentração da urina, no entanto, o aquecimento de ambos materiais biológicos reduz sensivelmente a ocorrência de reacções falso positivas ⁽⁴⁶⁾.

Propondo determinar a rentabilidade de técnicas de imunodiagnóstico em estabelecer a etiologia de pneumonias comunitárias, Requejo e cols ⁽⁴¹⁾ em 1994 pesquisaram o TAPL, a CIE e o Dot-ELISA em amostras de líquido pleural de crianças de zero a 12 anos de idade com achados clínicos, laboratoriais e radiológicos sugestivos de quadro bacteriano, e com a finalidade de estudar a especificidade dos testes, amostras do referido fluido biológico de pacientes com tuberculose e de sangue de outras crianças sadias foram obtidas; culturas de todas as amostras foram realizadas. Os autores focaram a pesquisa nas propriedades do Dot-ELISA, e assim consideraram para fins de comparação, o TAPL, a CIE e as culturas, como “padrões de referência”. A cultura de líquido pleural apresentou 14,5% de isolamento, com 40 casos positivos para *S. pneumoniae*, 21 para *Hib* e três para *S. aureus*. O estudo acima contou com uma grande casuística, permitindo a observação segura de que em termos de sensibilidade, o TAPL, em amostras de líquido pleural, mostrou-se ligeiramente superior à técnica central da pesquisa (Dot-ELISA) e também à CIE; quando a especificidade é analisada, estes dois últimos testes rendem melhores resultados.

Avaliar as propriedades do TAPL (preparado *in-house*), específico a 11 serotipos do *S. pneumoniae*, em

detectar antígeno polissacarídeo capsular do citado patógeno em amostras de urina alcalinizada e não concentrada, foi o objectivo de pesquisa conduzida por Harrison *et al* ⁽⁴²⁾ em 1996. Foram seleccionadas crianças com infecção pneumocócica e crianças saudáveis. Os autores também incluíram 80 crianças com pneumonia presumivelmente não pneumocócica. A pesquisa aqui relatada apresenta descrição metodológica confusa, os autores não deixam claro se os 50 casos seleccionados para o estudo da sensibilidade são todos de pneumonia; somando-se a isso, não utilizaram nenhum método como padrão de referência. Desta forma, uma análise lógica torna-se difícil.

Ainda em 1996, Patwari *et al* ⁽⁴³⁾ investigaram a etiologia de pneumonias comunitárias em crianças indianas de zero a 12 anos de idade. Para tal, utilizaram hemoculturas, culturas de secreção de orofaringe, de aspirado de nasofaringe e de aspirado pulmonar, e o TAPL em espécimes de urina e soro. A hemocultura não foi positiva em nenhum, a cultura de secreção de nasofaringe em 22 e de aspirado pulmonar por punção transcutânea em seis dos 12 casos realizados. O presente estudo exhibe desempenho satisfatório do TAPL frente aos outros métodos, no entanto, os autores não detalharam individualmente a rentabilidade do teste em amostras de soro e urina, os resultados foram apresentados agrupadamente, facto que é aceitável já que o objectivo central da pesquisa foi a investigação etiológica, independentemente da ferramenta utilizada. Ficou claro contudo, que infecções causadas por *S. pneumoniae* e *Hib* foram mais facilmente detectadas pelo TAPL.

Foo *et al* ⁽⁴⁴⁾ em 2000, pesquisaram a saliva, como fonte para encontro de antígeno capsular pneumocócico em crianças de dois meses a dois anos de idade, com pneumonia presumivelmente bacteriana, das quais 16 já estavam em uso de antibióticos, e em crianças sadias. Hemoculturas realizadas em todos os casos não apresentaram nenhum resultado positivo. Levando-se em conta que a faixa etária seleccionada pelos autores apresenta altos índices de colonização por *S. pneumoniae* em vias aéreas superiores ⁽⁴⁵⁾, os resultados do TAPL em espécimes de saliva são surpreendentes, pois, conhecendo que o referido fluido orgânico, a exemplo da expectoração, pode estar “contaminado”, a sensibilidade esperada seria maior do que a observada, bem como a especificidade seria menor.

Na tabela I é apresentada uma sinopse dos principais trabalhos utilizando o TAPL no diagnóstico etiológico das pneumonias comunitárias.

Comentários Finais

Das 17 publicações originais revistas, nove tiveram origem em países desenvolvidos, sete em subdesenvolvidos, sendo três no Brasil e um multicêntrico, incluindo Brasil, Egípto e Estados Unidos. Em duas pesquisas, a população de estudo foi composta por crianças e adultos,

Tabela I
Sinopse das principais publicações com o emprego do TAPL em pneumonias comunitárias em crianças e adolescentes

Autor/país/período (ref)	Casuística	Método empregado (trat. amostras, produto comercial, etc)	Teste referência	Resultados (%)
Ward <i>et al</i> / EUA / 1878 ⁽²⁷⁾	5 casos 60 controles	Amostras de soro e líquido pleural Reagente ao <i>Hib</i> preparado "in-house"	CIE	Sens. 100% Esp. 100%
Kumar <i>et al</i> / EUA / 1980 ⁽²⁸⁾	26 casos Controles – NR	Amostras de soro e secreção de nasofaringe Reagentes ao <i>S. pneumoniae</i> e <i>Hib</i> preparados "in-house"	CIE	Sens. 100% Esp. NR
Scheifele <i>et al</i> / Canadá / 1981 ⁽²⁹⁾	NR	Amostras de soro Reagentes ao <i>Hib</i> preparados "in-house"	CIE	Sens. 100% Esp. NR
Daum <i>et al</i> / EUA / 1982 ⁽³⁰⁾	14 casos 39 controles	Amostras de soro Reagentes ao <i>Hib</i> (Bactogen kit ®)	TAPL "in-house"	Sens. (urina)–100% (soro)–72,7% Esp. (urina)–97% (soro)–95%
Simon <i>et al</i> / Alemanha / 1985 ⁽³¹⁾	41 casos 271 controles	Amostras de soro e urina Partículas de latex sensibilizadas com anticorpos ao <i>S. pneumoniae</i> e <i>Hib</i> com kit comercial	CoA	Sens. 70,7% Esp. 98,1%
Ramsey <i>et al</i> / EUA / 1986 ⁽³²⁾	Casos – NR 97 controles	Amostras de soro e urina Reagentes ao <i>Hib</i> preparados "in-house"	Hemocultura CoA	Sens. NR Esp. 99%
Rusconi <i>et al</i> / Itália / 1988 ⁽³³⁾	60 casos 60 controles	Amostras de soro, urina, expectoração e sec.de nasofaringe Kits com reagentes ao <i>S. pneumoniae</i> e ao <i>Hib</i>	CIE	Sens. 1,7% a 31% Esp. 86,7% a 100%
O'Neill <i>et al</i> / Gâmbia / 1989 ⁽³⁴⁾		Amostras de soro e urina Kits comerciais e preparados "in-house" com reagentes ao <i>S. pneumoniae</i> e ao <i>Hib</i>	CIE Culturas	Sens. 0% a 76% Esp. 93% a 100%
Isaacs / Inglaterra / 1989 ⁽³⁵⁾	57 casos e controles	Amostras de soro e urina, Kit c/ anti-soro ao <i>Hib</i> e <i>S. pneumoniae</i>	CIE	Sens. (soro)–0% (urina)–10% Esp. (soro)–100% (urina)–91%
Witt <i>et al</i> / Papua Nova Guiné / 1990 ⁽³⁶⁾	19 casos 62 controles	Amostras de soro e urina Kit comercial com reagentes ao <i>S. pneumoniae</i> e ao <i>Hib</i>	Hemocultura CIE	Sens. 0% a 100% Esp. 79% a 100%
Requejo <i>et al</i> / Brasil / 1991 ⁽³⁷⁾	115 casos 55 controles	Amostras de soro, líquido pleural e urina Kit comercial com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos ao <i>S. pneumoniae</i> e <i>Hib</i>	CIE Hemocultura	Sens. (urina conc): 73% (soro):38% (líq. pleural): 100% Esp. (urina conc.): 89,1% (soro): 100%
Capedinget <i>et al</i> / Finlândia / 1991 ⁽³⁸⁾	26 casos 30 controles	Amostras de urina Kits comerciais e preparados "in-house" com reagentes ao <i>S. pneumoniae</i>	NR	Sens. 8% a 42% Esp 100%
Camargos <i>et al</i> / Brasil / 1993 ⁽³⁹⁾	35 casos 24 controles	Amostras de soro e urina Kit comercial com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos ao <i>S. pneumoniae</i> e <i>Hib</i>	Achados clínicos laboratoriais e radiológicos compatíveis com quadro bacteriano	Sens, 0% Esp. 100%
Requejo <i>et al</i> / Brasil / 1994 ⁽⁴⁰⁾	442 casos 58 controles	Líquido pleural Reagentes–NR	Dot-Elisa CIE Cultura	Sens.97,5% Esp. 61,3%
Harrison <i>et al</i> / EUA–Egípto–Brasil / 1996 ⁽⁴²⁾	50 casos 39 controles	Amostras de urina Reagentes preparados "in-house" sensibilizados com anticorpos sero-tipo específicos ao <i>S. pneumoniae</i>	NR Cultura	Sens. 46% Esp. 92%
Patwari <i>et al</i> / Índia / 1996 ⁽⁴³⁾	132 casos	Urina, soro, aspirado de nasofaringe; Kit comercial com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos ao <i>S. pneumoniae</i> e <i>Hib</i>	Cultura	Sens. 77,8% Esp. NR
Foo <i>et al</i> / Tailândia / 2000 ⁽⁴⁴⁾	44 casos 52 controles	Amostras de saliva Kit comercial com partículas de látex sensibilizadas com anticorpos ao <i>S. pneumoniae</i>	Hemocultura	Sens. 27% Esp. 83%

Sens. = sensibilidade Esp. = especificidade NR = não relatado

sendo estes seleccionados como controlos. O número de casos (pacientes com pneumonia) seleccionados ficou abaixo de 50 em nove estudos, sendo que, em boa parte desses, o tamanho da amostra foi menor que 30. Em 13 experimentos, houve selecção de grupo controle, formado por pacientes saudáveis ou com patologias diferentes da de interesse.

Os materiais biológicos empregados foram soro e urina em 13 pesquisas, seguidos por amostras de líquido pleural e secreção de nasofaringe em três, saliva e expectoração em um; praticamente todos esses, antes de serem submetidos ao TAPL, sofreram algum tipo de tratamento físico-químico, objectivando a precipitação de antígenos e a eliminação da ocorrência de reacções inespecíficas. Assim, um exemplo foi o aquecimento e a concentração de amostras de urina, em praticamente todas as pesquisas com tal fluido, através de dispositivos comerciais apropriados ou através de mistura química com acetona-etanol, bem como adição de EDTA a 0,1M e o aquecimento de amostras de soro^(38,40). Na maioria dos experimentos os autores testaram espécimes de urina concentrada e sem concentração, com relatos de resultados em termos de sensibilidade, bastante superiores, após a concentração do referido material orgânico, sugerindo que se deva utilizar sempre de tal procedimento com vistas à obtenção de uma maior rentabilidade do teste, quando o mesmo for aplicado nessa circunstância^(31,38).

Os métodos de diagnóstico utilizados para comparação ou referência ao TAPL foram as técnicas tradicionais de microbiologia e a CIE que apareceram em nove ocasiões, a CoA e o ELISA em duas. Desses, os melhores resultados foram observados com a CIE e o ELISA, nessa ordem, sendo que nenhum mostrou-se superior ou vantajoso em relação ao TAPL, visto que grandes diferenças de rentabilidade entre este e aqueles não foram observadas, ressaltando que este foi tido por todos autores como mais fácil de ser realizado, mais rápido e menos oneroso.

A sensibilidade do TAPL variou de 0% a 100% e a especificidade de 61% a 100%, e, embora com sua aplicação nos mesmos fluidos corporais, notam-se grandes discrepâncias de resultados entre os estudos, não sugerindo, dessa maneira, a superioridade do teste em nenhum material biológico em particular; com excepção do líquido pleural, onde a rentabilidade foi superior, com resultados mais concordantes⁽⁴¹⁾, o que, de certa forma, seria esperado, dada a elevada concentração de componentes antigénicos nesse fluido. No entanto, a ocorrência de derrame pleural é um evento relativamente raro em pneumonias comunitárias, consequentemente, a disponibilidade desse material é restrita e, dessa maneira, não se desfrutaria desse bom desempenho do TAPL com frequência. A maioria dos estudos apresentou casuística pequena, sobretudo no grupo de casos (menor que 30), bem como selecção pouco ade-

quada de controlos, que, muitas vezes constituíram-se de pacientes com doenças crônicas do pulmão e deficiências do sistema imune, os quais, frequentemente são portadores com maior frequência de *S. pneumoniae* em vias aéreas⁽⁴⁵⁾. Outros utilizaram amostras de expectoração e saliva⁽⁴⁴⁾, materiais que são sujeitos a contaminação, dificultando análises apropriadas dos resultados, não permitindo extrapolações para outras populações. No entanto, em dois estudos coincidentemente brasileiros^(38,41), com tamanho de amostra expressivo e metodologia adequada, o TAPL apresentou sensibilidade de 73% e especificidade de 89,1% em amostras de urina concentrada e 97,5% e 61,3% respectivamente em amostras de líquido pleural de crianças, sugerindo que o teste de aglutinação pode ser uma ferramenta útil para o esclarecimento etiológico de pneumonias comunitárias em países em desenvolvimento.

O TAPL, realizado com reagentes serotipo específicos ao *S. pneumoniae*, preparados *in-house* e manuseado em tubos, apresentou resultados discretamente superiores ao teste com kits comerciais; todavia, deve-se considerar que o primeiro reveste-se de maiores dificuldades, levando-se em conta a necessidade de serotipagem obrigatória das cepas de pneumococo, a qual não é rotineiramente executada na maioria das instituições, sobretudo as de nações em desenvolvimento^(39,42).

Incontestavelmente as técnicas convencionais de microbiologia, entenda-se coloração pelo gram e cultura, sejam em quaisquer fluidos corporais, obtidos por qualquer meio ou local, têm contribuição limitada no estudo etiológico das pneumonias adquiridas na comunidade, com sensibilidade não ultrapassando 50%-60%^(7,9-11,14). Métodos de imunodiagnóstico como CIE, CoA, detecção de imunocomplexos circulantes e ELISA têm apresentado bons resultados em diversos estudos; no entanto, exigem disponibilidade de maiores recursos técnicos e pessoal especializado, elevando o custo final e inviabilizando o aproveitamento em locais desprovidos de tais meios. A reacção de polimerização em cadeia (RPC), um método disponível graças ao avanço da biologia molecular⁽⁴⁶⁾, tem sido vista como um recurso promissor no auxílio ao diagnóstico etiológico das pneumonias comunitárias; entretanto, seu alto custo financeiro e complexidade técnica têm feito com que seu uso seja restrito a centros de pesquisa. Além do exposto, relatos de que contaminação mínima com componentes antigénicos bacterianos, têm levado a índices consideráveis de resultados falso-positivos e de que a presença de substâncias inibidoras da reacção, contidas principalmente em amostras de soro, conduz à possibilidade de resultados falso-negativos, fazem com que o método não seja adoptado rotineiramente^(5,12,14).

Assim, frente aos testes acima descritos, o TAPL traz algumas características interessantes como o facto de sofrer pouca interferência com o uso prévio de antibióticos,

sobretudo nas primeiras 48 horas^(34,38), ser de fácil execução, podendo ser realizado sem auxílio de grande suporte e por pessoal com conhecimento mínimo em técnicas laboratoriais, além de fornecer leitura rápida; por tais propriedades, o mesmo é aceite e amplamente aplicado em diversos centros para o diagnóstico rápido de meningites bacterianas, situação na qual a invasibilidade sistêmica está quase sempre presente, ao contrário do que é observado nos casos de pneumonia, o que certamente tem feito com que sua utilização na referida doença, ainda não tenha sido absorvida, a ponto de a maioria dos tratados de pediatria, doenças infecciosas e pneumologia não trazer maiores citações sobre a supracitada técnica para esse fim.

Conclusão e Perspectivas

O teste de aglutinação de partículas de látex, pelas características aqui citadas e pelo desempenho apresentado em alguns estudos acima descritos^(31,38,41), deve ser melhor aproveitado no diagnóstico das pneumonias comunitárias, sobretudo em crianças, pois certamente sua aplicabilidade clínica em países em desenvolvimento, como o Brasil, é possível, com boa relação custo/benefício, considerando-se que a doença em questão carece de definição etiológica, induzindo a utilização abusiva de antibióticos de amplo espectro, com consequentes e indesejáveis impactos em termos de saúde pública.

Bibliografia

- Shann F, Germer S, Hazlett D, Gratten M, Linnemann V, Payne R. Aetiology of pneumonia in children in Goroka Hospital, Papua New Guinea. *Lancet* 1984; 2: 537-41.
- Shapiro ED. Epidemiology of Acute Respiratory Infections. *Semin Pediatr Infect Dis* 1998; 9(1): 31-6.
- Henrickson KJ. Viral Pneumonia in Children. *Semin Pediatr Infect Dis* 1998; 9(3): 217-233.
- Editorial. Pneumonia in childhood. *Lancet* 1988; 2: 741-3.
- Adegbola RA, Obaro SK. Diagnosis of childhood pneumonia in the tropics. *Ann Trop Med Parasitol* 2000; 94(3): 197-207.
- Wall RA, Corrah PT, Mabe DC, et al. The etiology of lobar pneumonia in the Gambia. *Bull World Health Organ* 1986; 64(4): 553-8.
- Nascimento-Carvalho CM. Etiology of childhood community acquired pneumonia and its implications for vaccination. *Braz J Infect Dis* 2001; 5(2): 87-97.
- Wubbel L, Muniz L, Ahmed A, et al. Etiology and treatment of community-acquired pneumonia in ambulatory children. *Pediatr Infect Dis J* 1999; 18: 98-104.
- Vuori-Holopainen E, Peltola H. Reappraisal of lung tap: Review of an old method for better etiologic diagnosis of childhood pneumonia. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 715-26.
- Theerthakarai R, El-Hallees W, Ismail M, et al. Nonvalue of the initial microbiological studies in the management of nonsevere community-acquired pneumonia. *Chest* 2001; 119: 181-4.
- Speich R, Hauser M, Hess T, et al. Low specificity of the bacterial index for the diagnosis of bacterial pneumonia by bronchoalveolar lavage. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1998; 17 (2): 78-84.
- Lorente ML, Falguera M, Noguez A, et al. Diagnosis of pneumococcal pneumonia by polymerase chain reaction (PCR) in whole blood: a prospective clinical study. *Thorax* 2000; 55 (2): 133-7.
- Juvén T, Mertsola J, Waris M, et al. Etiology of community-acquired pneumonia in 254 hospitalized children. *Pediatr Infect Dis J* 2000; 19 (4): 293-8.
- Ruiz-Gonzalez A, Noguez A, Falguera M, et al. Rapid detection of pneumococcal antigen in lung aspirates: comparison with culture and PCR technique. *Respir Med* 1997; 91 (4): 201-6.
- Lankinen KS, Ruutu P, Nohynek H, et al. Pneumococcal pneumonia diagnosis by demonstration of pneumolysin antibodies in precipitated immune complexes: a study in 350 Philippine children with acute lower respiratory infection. *Scand J Infect Dis* 1999; 31 (2): 155-61.
- Korppi M, Leinonen M. Pneumococcal immune complexes in the diagnosis of lower respiratory infections in children. *Pediatr Infect Dis J* 1998; 17 (11): 992-5.
- Venkatesan P, Macfarlane JT. Role of pneumococcal antigen in the diagnosis of pneumococcal pneumonia. *Thorax* 1992; 47: 329-31.
- Kumar A, Kumar K. Rapid laboratory diagnosis of infectious diseases. *Prim Care* 1981; 8 (4): 593-604.
- Dochez AR, Avery OT. The elaboration of specific substance by pneumococcus during growth. *J Exp Med* 1917; 26: 477-93.
- Blake FG. Antigen - antibody balance in lobar pneumonia. *Arch Intern Med* 1918; 21: 779-90.
- Pepper DS. The urinary excretion of S substance in lobar pneumonia. *Yale J Biol Med* 1934; 7: 13-21.
- Cruickshank R. The urinary excretion of pneumococcus polysaccharide in lobar pneumonia. *J Pathol Bacteriol* 1938; 46: 67-75.
- De Gara PF, Bukantz SC, Bullowa JGM. Pneumococcal capsular polysaccharide in urine; detection by precipitation and centrifugation. *J Immunol* 1939; 37: 305-20.
- Bukantz SC, De Gara PF, Bullowa JGM. Capsular polysaccharide in the blood of patients with pneumococcal pneumonia. *Arch Intern Med* 1942; 69: 191-212.
- Bloomfield N, Gordon MS, Elmendorf DF Jr. Detection of Cryptococcus neoformans antigen in body fluids by latex particle agglutination. *Proc Soc Exp Biol Med* 1963; 114: 64-7.
- Coonrod JD, Rylko-Bauer. Latex agglutination in the diagnosis of pneumococcal infection. *J Clin Microbiol* 1976; 4: 168-74.
- Ward JI, Siber GR, Scheifele DW, Smith DH. Rapid diagnosis of Haemophilus influenzae type b infections by latex particle agglutination and counterimmunoelectrophoresis. *J Pediatr* 1978; 93 (1): 37-42.
- Kumar A, Congeni BL, Nankervis GA. Latex agglutination test for rapid detection of bacterial antigens in body fluids. *Ann Clin Lab Sci* 1980; 10 (5): 377-82.
- Scheifele DW, Ward JI, Siber GR. Advantage of latex agglutination over countercurrent immunoelectrophoresis in the detection of Haemophilus influenzae type b antigen in serum. *Pediatrics* 1981; 68 (6): 888-90.
- Daum RS, Siber GR, Kamon JS, Russel RR. Evaluation of a commercial latex particle agglutination test for rapid diagnosis of Haemophilus influenzae type b infection. *Pediatrics* 1982; 69 (4): 466-71.
- Simon C, Kiosz W, Kiosz D. Der latex- und koagglutinations-test in serum und urin bei kinlichen pneumonien. *Monatsschr Kinderheilkd* 1985; 133: 225-30.
- Ramsey BW, Marcuse EK, Foy HM, et al. Use of bacterial antigen detection in the diagnosis of pediatric lower respiratory tract infections. *Pediatrics* 1986; 78 (1): 1-9.
- Markowitz RI, Ruchelli E. Pneumonia in infants and children: radiological-pathological correlation. *Semin Roentgenol* 1988; 33 (2): 151-62.
- Rusconi F, Rancilio L, Assael BM, et al. Counterimmunoelectrophoresis and latex particle agglutination in the etiologic diagnosis of presumed bacterial pneumonia in pediatric patients. *Pediatr Infect Dis J* 1988; 7: 781-85.
- O'Neill KP, Lloyd-Evans N, Campbell H, et al. Latex agglutination

- test for diagnosing pneumococcal pneumonia in children in developing countries. *BMJ* 1989; 298: 1061-4.
36. Isaacs D. Problems in determining the etiology of community-acquired childhood pneumonia. *Pediatr Infect Dis J* 1989; 8: 143-8.
 37. Witt CS, Montgomery JM, Pomat W, et al. Detection of *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* type b antigens in the serum and urine of patients with pneumonia in Papua New Guinea: comparison of latex agglutination and counterimmunoelectrophoresis. *Rev Infect Dis* 1990; 12 (suppl 8): S1001-S1005.
 38. Requejo HIZ, Matsumoto TK, Lotufo JPB, Santos M, Oliveira Filho JF, Ribeiro TM, et al. Detecção de antígenos bacterianos em pneumonia aguda : métodos de preparação das amostras de urina, soro e líquido pleural para os testes de imunodiagnóstico. *Rev Hosp Clin Fac Med S. Paulo* 1991; 46 (1): 19-25.
 39. Capeding MRZ, Nohynek H, Ruutu P, Leinonen M. Evaluation of a new tube latex agglutination test for detection of type - specific pneumococcal antigens in urine. *J Clin Microbiol* 1991; 29 (9): 1818-21.
 40. Camargos PAM, Almeida MS, Reis AF, Ferreira J, Marra AP, Paes CA. Test d' agglutination de particules de latex pour le diagnostic étiologique des pneumonies à *S. pneumoniae* et *H. influenzae*. *Cahiers Santé* 1993; 3: 41-4.
 41. Requejo HIZ, Alkmin MGA, Almeida RG, Casagrande ST, Coccoza AM, Lotufo JPB, et al. Dot-enzyme-linked immunosorbent assay (Dot - ELISA) for detection of pneumococcal polysaccharide antigens in pleural fluid effusion samples. Comparison with bacterial culture, counterimmunoelectrophoresis and latex agglutination. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 1994; 36 (6) 531-7.
 42. Harrison LH, Steinhoff MC, Sridharan G, Castelo A, Khallaf N, Ostroff SM, et al. Monovalent latex agglutination reagents for the diagnosis of nonmeningitic pneumococcal infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1996; 24: 1-6.
 43. Patwari AK, Bisht S, Srinivasan A, Deb M, Chattopadhyaya D. Aetiology of pneumonia in hospitalized children. *J Trop Pediatr* 44. Foo RLK, Graham SM, Suthisarnsuntorn U, Parry CM. Detection of pneumococcal capsular antigen in saliva of children with pneumonia. *Ann Trop Pediatr* 2000; 20 (2): 161-3.
 45. Ferreira LLM, Carvalho ES, Berezin EN, Brandileone MC. Colonização e resistência antimicrobiana de *Streptococcus pneumoniae* isolado em nasofaringe de crianças com rinfaringite aguda. *J Pediatr* 2001; 77 (3): 227-34.
 46. Raj P. Molecular Diagnosis of Infectious Diseases. *Indian J Pediatr* 1997; 64: 435-40.