

MARINA RODRIGUES QUARESMA

**DETERMINAÇÃO DO TÍTULO SUPERIOR DE NORMALIDADE
DOS ANTICORPOS ANTI-ESTREPTOLISINA O (ASLO)
PARA UMA POPULAÇÃO DE INDIVÍDUOS SADIOS,
ENTRE 2 E 17 ANOS, RESIDENTES NA CIDADE DE
SÃO PAULO, BRASIL**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo - Escola
Paulista de Medicina, para
obtenção do título de Doutor em
Medicina.**

**São Paulo
1997**

MARINA RODRIGUES QUARESMA

**DETERMINAÇÃO DO TÍTULO SUPERIOR DE NORMALIDADE
DOS ANTICORPOS ANTI-ESTREPTOLISINA O (ASLO)
PARA UMA POPULAÇÃO DE INDIVÍDUOS SADIOS,
ENTRE 2 E 17 ANOS, RESIDENTES NA CIDADE DE
SÃO PAULO, BRASIL**

**Tese apresentada à Universidade
Federal de São Paulo - Escola
Paulista de Medicina, para obtenção
do título de Doutor em Medicina.**

**Orientador: Prof. Dr. Paulo Guilherme Leser
Coordernador: Prof. Dr. Marcos Bosi Ferraz**

**São Paulo
1997**

FICHA CATALOGRÁFICA

Quaresma, Marina Rodrigues

Determinação do título superior de normalidade dos anticorpos anti-estreptolisina O (ASLO) para uma população de indivíduos sadios, entre 2 e 17 anos, residentes na cidade de São Paulo / Marina Rodrigues Quaresma. -- São Paulo, 1997. 138p.; 29 cm.

Tese (Doutorado -- Reumatologia) -- Universidade Federal de São Paulo.

1. Anticorpos Anti-Estreptolisina O.
2. Febre Reumática.
3. Estreptococcias - diagnóstico.

Aos meus pais, **Anna Maria e Arthur**,
dedico esta tese, pelo amor,
exemplo, incansável apoio e
incentivo à minha formação
moral e profissional.

Aos meus irmãos **Maria Stela e Artur** e
cunhados **Gustavo e Vera** agradeço a
união, o amor e a amizade.

Ao **Prof. Dr. Edgard Atra** “in memorium”
meu profundo agradecimento pelo
apoio, incentivo e confiança.

A elaboração de um trabalho científico não é possível sem a ajuda de **muitos**. Agradeço a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o planejamento, implementação, análise e conclusão deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Paulo Guilherme Leser, agradeço pela paciência e dedicação na orientação deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Walter Leser, agradeço os ensinamentos e a incansável dedicação e disponibilidade em me orientar no projeto desta tese.

Ao Prof. Dr. Luis Decourt, pelas sugestões no projeto inicial desta tese.

Ao Prof. Dr. Marcos Bosi Ferraz, pelo grande incentivo na minha carreira, pela revisão metodológica deste trabalho e pela oportunidade de ida ao exterior para uma pós-graduação em Epidemiologia Clínica e Bioestatística, que além de me auxiliar na análise desta tese, me fez crescer.

Ao Prof. Dr. José Goldenberg, pela amizade e apoio à minha carreira profissional.

À Prof. Dra. Emília I. Sato, pela oportunidade e ensinamentos em reumatologia.

Aos Prof. Dr. Charles H. Goldsmith e Geoffrey R. Norman do Departamento de Epidemiologia Clínica e Bioestatística da Universidade McMaster, Hamilton - Canadá, pela orientação da análise estatística desta tese.

À Profa. Neusa Pereira da Silva, pela amizade, compreensão e disponibilidade em ler alguns dos testes de laboratório e revisar o conteúdo e redação deste trabalho.

Ao Dr. Cláudio Len, pela grande amizade e disponibilidade em rever os aspectos clínicos da introdução deste trabalho.

À Zenaide Freitas de Araujo e à Antônia Pereira Alves, funcionárias do ambulatório da Pediatria da UNIFESP, pela dedicação e disponibilidade em colher amostras de sangue de todos os indivíduos que participaram deste estudo.

À Clarisse Hesser e à Miriam Snege, pela orientação na padronização e leitura da reação de aglutinação.

À Maristela Adamovski Curi e Silene P. Keusseyan de Oliveira, pela disponibilidade em ajudar a realizar e ler os testes laboratoriais deste trabalho.

À Dra. Maria Antônia Oliveira Machado, do setor de microbiologia do Laboratório Central da UNIFESP, por ter facilitado a execução das culturas de secreção da orofaringe.

Às técnicas Márcia Navarro Afonso “in memorium” e Yara Pontes Zanatta, do setor de microbiologia do Laboratório Central da UNIFESP, por terem realizado as culturas.

Ao técnico Fernando Pereira Pinto, do setor de microbiologia do Laboratório Central da UNIFESP, por ter preparado os meios de cultura.

À Cláudia Aparecida Cavalcante, funcionária da BIREME - Biblioteca Regional de Medicina, pela disponibilidade em levantar alguns artigos e rever as referências bibliográficas desta tese.

Ao Laboratório Fleury, que gentilmente realizou a reação de neutralização para detecção de anticorpos ASLO.

À Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda., que gentilmente forneceu o material para a coleta de sangue utilizados neste estudo.

À bioMérieux/BIOLAB, que gentilmente forneceu os reagentes para a reação de aglutinação.

Aos responsáveis pelo ambulatório de Pediatria do Hospital São Paulo e Colégio da Polícia Militar que permitiram que o estudo fosse realizado nestes locais.

Aos pais das crianças e adolescentes do ambulatório de Pediatria do Hospital São Paulo e Colégio da Polícia Militar que consentiram que seus filhos participassem deste estudo. Sem eles, não seria possível a realização desta tese. Meu sincero agradecimento a todos.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico - CNPq, pela bolsa de estudos concedida.

SUMÁRIO

I.	INTRODUÇÃO	1
1.	Estreptococcias	2
2.	Febre Reumática	2
2.1.	Conceito	2
2.2.	Histórico	3
2.3.	Etiologia	5
2.3.1.	Estreptococo Beta-Hemolítico do Grupo A	5
2.3.2.	Susceptibilidade individual	8
2.3.3.	Fatores ambientais	10
2.4.	Epidemiologia	11
2.5.	Patogenia	15
2.6.	Patologia	21
2.7.	Diagnóstico	23
2.8.	Tratamento e profilaxia	28
3.	Evidência de infecção pelo EBHA	31
3.1.	Cultura de secreção da orofaringe	31
3.2.	Sorologia	35
3.2.1.	Histórico	35
3.2.2.	Neutralização	35
3.2.3.	Aglutinação	37
3.2.4.	Nefelometria	38
3.2.5.	Interpretação dos títulos de anticorpos ASLO	38
II.	OBJETIVOS	43
III.	MATERIAIS E MÉTODOS	45
1.	Casuística	46
2.	Método	48
2.1.	Cultura da secreção da orofaringe	48
2.2.	Coleta de sangue	48
2.3.	Reação de neutralização	49
2.4.	Reação de aglutinação com partículas de látex	53
2.5.	Métodos estatísticos	55
IV.	RESULTADOS	57
V.	DISCUSSÃO	65

VI. CONCLUSÕES	92
VII. RESUMO/ABSTRACT	94
VIII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
ANEXOS	115

I - INTRODUÇÃO

1. Estreptococcias

Estreptococcia é um termo genérico utilizado para definir a infecção causada pelo *Streptococcus pyogenes*. Dependendo da cepa, a infecção pode apresentar-se sob diferentes formas clínicas. Dentre as mais comuns podemos citar as seguintes: faringites e/ou amigdalites, escarlatina, infecções cutâneas (impetigo ou piodermite), febre puerperal, erisipela, celulites, mastoidites, otites médias, pneumonia e peritonite (PORTO, 1987). Nos últimos anos, algumas formas graves e raras de infecção pelo estreptococo vêm sendo descritas, tais como: fasciíte necrotizante, miosite, escarlatina maligna, septicemia e síndrome do choque tóxico (STEVENS, 1994).

Além das complicações agudas, podem ocorrer complicações tardias, não supurativas, em indivíduos susceptíveis. Dentre essas estão a febre reumática (FR) e a glomerulonefrite difusa aguda (GNDA). Ambas surgem após uma infecção pelo estreptococo beta-hemolítico do grupo A - EBHA (STOLLERMAN, 1969; STOLLERMAN, 1971; BISNO, 1980).

2. Febre Reumática (FR)

2.1. Conceito

A FR é uma doença inflamatória que ocorre após reinfecção da orofaringe pelo EBHA (TARANTA & MARKOWITZ, 1989). Suas principais manifestações clínicas incluem a poliartrite migratória, cardite, coréia de Sydenham, nódulos subcutâneos e eritema marginado (JONES, 1944;

GUZMAN, 1993). Dentre estas, a artrite é a manifestação mais comum e a cardite a mais grave. Os nódulos subcutâneos e o eritema marginado são raros, porém úteis no diagnóstico (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

2.2. Histórico

Hippocrates, talvez, tenha sido o primeiro a descrever um quadro de artrite migratória aguda em jovens (MURPHY, 1943). Guillaume de Baillou, em relatos póstumos publicados em 1642, descreveu uma artrite aguda “catarral” que se assemelhava à descrição da FR e que denominou de *reumatismo* (MURPHY, 1943). Thomas Sydenham, em 1685, foi o primeiro a descrever um reumatismo agudo que se diferenciava das descrições de gota. Sua descrição era bastante próxima à poliartrite da FR que conhecemos atualmente. No ano seguinte, em 1686, o mesmo autor descreveu a coréia da FR que hoje leva seu nome - *coréia de Sydenham* (SCHECHTER, 1975; BENEDEK, 1984).

Em 1803, William Heberden destacou o acometimento do reumatismo na infância. Em 1808, David Dundas publicou um relato relacionando a falência cardíaca ao reumatismo agudo. Esse autor parece ter sido o primeiro a usar o termo *febre reumática*. Em 1812, William Wells descreveu nódulos subcutâneos relacionados ao reumatismo agudo. Em 1837, Jean-Baptiste Bouillaud notou a forte associação entre o quadro articular agudo acompanhado de febre e o processo inflamatório cardíaco. Em 1883, Angel Money descreveu a ocorrência de granuloma miocárdico

em pacientes com reumatismo agudo. Mais tarde, em 1904, esse tipo de granuloma foi descrito em maiores detalhes e relacionado à cardite reumática por Ludwig Aschoff (nódulo de Aschoff) (MURPHY, 1963).

A relação entre a faringoamigdalite e a FR foi estabelecida por James Fowler, em 1880, após observação clínica de 20 pacientes. Walter Chedale, em 1886, foi o primeiro a descrever de forma completa a síndrome da FR. Neste mesmo ano, Haig-Brown assinalou o aparecimento de FR após episódio agudo de amigdalite e enfatizou o período de latência entre esta e o aparecimento das primeiras manifestações clínicas da doença reumática (MURPHY, 1943).

Frederick Poynton e Alexander Paine, em 1900, isolaram o estreptococo da amígdala de um paciente com FR (COLLIS, 1939). Em 1928, Homer Swift postulou que a FR resultava do desenvolvimento de uma hipersensibilidade ao estreptococo. Foram os estudos epidemiológicos do americano Alvin Coburn e do inglês Willian Collis, ambos publicados em 1931, que levaram à confirmação do EBHA como o agente etiológico da FR (COLLIS, 1939).

A primeira evidência, confirmando a hipótese imunopatogênica da FR, surgiu em 1932, com a descoberta das anti-estreptolisinas por Edgar Todd (TODD, 1932). No início dos anos 40, LANCEFIELD (1941) descreveu

um método prático para a classificação dos estreptococos em subgrupos e demonstrou que a FR surge apenas após a infecção pelo EBHA.

2.3. Etiologia

A etiologia da FR está intimamente associada ao EBHA, a uma susceptibilidade individual à doença e a fatores ambientais que propiciam disseminação da infecção estreptocócica (STOLLERMAN, 1996).

2.3.1. Estreptococo Beta-Hemolítico do Grupo A

O *Streptococcus pyogenes*, também conhecido como *Streptococcus* sp, beta hemolítico do grupo A (EBHA), é um coco Gram positivo que, quando semeado em meios contendo ágar-sangue, provoca zona de hemólise completa (BIER, 1984).

Estruturalmente, o EBHA é envolvido por uma cápsula de ácido hialurônico, responsável por sua resistência à fagocitose. Apesar de desempenhar um papel na virulência do germe, a cápsula não é antigênica e não há evidências de sua implicação na patogênese da FR (ARAÚJO FILHO et al., 1981). A parede celular é formada por três camadas distintas: externa (superficial ou protéica), média (ou hidrocarbonada) e interna (ou mucopeptídea) (McCARTY, 1969).

É na camada externa que se encontram as proteínas M, R e T, marcadores imunológicos de sorotipos dentro da espécie e, por sua

natureza protéica, capazes de estimular a síntese de anticorpos. Já são conhecidos 85 sorotipos de EBHA (BERKE, 1989). A proteína M é o antígeno de maior virulência dos EBHA e está presente nas fímbrias da bactéria. Cepas ricas em proteína M são patogênicas, enquanto que as cepas isentas de proteína M são avirulentas. Existem 2 classes distintas de proteína M: a classe I apresenta, especialmente na porção amino-terminal, sequências longas e repetitivas de aminoácidos e está relacionada aos surtos epidêmicos de FR - proteína M reumatogênica; enquanto que a classe II caracteriza-se por sequências menores de aminoácidos, portanto, estruturalmente diferentes, estando associada a infecções cutâneas e produção de um “fator de opacificação” - proteína M nefritogênica (FISCHETTI et al., 1988; BESSEN et al., 1989).

A camada média é constituída por carboidratos grupo-específicos que permitem a classificação do estreptococo em grupos de A a O. A maioria das cepas patogênicas ao homem pertencem ao grupo A (McCARTY, 1969).

A camada interna da parede celular é constituída por polissacarídeos e peptideoglicanos, responsáveis pela manutenção da forma e rigidez do microrganismo (McCARTY, 1969). Ainda fazem parte da estrutura básica do estreptococo: a membrana citoplasmática, o citoplasma e o material genético.

Produtos extracelulares (toxinas e enzimas) liberados pelo EBHA também exercem importante atividade biológica (ALOUF, 1980). À exceção da estreptolisina S e da esterase, todos são antigênicos. Os anticorpos produzidos pelo estímulo antigênico dessas toxinas e/ou enzimas podem ser detectados no soro humano e são utilizados como marcadores de infecção estreptocócica recente (DÉCOURT, 1969).

Os principais produtos extracelulares são: estreptolisina O, estreptolisina S, estreptoquinase, hialuronidase, desoxiribonucleases (A, B, C e D), toxina eritrogênica, entre outras (proteínases, nicotinamida-adenina-dinucleotidases e estreptocina A). A estreptolisina O é uma hemolisina que pode ser inibida de forma reversível pelo oxigênio e de forma irreversível pelo colesterol. Além de sua ação hemolisante sobre os eritrócitos, é tóxica para uma variedade de células, tais como: leucócitos polimorfonucleares, plaquetas, lisossomos, células do coração de mamíferos e de anfíbios (SMYTHE & HARRIS, 1941; HERBERT & TODD, 1941; ALOUF, 1980).

A outra hemolisina é a estreptolisina S. Essa não é antigênica e é produzida pelo estreptococo na presença de soro ou de uma variedade de outras substâncias como a albumina sérica, lipoproteínas, ácido ribonucleico ou detergentes como o Tween. Ambas as hemolisinas O e S danificam as membranas celulares de leucócitos polimorfonucleares, plaquetas e organelas sub-celulares.

A estreptoquinase é uma substância ativadora do plasminogênio, capaz de, por sua ação lítica, dissolver o coágulo de fibrina humana, favorecendo a difusão de germes nos tecidos e provocando reação de hipersensibilidade. A hialuronidase despolimeriza o ácido hialurônico da substância fundamental (encontrado no tecido conjuntivo), permitindo a difusão do germe e conseqüente linfangite e celulite. As desoxiribonucleases A, B, C e D degradam o ácido desoxiribonucleico, sendo a D espécie-específica, produzindo exudato purulento. A toxina eritrogênica é uma exotoxina com atividade pirogênica e citotóxica. É ela a responsável pelas erupções cutâneas da escarlatina.

2.3.2. Susceptibilidade individual

Existe uma série de fatores que determinam o desenvolvimento da FR em certos indivíduos e em outros não. Isto é o que definimos como *susceptibilidade individual*.

Embora fatores ambientais tais como baixas condições de higiene e moradia atingirem igualmente os membros de uma mesma família, foi demonstrado que a chance de gêmeos monozigóticos desenvolverem a doença é sete vezes maior que a população de gêmeos dizigóticos (TARANTA, 1959). Além disso, observou-se que, pacientes pertencentes a mesma família (por exemplo, irmãos não gêmeos), muito frequentemente tendem a apresentar as mesmas manifestações clínicas da FR (SPAGNUOLO & TARANTA, 1968).

Vários estudos foram realizados com o objetivo de identificar uma associação entre a FR e um determinado antígeno de histocompatibilidade - HLA classes I e II, em diferentes grupos étnicos, mas nenhuma associação consistente foi encontrada (FALK et al., 1973; MURRAY et al., 1978; YOSHINOYA & POPE, 1980; AYOUB et al., 1986; JHINGHAN et al., 1986; MAHARAJ et al., 1987). Apesar disso, os resultados de alguns estudos sugerem a existência de um marcador genético que determina quem são os indivíduos susceptíveis a desenvolver a doença. PATARROYO et al. (1979) isolaram um aloantígeno, não associados ao complexo HLA, que denominaram 883, presente na superfície de células B de 75% dos pacientes com FR e em apenas 16% da população normal. ZABRISKIE et al. (1985) fez a primeira tentativa para demonstrar a associação do aloantígeno 883 com a FR, utilizando um anticorpo monoclonal que o identificasse. Posteriormente, GIBOFSKY et al. (1991) produziram um anticorpo monoclonal denominado D8/17 que, quando testado com linfócitos de pacientes com FR, reagiu em quase 100% dos casos.

2.3.3. Fatores ambientais

No termo *fatores ambientais* estão incluídas, principalmente, as condições climáticas, duração de cada estação (principalmente do inverno), nível educacional e de higiene da população e especialmente as condições de moradia (BISNO et al., 1970; STOLLERMAN, 1982).

Um aumento da exposição ao estreptococo acontece quando há superpopulação de indivíduos dividindo o mesmo ambiente, principalmente o quarto de dormir. Tais condições podem ocorrer em situações de guerra, de confinamento (creches, asilos, quartéis, escolas, colégios internos, etc) e de pobreza (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Em países em desenvolvimento, grande parte da população vive em favelas ou moradias com baixas condições de higiene e saneamento básico, favorecendo a promiscuidade social e a disseminação de infecções, entre elas as causadas pelo EBHA. Em países desenvolvidos, a incidência de FR foi declinando com a melhoria das condições sócio-econômicas (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Outros fatores associados à pobreza, tais como a desnutrição que pode afetar a resposta imunológica, parecem ter alguma contribuição no aumento da prevalência da doença (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

2.4. Epidemiologia

A FR é uma doença universal. Existe uma certa dificuldade em se obter dados confiáveis a respeito da prevalência e incidência da FR nas várias regiões do mundo, uma vez que os estudos utilizam diferentes critérios diagnósticos e amostras não representativas da população, tornando difícil a determinação do denominador da população estudada (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Em surtos epidêmicos de faringite estreptocócica estima-se que aproximadamente 3% dos indivíduos desenvolvem FR. Em condições endêmicas, apenas 0,3 a 1% dos indivíduos infectados pelo EBHA irão desenvolver a doença (SIEGEL et al., 1961; AMIGO et al., 1993; STOLLERMAN, 1996).

A FR é rara antes dos 5 anos e acima dos 25 anos. A faixa etária que apresenta a maior incidência esta compreendida entre 8 e 12 anos. A gradual diminuição de incidência da FR, após a puberdade, é atribuída à acentuada queda da incidência de faringite estreptocócica nos adolescentes e adultos jovens. Este fato pode ser explicado pelo desenvolvimento de imunidade tipo-específica contra o EBHA após múltiplas infecções, principalmente da orofaringe. Há produção de imunoglobulinas contra a proteína M tipo específica, própria de cada um dos 80 diferentes tipos sorológicos de EBHA. Com as repetidas infecções, o indivíduo passa a apresentar resistência tipo-específica, impedindo ou reduzindo a ocorrência de novas infecções (MARKOWITZ, 1987; ARGÜELLES et al., 1989).

De uma forma geral, a FR acomete igualmente os indivíduos do sexo masculino e feminino. A coréia de Sydenham apresenta um nítido predomínio no sexo feminino, entre a puberdade e a adolescência, sendo rara no sexo masculino e em crianças em idade escolar (ARGÜELLES et al., 1989). No Ambulatório de Reumatologia Pediátrica da Universidade Federal

de São Paulo - Escola Paulista de Medicina (UNIFESP-EPM) é observada uma relação de 1,4 feminino para 1 masculino (HILÁRIO et al., 1992). Esses achados se repetiram em um estudo multicêntrico, envolvendo 7 centros de atendimento em reumatologia pediátrica do Estado de São Paulo, realizado pela Sociedade de Pediatria de São Paulo - SPSP (FERRIANI et al., 1996).

Com relação à distribuição racial, a FR acomete todas as raças de forma uniforme. Nos relatos epidemiológicos de FR, quando há um predomínio racial, este está mais relacionado à situação econômica dos indivíduos daquela raça na região descrita que a uma susceptibilidade particular da raça à FR (ARGÜELLES et al., 1989). No Ambulatório de Reumatologia Pediátrica da UNIFESP-EPM a relação observada é de 45% de indivíduos caucasóides para 55% de indivíduos não caucasóides (HILÁRIO et al., 1992). Relação semelhante foi observada no estudo multicêntrico da SPSP, previamente citado (FERRIANI et al., 1996).

No Brasil, os estudos realizados mostram que a incidência de FR em nosso meio é alta quando comparada à verificada em países desenvolvidos (0,2 a 3/100.000 habitantes) (TARANTA & MARKOWITZ, 1989). TELLES (1961) mostrou que, em cada 100 casos de infecção pelo EBHA, 2 a 4 desenvolviam FR. Dentre esses, cerca de 25% apresentavam cardiopatia reumática. O autor cita que em estudos feitos em São Paulo, em 1937, 12% de 530 pacientes hospitalizados apresentavam cardiopatia reumática, sendo que, em 1951, os números subiram para 15,9% de 558

casos internados, no mesmo estado. No Rio de Janeiro, no mesmo ano, 10% dos 724 pacientes apresentavam FR. Em 1958, num levantamento epidemiológico realizado no Rio de Janeiro, de um total de 6400 crianças internadas em hospitais públicos por motivos diversos, entre 6 e 14 anos, 76 (1,1% do total) apresentavam cardiopatia reumática. O autor ressalta ainda a falta de notificação dos casos ocorridos no nosso meio.

Apesar do progresso das técnicas de tratamento clínico e cirúrgico, diagnóstico e prevenção da FR, a falta de notificação e a dificuldade de acesso à saúde no Brasil, de uma forma geral, são os principais fatores que contribuem para a manutenção de uma alta incidência e prevalência da FR em nosso meio. A situação sócio-econômica e cultural da população também não se alterou substancialmente nas últimas décadas a ponto de melhorar as condições de higiene e habitação da maioria da população, levando a um declínio da exposição ao EBHA e, conseqüentemente, da incidência de FR.

O panorama da FR no Brasil não difere muito do encontrado em outros países em desenvolvimento. A FR ainda é considerada um problema de saúde pública em várias regiões do mundo, tais como: Egito, Índia, Paquistão, Bangladesh, China, Tailândia, Indonésia, outros países do sudoeste asiático, ilhas do Caribe (Haiti, Trinidad Tobago, Jamaica), México, América Central e nos outros países da América do Sul (Bolívia, Paraguai, Uruguai, Chile, Argentina, Peru, Equador, Venezuela e Colômbia).

Num encontro internacional promovido pelo comitê de controle da FR da Organização Mundial Saúde, em 1979, em Nova Deli, Índia, os dados mostraram que a incidência de FR nos países em desenvolvimento é de aproximadamente 50/100.000 habitantes e maior que 150/100.000 crianças entre 5 a 19 anos de idade. A incidência de cardiopatia reumática é de aproximadamente 40/100.000 habitantes e 108/100.000 crianças entre 5 e 19 anos de idade (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1980).

Nos Estados Unidos, desde a introdução da penicilina, os estudos mostram um declínio na incidência da FR (STOLLERMAN, 1980; QUINN, 1989). Entretanto, na década de 80, vários relatos na literatura atestam o ressurgimento da doença em algumas regiões dos Estados Unidos (VEASEY et al., 1987; WALD et al., 1987; CONGENI et al., 1987; HOSIER et al., 1987; WALLACE et al., 1989; MASON et al., 1991; HEFELFINGER, 1992). As causas desse ressurgimento ainda não estão claras. Fatores sócio-econômicos (principalmente acúmulo de indivíduos dividindo o mesmo ambiente) aliados a uma mudança na virulência da bactéria e na susceptibilidade do hospedeiro são apontados como os principais responsáveis pelo aumento da incidência da FR nas populações estudadas. As alterações relacionadas à bactéria podem ser decorrentes da introdução de cepas ditas reumatogênicas do EBHA nessas comunidades e/ou a conversão de cepas não reumatogênicas em reumatogênicas (MARKOWITZ, 1994; BRONZE & DALE, 1996).

2.5. Patogenia

O papel do EBHA na patogênese da FR ainda não está totalmente esclarecido (ATIK et al., 1994; BADR-ELDIN, 1996; TERRERI & HILÁRIO, 1996). Diversas hipóteses surgiram para explicar o processo, mas nenhuma foi capaz de explicá-lo completamente. A seguir será apresentada uma revisão da literatura sobre o assunto, colocando em ordem cronológica as evidências produzidas até o presente momento.

O conceito de autoimunidade como mecanismo patogênico da FR foi inicialmente sugerido por BROKMAN et al. (1937). Em seguida, CALVETI (1945) observou anticorpos contra o tecido cardíaco no soro de pacientes com FR aguda e cardite reumática e sugeriu uma disfunção da imunidade humoral e celular, na vigência de uma infecção pelo EBHA.

A partir daí, ROTHBARD et al. (1948) e McCARTY (1952) postularam que tanto a estrutura molecular do EBHA como vários produtos extracelulares liberados pela bactéria estavam implicados, direta ou indiretamente na patogênese da FR. WATSON et al. (1961) estudaram o tecido cardíaco de pacientes que foram a óbito por complicações cardíacas da FR e observaram a ausência de EBHA no tecido, afastando a hipótese de uma ação direta da bactéria como mecanismo de lesão tecidual.

Mais evidências a favor de um mecanismo autoimune para explicar a patogênese da FR surgiram com os estudos que demonstraram uma reação cruzada entre anticorpos produzidos contra antígenos do EBHA e

estruturas teciduais do hospedeiro. ZABRISKIE & FREIMER (1966) demonstraram a ocorrência de reação cruzada entre anticorpos produzidos contra antígenos da membrana citoplasmática do EBHA e o sarcolema do músculo estriado e liso, presentes no endocárdio e na camada média arterial. GOLDSTEIN et al. (1967) também observou reação cruzada, mas entre anticorpos produzidos contra os polissacarídeos da parede celular bacteriana e glicoproteínas presentes nas válvulas cardíacas.

A relação entre o agente etiológico da FR (EBHA) e o mecanismo patogênico ganhou mais evidências quando DUDDING & AYOUB (1968) demonstraram que pacientes com FR aguda apresentam um nível de anticorpos elevado contra a maioria dos antígenos estreptocócicos (extracelulares e antígenos de membrana) quando comparados aos controles. WANNAMAKER (1970a) elaborou, então, uma teoria que denominou de teoria imunológica da FR. Segundo esta teoria, a doença resulta da interação entre um ou mais antígenos do EBHA e anticorpos no tecido do hospedeiro. A ação indireta do EBHA no dano tecidual por meio da liberação de toxinas (estreptolisinas O e S e estreptocina) foi estudada por alguns investigadores que concluíram ser esse um dos mecanismos, mas não o único, para explicar a etiopatogênese da FR (THOMPSON et al., 1970; GINSBURG, 1972; TAGG & MacGIVEN, 1972).

Evidências para dar suporte à hipótese de autoimunidade e à participação de setores específicos do sistema imune na lesão tecidual, na

FR, continuaram a surgir. HUSBY et al. (1976) encontraram indícios de autoimunidade associada a outra manifestação maior da FR, a coréia de Sydenham. Esses autores demonstraram reação cruzada entre anticorpos produzidos contra a membrana citoplasmática do EBHA e componentes dos núcleos subtalâmico e caudado de pacientes com FR. Outros investigadores demonstraram o mecanismo de lesão tecidual com a exposição dos sítios antigênicos cardíacos, deposição de imunocomplexos e fixação de complemento (CHELSON et al., 1976; WILLIAMS et al., 1979; ZABRISKIE & FRIEDMAN, 1983).

BERRIOS et al. (1986), num estudo realizado em população aberta, tentaram demonstrar a relação entre susceptibilidade do hospedeiro e exposição ao EBHA. BENATAR et al. (1988) corroboraram com a teoria da susceptibilidade individual, demonstrando anormalidades imunológicas em pacientes que desenvolviam FR ou glomerulonefrite pós-estreptocócica. EVANS et al. (1988), por sua vez, tentaram demonstrar um mecanismo imunológico comum à patogênese da FR, endocardite subaguda e tuberculose.

Uma outra hipótese para explicar a patogenia da FR é a de uma alteração imunorregulatória desencadeada pelo EBHA (ETZIONI et al., 1986). Essa, baseia-se em evidências da participação da imunidade celular em pacientes com FR. Dentre as alterações descritas, podemos citar: aumento da inibição da migração de leucócitos; aumento da citotoxicidade

de células “natural-killer” (NK); aumento da atividade citotóxica de células mononucleares por estímulo de produtos do EBHA e produção de fator de necrose tumoral e interleucina 2 por células mononucleares circulantes (READ et al., 1986; GRAY et al., 1988; BHATIA et al., 1989; HAFEZ et al., 1989; MILLER et al., 1989; EISSA et al., 1990). Nessa mesma época, surgiram duas importantes evidências a favor da autoimunidade. CUNNINGHAM et al. (1989) demonstraram a ocorrência de reação cruzada entre anticorpos produzidos contra um epítipo comum à proteína M (GLN-LYS-SER-LYS-GLN) e às tropomiosina e miosina do miocárdio. AYOUB & KAPLAN (1991), por sua vez, mostraram a existência de reação cruzada entre anticorpos contra a cápsula de ácido hialurônico e tecido sinovial e cartilagem, sendo esta uma das primeiras evidências que explicam o comprometimento articular da FR.

BADR-ELDIN et al. (1994) demonstraram um defeito na função fagocitária, especificamente na ativação das células mononucleares, em pacientes com FR. Em publicação mais recente BADR-ELDIN (1996) postulou que esse defeito na função fagocitária das células mononucleares pode ser o fator desencadeante da FR em indivíduos susceptíveis. Partindo desse achado, o autor tentou reunir evidências da literatura para, incorporando sua teoria, explicar um possível processo etiopatogênico da FR como descrito a seguir.

Sendo assim, segundo BADR-ELDIN (1996), o primeiro estágio do desenvolvimento da FR começa com uma infecção pelo EBHA nas vias aéreas superiores. Ocorre, então a formação de anticorpos anti-estreptocócicos e de imunecomplexos circulantes. Nos indivíduos susceptíveis, o defeito no sistema de fagocitose permite que os imunecomplexos formados permaneçam circulando, desencadeando uma sequência de eventos. Há diminuição na população de linfócitos T supressores que induz aumento na atividade dos linfócitos T auxiliares, resultando numa excessiva produção de anticorpos e formação de mais imunecomplexos, criando um círculo vicioso. Quando a produção de anticorpos ultrapassa a quantidade de antígenos estreptocócicos, a estrutura reticular dos imunecomplexos resultantes contém muitos sítios de ligação dos anticorpos livres. Esses imunecomplexos circulantes vão ligar-se aos sítios antigênicos expostos no tecido cardíaco e sinovial. Com a fixação do complemento, uma consequente lesão tecidual se instala.

Ainda segundo BADR-ELDIN (1996), concomitantemente ao processo acima descrito, ocorre uma sequência de eventos que favorece a deposição dos imunecomplexos. Voltando à infecção pelo EBHA, quando essa não é tratada, maior quantidade do antígeno estreptocócico é produzida no hospedeiro. Observa-se um aumento da atividade de células NK citotóxicas como resposta ao estímulo provocado pelos antígenos estreptocócicos. Essa ativação, juntamente com o efeito direto dos produtos liberados pelo EBHA, parece promover uma exposição dos sítios

antigênicos cardíacos, facilitando a deposição de imunocomplexos e, portanto, os eventos subsequentes que promovem a lesão tecidual.

2.6. Patologia

Do ponto de vista histopatológico, a FR caracteriza-se por um processo inflamatório difuso, proliferativo e exsudativo do tecido conjuntivo de vários órgãos e sistemas, particularmente do coração e articulações. As alterações são mais intensas e graves no coração e mais escassas e menos graves no cérebro, vasos, pele e articulações (McCLURE & ARGÜELLES, 1989).

Macroscopicamente, o músculo cardíaco apresenta-se friável, edemaciado, pálido e moderadamente hipertrófico. As câmaras cardíacas encontram-se dilatadas. Endocardite está sempre presente: os folhetos valvares apresentam pequenos nódulos translúcidos com aspecto verrucoso nas extremidades mas, apesar disto, não estão tão alterados. Os átrios podem estar espessados, particularmente o átrio esquerdo, acima da base do folheto posterior da válvula mitral. Sinais de pericardite reumática podem estar presentes com o achado de líquido sero-fibrinoso nessa localização (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Microscopicamente podem ser observados degeneração e edema difuso das fibras musculares associados à degeneração fibrinóide do colágeno. A presença de nódulos de Aschoff é patognomônica da FR, e estes estão presentes, especialmente na fase aguda da doença. São focos

perivasculares de degeneração ou necrose circundados por agregados de células mononucleares com grandes núcleos e células multinucleares gigantes, na maioria monócitos ou macrófagos. À imunofluorescência detecta-se a presença de imunoglobulinas e complemento nas fibras miocárdicas, parede dos vasos e pericárdio. Nos infiltrados valvulares linfóides há predomínio de células T (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Quando o óbito ocorre muitos anos após o primeiro surto da FR, observa-se uma retração, deformidade e espessamento dos folhetos valvares. A fusão de comissuras e o encurtamento das cordoalhas tendinosas mudam a morfologia da válvula. Calcificações são frequentes (ARGÜELLES et al., 1989).

As estruturas articulares e periarticulares encontram-se edemaciadas mas a formação de *pannus* e erosões nas superfícies articulares nunca são observadas. A membrana sinovial mostra proliferação superficial e encontra-se recoberta por um exsudato enquanto que as camadas mais profundas da sinovial estão infiltradas por células, predominantemente, polimorfonucleares. O exsudato é turvo mas não purulento, sendo que, no início da doença, há um predomínio de polimorfonucleares e mais tarde de células mononucleares. As fibras do tecido conjuntivo encontram-se edemaciadas e, muitas vezes, com sinais de degeneração fibrinóide (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Existem poucos relatos na literatura sobre os achados cerebrais relacionados à coréia. Não há consistência nas descrições uma vez que os mesmos achados foram observados em autópsia de pacientes com e sem coréia (TARANTA & MARKOWITZ, 1989). Quanto aos nódulos subcutâneos, estes contêm material fibrinóide filamentosos, com poucas células, na maioria fibroblastos ou histiócitos (BENEDEK, 1984).

2.7. Diagnóstico

O diagnóstico da FR é clínico. Não existem testes laboratoriais, nem tão pouco sinais ou sintomas clínicos que, isoladamente, façam o diagnóstico da doença. Sendo assim, um conjunto de sinais, sintomas e testes laboratoriais inespecíficos é que permitirá o estabelecimento do diagnóstico da FR.

Em 1944, T. Duckett Jones, após a observação de mais de 1000 pacientes com FR aguda, propôs um conjunto de critérios para auxiliar no diagnóstico da doença (JONES, 1944). Seus objetivos principais eram: uniformizar o diagnóstico em estudos sobre prevenção e tratamento da doença; instruir médicos e a comunidade leiga sobre o diagnóstico da FR; e, permitir coleta de dados mais acurados sobre a incidência da doença.

Passados mais de 50 anos da publicação dos critérios de Jones, estes ainda constituem a base do diagnóstico da FR. Quatro revisões dos critérios foram realizadas pela Associação Americana de Cardiologia com o

objetivo de acrescentar conhecimentos e tornar o diagnóstico da FR o mais preciso possível (SHIFFMAN, 1995). A última modificação, publicada em 1992, é a que utilizamos atualmente (quadro a seguir) (DAJANI et al., 1992).

Guia de recomendações para o diagnóstico do primeiro surto de FR (Critérios de Jones modificados, 1992)*

Manifestações Maiores

Cardite
Poliartrite
Coréia
Eritema marginado
Nódulos subcutâneos

Manifestações Menores

Achados clínicos:

- Artralgia
- Febre

Achados laboratoriais:

- Elevação das reações de fase aguda: velocidade de hemossedimentação
proteína C reativa
- Intervalo PR prolongado (eletrocardiograma)

Evidência de infecção recente pelo EBHA

Cultura de secreção da orofaringe positiva para o EBHA ou teste rápido para pesquisa do antígeno estreptocócico

Ascensão ou título elevado de anticorpos antiestreptocócicos

* Quando há evidência de infecção recente pelo EBHA, a presença de 2 manifestações maiores ou de 1 maior e 2 menores indica uma alta probabilidade de FR aguda. Os critérios de Jones não são válidos nas seguintes situações: coréia isolada, cardite indolente e surtos recorrentes de FR.

É importante ressaltar que na versão original dos Critérios de Jones não constava a exigência de uma evidência de infecção estreptocócica recente como condição necessária para o diagnóstico de FR. Tal exigência passou a fazer parte dos critérios na revisão realizada em 1965 (STOLLERMAN et al., 1965).

Apesar da FR acometer o coração como um todo, são as manifestações endocárdicas as mais características da doença. Clinicamente, a cardite reumática está sempre associada a um sopro, geralmente sistólico, em foco mitral ou aórtico. Miocardite ou pericardite isoladas, na ausência de comprometimento valvar, devem ser analisadas com cautela. Quando a miocardite manifesta-se com sinais e sintomas de insuficiência cardíaca congestiva, esta decorre de um aumento de volume significativo do ventrículo esquerdo por importante regurgitação da válvula mitral ou aórtica (DAJANI et al., 1992).

A poliartrite da FR é a mais frequente das manifestações maiores, caracteristicamente migratória, envolvendo mais comumente os joelhos, tornozelos, cotovelos e punhos. A sinovite é fulgaz (dura de 1 a 5 dias em cada articulação) ocorrendo completa remissão do quadro articular em 3 a 4 semanas, sem deixar sequelas (deformidades). O rápido controle do processo inflamatório articular com o emprego de salicilatos é característico (DAJANI et al., 1995). No Ambulatório de Reumatologia Pediátrica da UNIFESP, após o acompanhamento de 93 pacientes com diagnóstico de FR

aguda, observou-se que a artrite foi a única manifestação maior em 45% dos surtos e que em 64% esta era migratória, sendo aditiva em 36% dos casos. A duração do quadro articular variou de 2 dias a 2 meses. Apenas em 5% dos surtos a duração foi superior a 6 semanas (HILÁRIO et al., 1992).

A coréia de Sydenham, embora auto-limitada, apresenta uma série de problemas, tanto no diagnóstico como no acompanhamento evolutivo. Por ter um aparecimento tardio no curso da FR, geralmente surge isolada das outras manifestações da doença. Além disso, há uma dificuldade na confirmação de evidência de infecção recente pelo EBHA. Somados a esses fatores estão o diagnóstico diferencial com: coréia de Huntington e manifestações neurológicas do lupus eritematoso sistêmico, da doença de Wilson e das reações a drogas. Tais fatos dificultam o diagnóstico preciso. Clinicamente a coréia apresenta início insidioso, predomínio unilateral, evolução benígna e remissão 2 a 3 meses após início do quadro. No Brasil, um estudo multicêntrico envolvendo 556 crianças com FR, atendidas na UNIFESP e Faculdade de Ciências Médicas de São Paulo, a coréia foi observada em 33,6% dos casos, sendo mais frequente no sexo feminino (proporção de 2:1) e início aos 8 anos de idade (GOLDENBERG et al., 1992).

O eritema marginado e os nódulos subcutâneos são manifestações pouco comuns, porém características da FR. O eritema marginado

apresenta-se mais tipicamente como máculas róseas com bordas serpiginosas e centro pálido, mais comumente em tronco (poupando a face). É, geralmente, fulgaz e migratório, não pruriginoso ou endurecido e desaparece à digito-pressão. Os nódulos aparecem exclusivamente em pacientes com cardite grave. São firmes, indolores, não inflamatórios, móveis e localizam-se nas superfícies extensoras dos tendões dos joelhos, cotovelos e punhos ou na região occipital, sobre o processo espinhoso da coluna torácica ou lombar. Geralmente desaparecem em 1 mês (DAJANI et al., 1992).

Dentre as manifestações menores são descritos achados clínicos como artralgia mono ou poliarticular e febre alta (39^o C), ambas no início da doença e achados laboratoriais como provas de fase aguda (velocidade de hemossedimentação e proteína C reativa) elevadas e intervalo PR prolongado no eletrocardiograma. Tais manifestações são inespecíficas, acompanham outras manifestações mais características da FR e só devem ser valorizadas na presença de pelo menos uma das manifestações maiores (DAJANI et al., 1992).

A confirmação de infecção recente pelo EBHA é pré-requisito para o diagnóstico da FR. São evidências de infecção recente a cultura positiva de orofaringe e títulos de anticorpos anti-estreptocócicos elevados à sorologia. Esses métodos e suas implicações no auxílio diagnóstico da FR serão discutidos detalhadamente no item 3. *Evidência de Infecção pelo EBHA.*

2.8. Tratamento e Profilaxia

Dentre as medidas gerais indicadas no tratamento da FR, deve-se ressaltar o repouso. Recomenda-se repouso no leito para todos os pacientes durante o surto agudo. A duração do repouso depende das manifestações que o paciente apresenta. Há necessidade de uma monitorização para detecção de sinais precoces de cardite que costuma aparecer 2 a 3 semanas, após o início da doença (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Tão logo o diagnóstico de FR esteja estabelecido, um tratamento antimicrobiano para erradicação do EBHA deve ser introduzido (profilaxia primária), antes do início da profilaxia a longo prazo (profilaxia secundária). A penicilina é o antibiótico de escolha. Pode-se optar pela dose única intramuscular de penicilina benzatina de 600.000 ou 1.200.000 unidades ou 125 a 250 mg (200 a 400.000 unidades) de penicilina 2 vezes ao dia, por 10 dias. Em casos de alergia à penicilina, a eritromicina oral deve ser introduzida, na dose de 20 a 40 mg/kg, 2 vezes ao dia, por 10 dias (DAJANI et al., 1995).

Analgésicos estão indicados no controle da artralgia. Na presença de artrite, recomenda-se a introdução de salicilatos na dose de 100 mg/kg/dia (não excedendo a 6 g diárias) nas primeiras 2 semanas, com subsequente redução da dose para 75 mg/kg/dia, por mais 4 a 6 semanas.

Uma resposta rápida aos salicilatos é característica da FR e auxilia na confirmação do diagnóstico (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

Em casos de cardite, especialmente na presença de cardiomegalia, salicilatos em doses habituais são insuficientes para o controle da febre, mal estar geral e taquicardia. Nesses casos, os corticosteróides estão indicados. Recomenda-se a introdução de prednisona, na dose de 2 mg/kg/dia, nas 2 primeiras semanas e subsequente redução gradual da dose em 2 semanas. Durante a redução da prednisona, os salicilatos devem ser introduzidos na dose de 75 mg/kg/dia, por um período de 6 semanas (COMBINED RHEUMATIC FEVER STUDY GROUP, 1965). Casos mais graves de cardite, cursando com sinais de insuficiência cardíaca, podem necessitar da adição de diuréticos seguidos de cardiotônicos (digitálicos) para o controle das manifestações clínicas (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

O tratamento da coréia inclui medidas gerais como interrupção das atividades escolares e orientação para que o paciente seja colocado num ambiente calmo, em casa. Repouso no leito só está indicado para casos graves. Sedativos como o fenobarbital na dose de 16 a 32 mg 3 a 4 vezes ao dia, podem ajudar no início do quadro. Se não houver resposta, está indicada a introdução de haloperidol na dose de 0,01 a 0,03 mg/kg/dia ou de clorpromazina na dose de 0,5 mg/kg 4 a 6 vezes ao dia (TARANTA & MARKOWITZ, 1989).

A profilaxia primária da FR visa erradicar o EBHA durante o surto agudo e a profilaxia secundária visa prevenir a colonização ou infecção do trato respiratório superior pelo EBHA, em indivíduos que já apresentaram anteriormente surto de FR. A penicilina benzatina é a droga de escolha para a profilaxia. Quanto à duração da profilaxia, para FR com cardite e lesão valvar persistente, recomenda-se um mínimo de 10 anos após o último episódio, às vezes, para o resto da vida; para FR com cardite mas sem lesão valvar permanente, preconiza-se 10 anos ou até os 21 anos de idade e, finalmente, para FR sem cardite, recomenda-se 5 anos ou até os 21 anos de idade. Quanto à periodicidade da administração de penicilina benzatina, a recomendação é de a cada 4 semanas, em países com baixa incidência de FR e, a cada 3 semanas, em situações de alto risco ou em países com alta incidência da doença (DAJANI et al., 1995). DÉCOURT (1989), baseado em estudos sobre níveis séricos de penicilina benzatina durante a profilaxia da FR, concluiu que a periodicidade da profilaxia deve ser quinzenal, pelo menos nos 2 primeiros anos após o surto agudo.

3. Evidência de infecção pelo EBHA

Para a aplicação dos critérios de Jones é necessária uma evidência de infecção pelo EBHA. A cultura de secreção da orofaringe e a sorologia para a detecção de anticorpos anti-estreptocócicos são os métodos laboratoriais de escolha para a confirmação diagnóstica de uma infecção estreptocócica aguda ou recente (DAJANI et al., 1992).

3.1. Cultura de secreção da orofaringe

A cultura de orofaringe é considerada o método padrão ouro (“gold standard”) para o diagnóstico de infecção pelo EBHA (DOBSON, 1989). O método consiste em colher material da orofaringe usando uma haste flexível, estéril, algodoadada na extremidade (“swab”), cultivar o material em ágar-sangue e identificar as colônias bacterianas por provas bioquímicas ou sorológicas. A importância do diagnóstico está em prevenir o surto de FR em indivíduos susceptíveis. O tratamento da infecção causada pelo EBHA até 10 dias após o início dos sintomas, evita complicações tardias como a FR (CATANZARO et al., 1954).

Apenas um terço dos pacientes com queixas compatíveis com amigdalite irão apresentar cultura positiva para o EBHA (GLEZEN et al., 1967). A cultura de secreção da orofaringe apresenta uma positividade baixa na FR (em torno de 25%). Isto ocorre porque o tempo médio de latência entre uma infecção de orofaringe pelo EBHA e o desenvolvimento da FR é de 18 dias, portanto, quando os primeiros sinais e sintomas da FR surgem, a infecção de orofaringe já se encontra resolvida, não sendo possível detectar o agente no local da infecção (WANNAMAKER, 1970b). Ainda vale ressaltar que 20% das crianças são portadoras saudáveis do EBHA na orofaringe. O papel dos portadores saudáveis na disseminação da infecção e aumento do risco de FR é controverso, pois as cepas encontradas na orofaringe desses indivíduos, nem sempre são do tipo reumatogênicas e,

mesmo que sejam, há uma probabilidade menor de disseminação bacteriana na ausência de quadro infeccioso agudo (DOBSON, 1989).

A realização da cultura de secreção de orofaringe é de grande valia para guiar o diagnóstico de infecção pelo EBHA, evitando tratar desnecessariamente indivíduos com infecções virais, cujo o quadro clínico pode ser idêntico ao de um indivíduo com infecção por EBHA. Além disso, o exame é de fácil realização e acessível em termos de custo. PICHICHERO e colaboradores (1992a) descreveram a vasta discussão em torno da validade e custo-efetividade de se realizar cultura de orofaringe em todos os indivíduos com quadro clínico de amigdalite, versus tratar todos os indivíduos sintomáticos com penicilina mesmo desconhecendo o diagnóstico etiológico de cada caso, em particular. Os autores concluíram que tratar todos os indivíduos com amigdalite com penicilina implica em custo desnecessário a 90% ou mais dos pacientes, além dos riscos, apesar de baixos, de toxicidade com o tratamento, portanto, a cultura continua sendo recomendada antes de iniciar o tratamento com penicilina, nos casos de amigdalite.

A ocorrência de resultados falso-positivos na cultura de orofaringe ocorre, na maioria das vezes, por erro na identificação da bactéria. Para reduzir tais ocorrências, utiliza-se o teste de sensibilidade à bacitracina que fornece o diagnóstico presuntivo do EBHA. Quase 100% dos EBHA apresentam uma zona de inibição ao redor do disco contendo 0,04 unidades

de bacitracina, enquanto que 83 a 97% dos estreptococos não-hemolíticos não apresentam tal zona de inibição (MURRAY et al., 1976). Mais recentemente, foram desenvolvidas reações para a identificação do EBHA que fornecem o diagnóstico de certeza da bactéria. A primeira técnica descrita utiliza a aglutinação de partículas de látex sensibilizadas com estreptolisina O. Subsequentemente, foram descritas técnicas de imunofluorescência direta utilizando material da orofaringe. Com relação aos resultados falso-negativos, há estudos que mostraram que 3,6 a 17% das crianças com amigdalite sintomática produzem anticorpos contra o EBHA, apesar de cultura negativa (MOFFETT et al., 1964; KROBER et al., 1985). Para explicar a ocorrência de falso-negativos, três possibilidades foram apontadas: erro técnico na coleta de material para a cultura, uso de antibióticos antes da coleta do material e problemas metodológicos na bacteriologia (MARCY, 1991).

Mais recentemente, foram desenvolvidos métodos de detecção do antígeno diretamente na orofaringe através de “swabs”, permitindo o rápido diagnóstico de infecção causada pelo EBHA. O método mais utilizado é o imunoenzimático (enzima imuno ensaio - ELISA). A principal vantagem desses métodos é a rapidez do diagnóstico que pode ser obtido em 10 a 15 minutos enquanto que, na cultura convencional, é necessário um período de incubação de 18 a 24 horas e 24 a 48 horas para a emissão do resultado final. Estudos comparando o desempenho das técnicas para a detecção direta do antígeno com a cultura convencional mostraram resultados

controversos (WEGNER et al., 1992; PICHICHERO et al., 1992b; POKORSKI et al., 1994). A maioria dos estudos mostrou uma especificidade de aproximadamente 90%, mas sensibilidade variando entre 50 e 86%. Isto significa que um resultado positivo praticamente confirma o diagnóstico enquanto que, um resultado negativo não afasta a possibilidade de infecção pelo EBHA, exigindo uma confirmação através da cultura convencional (KAPLAN, 1988).

Apesar da pesquisa do antígeno (seja através da cultura convencional ou das técnicas de detecção direta) ser de grande valia no diagnóstico da infecção aguda pelo EBHA, um resultado negativo não afasta uma infecção recente por esse agente. Nesses casos, recorre-se a testes sorológicos para a pesquisa de anticorpos que muito auxiliam no diagnóstico da infecção estreptocócica aguda e complicações tardias e suas recorrências, como é o caso da FR.

3.2. Sorologia

3.2.1. Histórico

Em 1932, Todd verificou que a estreptolisina O, obtida de filtrados de estreptococos hemolíticos, comportava-se como antígeno e poderia ser utilizada para titular anticorpos anti-estreptolisina O (ASLO) no soro de animais normais ou imunizados (TODD, 1932). Assim, surgiu o primeiro teste sorológico para a pesquisa de anticorpos contra a hemolisina O, o produto extracelular mais antigênico do estreptococo. Este teste permitiu o

diagnóstico de infecção recente pelo EBHA, mesmo em infecções subclínicas. HODGE & SWIFT (1933) realizaram a primeira modificação da técnica original de Todd. Em seguida, RANTZ & RANDALL (1945) padronizaram a técnica de neutralização clássica que é utilizada até hoje e considerada o padrão ouro (“gold standard”) na detecção dos anticorpos ASLO.

3.2.2. Neutralização

A estreptolisina O tem a propriedade de lisar hemácias. A reação clássica de neutralização baseia-se na inibição dessa propriedade, provocada por anticorpos específicos. Sendo assim, os anticorpos ASLO, quando presentes no soro de pacientes, bloqueiam (ou neutralizam) a ação da estreptolisina O, impedindo que a mesma, ao entrar em contacto com hemácias, provoque hemólise. Na ausência de anticorpos ASLO, a estreptolisina O, em contacto com hemácias, fica livre para promover a lise das mesmas.

A técnica original de neutralização para a detecção de anticorpos ASLO sofreu modificação, na medida em que observou-se que algumas substâncias não anticórpicas, presentes no soro, eram capazes de inibir a lise das hemácias. Tais inibidores inespecíficos encontram-se nas alfa₂ e beta-lipoproteínas do soro (WAHL et al., 1958; CABAU & BADIN, 1965; DÉCOURT et al., 1968). Hoje, a retirada dos inibidores inespecíficos do soro é pré-requisito para a interpretação dos títulos de anticorpos ASLO

obtidos pela técnica de neutralização. Os níveis de anticorpos detectados pela reação de neutralização são fornecidos em Unidades Todd (UT).

A técnica de neutralização, apesar de relativamente simples em termos de aparelhagem necessária para a sua realização, é bastante trabalhosa e dispendiosa. Sendo assim, foram desenvolvidas técnicas mais simples e eficientes para a detecção de anticorpos ASLO. Entre elas podemos citar a aglutinação com partículas de látex e a nefelometria.

3.2.3. Aglutinação

Na reação de aglutinação, partículas de látex são recobertas por hemácias de carneiro sensibilizadas com estreptolisina O. Essa técnica foi proposta por alguns investigadores (MIHALCU & MITRICĂ, 1965; BACH et al., 1969; FAVARA et al., 1972) como alternativa à reação clássica de neutralização (RANTZ & RANDALL, 1945). As principais vantagens dessa técnica são a rapidez e facilidade de execução, o custo baixo e a possibilidade de trabalhar com soros totais, não sendo necessária a retirada dos inibidores da estreptolisina O, como acontece na técnica clássica de neutralização (INGRAM & HUGHES, 1972).

A técnica de aglutinação com partículas de látex, quando comparada à da neutralização clássica, demonstrou uma

sensibilidade/especificidade similares e reprodutibilidade satisfatória (BACH et al., 1969; KLEIN et al., 1970; PRAKASH et al., 1985; UNGUREANU & MIHALCU, 1987; CURTIS et al., 1988; GERBER et al., 1990; HAZARIKA et al., 1991). Os títulos de anticorpos ASLO pela técnica de aglutinação com partículas de látex são expressos em unidades internacionais (UI) sendo que 1 UI corresponde a 1,04 UT (SPAUN et al., 1961). Sendo assim, o título superior de normalidade da reação de aglutinação com partículas de látex deve ser bastante próximo ao obtido pela técnica de neutralização.

3.2.4. Nefelometria

A nefelometria é uma técnica automatizada que possibilita a determinação rápida de proteínas séricas específicas através da reação de imuno-precipitação (STERNBERG, 1977). Mais recentemente, o método foi adaptado para a medida quantitativa de títulos de anticorpos ASLO, sendo que os resultados obtidos por esse método são comparáveis aos obtidos com os métodos convencionais (MARTELLI et al., 1985; BRAGA et al., 1992). PACIFICO et al. (1995) testou soro de pacientes com história recente de estreptococcia e também de indivíduos controles (sem história sugestiva de estreptococcia nos 3 meses que antecederam a entrada no estudo e com cultura negativa para EBHA) pelos métodos de nefelometria e hemolítico convencional. O coeficiente de correlação calculado, quando os resultados obtidos pelos 2 métodos foram comparados, foi de 0,88 ($p < 0,001$).

Além de apresentar uma boa correlação com os métodos convencionais, o método nefelométrico para detecção de anticorpos ASLO apresenta as seguintes vantagens: rapidez, exclusão da variabilidade inter e intra-observadores, custos acessíveis e possibilidade de manuseio de várias amostras simultaneamente (PACIFICO et al., 1995).

3.2.5. Interpretação dos títulos de anticorpos ASLO

Para a interpretação dos títulos de anticorpos ASLO é importante conhecer a curva de resposta imunológica dos indivíduos na vigência de uma infecção pelo EBHA e o comportamento dos títulos obtidos no soro desses pacientes. Após infecção pelo EBHA, os títulos de anticorpos ASLO iniciam sua elevação no soro em 2 semanas e atingem um pico máximo de ascensão em 4 a 6 semanas, retornando aos níveis basais (anteriores ao estímulo antigênico) em 3 a 6 meses (WOOD & McCARTY, 1954).

A resposta natural dos indivíduos, produção de anticorpos ASLO após exposição ao EBHA e consequente elevação dos títulos na sorologia, pode ser modificada pela administração de drogas. HAHN et al. (1951), observaram que os corticosteróides (em dose imunossupressora) podem retardar o desenvolvimento dos anticorpos enquanto que, KILBOURNE & LOGE (1948) demonstraram que a administração de penicilina pode reduzir a capacidade de resposta do indivíduo ao EBHA, levando a uma produção diminuída de anticorpos ASLO.

O título superior de normalidade dos anticorpos ASLO varia de acordo com a idade e região geográfica (condições sócio-econômicas), não sendo possível estabelecer um valor universal (DÉCOURT, 1969).

Com relação a faixa etária, alguns estudos na literatura tentaram determinar os valores dos títulos de anticorpos ASLO, de acordo com a idade do indivíduo. KUSAMA et al. (1962) verificaram que neonatos apresentam níveis de anticorpos ASLO de 100 a 160 UT, similares aos níveis maternos, demonstrando a passagem transplacentária desses anticorpos. AGUZZI et al. (1988) relata que indivíduos entre 6 meses e 2 anos apresentam títulos de anticorpos ASLO não detectáveis. Com a maturação do sistema imune e exposição ao EBHA, os anticorpos ASLO vão sendo produzidos, atingindo valores mais elevados na idade escolar. WANNAMAKER & AYOUB (1960) observaram que 80% das crianças “normais” em idade escolar (entre 6 e 12 anos) apresentam títulos de ASLO iguais ou inferiores a 333 UT. Em adolescentes, descrevem que, títulos superiores a 200 UT são raros e devem ser considerados anormais. Esses autores afirmam existir uma correlação estreita entre o título de anticorpo ASLO, o grau de exposição ao EBHA e a incidência de FR na idade escolar.

Com relação às diferentes regiões geográficas, a literatura apresenta uma grande quantidade de estudos que foram realizados com o objetivo de determinar o limite superior de normalidade para a população em estudo (BREESE & GRAY, 1951; RANTZ et al., 1952; SAINT-MARTIN,

1957; HSIOH-TEH & HUA-CH'ENG, 1958; BÖSZÖRMÉNYI, 1961; POTTER & LORBER, 1961; KUSUMA et al., 1962; MUÑOZ et al., 1969; SANDOVAL & LEÓN, 1970; KLEIN et al., 1971; BANCHEREAU et al., 1981; CASAS et al., 1981; FUJIKAWA & OHKUNI, 1983; ROBLES et al., 1995; MHALU & MATRE, 1995). O limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO observado nos vários estudos acima relacionados variou muito. É importante ressaltar que, além da diversidade geográfica, os estudos não foram uniformes quanto a faixa etária das populações estudadas.

No Brasil, DÉCOURT (1958), em um levantamento epidemiológico realizado em São Paulo, observou títulos superiores a 250 U/ml em soro de 90% dos pacientes com FR de qualquer idade e títulos superiores a 500 U/ml em 68% destes. PEREIRA et al. (1982) estudando a resposta sorológica à estreptolisina em escolares, de 6 a 14 anos que frequentavam uma escola pública de periferia na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, observaram que indivíduos sem faringite e com cultura positiva para EBHA (portadores sadios do EBHA) apresentavam títulos de anticorpos ASLO superiores aos indivíduos sem faringite e com cultura negativa para o EBHA. Os autores chamam a atenção para o grande número de portadores sadios em nosso meio e discutem a valorização do título de ASLO para esses indivíduos.

Na presente revisão da literatura não foi encontrado nenhum estudo para determinar o limite superior de normalidade dos títulos de anticorpos

ASLO em nosso meio. No Brasil, o título superior de normalidade utilizado foi determinado em indivíduos “normais” americanos (200 UI). Apesar do título superior de normalidade não ser sinônimo de valor de corte (“cut-off”) do teste, tal prática induz erros na interpretação dos resultados do ASLO e conseqüentemente no diagnóstico da FR, uma vez que o ASLO é o teste sorológico de escolha para investigar infecção recente pelo EBHA - requisito para a aplicação dos critérios de Jones e diagnóstico de FR.

II - OBJETIVO

- ◆ Determinar o limite superior de normalidade dos títulos de anticorpos ASLO em indivíduos sadios, na faixa etária de 2 a 17 anos, residentes na cidade de São Paulo-SP, Brasil.

III - MATERIAL E MÉTODOS

1. Casuística

Foram estudados 485 indivíduos, selecionados consecutivamente entre aqueles que compareceram ao ambulatório de Pediatria da Universidade Federal de São Paulo/Escola Paulista de Medicina - UNIFESP-EPM e alunos regularmente matriculados no Colégio da Polícia Militar de São Paulo-SP, no período de outubro/1991 a dezembro/1992.

Os critérios de inclusão para a seleção dos indivíduos foram:

- idade entre 2 e 17 anos
- ausência de antecedentes pessoais, sinais/sintomas clínicos de amigdalite, ou infecção estreptocócica de outra localidade, nos 6 meses anteriores a entrevista de seleção
- cultura da secreção de orofaringe negativa para EBHA

Foram excluídos os indivíduos com:

- história clínica de FR ou GNDA
- uso de antibióticos nos 2 meses que antecederam a entrevista de seleção

Foram ainda excluídos os indivíduos que não completaram o estudo (2 visitas, com intervalo de 1 mês entre elas).

Tais critérios foram criados com o objetivo de selecionar apenas os indivíduos que definimos como *normais* ou *sadios* para o contexto desse estudo. Doenças crônicas, tais como: hipertensão arterial sistêmica,

endocrinopatias (incluindo a diabetes mellitus), cardiopatias não-reumáticas, mal formações ou encefalopatias/neuropatias, entre outras não relacionadas à FR ou outra estreptococcia, não foram consideradas critério de exclusão.

O projeto desse estudo, bem como o formulário de consentimento, foram submetidos e aprovados pela Comissão de Ética Médica da UNIFESP-EPM, antes do início da seleção dos indivíduos. A todos os representantes legais (pai, mãe ou tutor oficial) dos indivíduos selecionados foi apresentado um formulário de consentimento explicando de forma detalhada os objetivos e forma de participação do indivíduo no estudo (ANEXO 1) e solicitada a assinatura, permitindo a coleta de material (sangue e secreção de orofaringe, em duas ocasiões).

Todos os indivíduos foram entrevistados e examinados pelo mesmo examinador (MRQ) e os dados foram anotados num protocolo (ANEXO 2). Após a entrevista inicial e assinatura do formulário de consentimento, os indivíduos eram submetidos à coleta de secreção da orofaringe e de 5 ml de sangue, em 2 ocasiões, com intervalo de um mês entre elas. Dos 485 indivíduos inicialmente selecionados, 379 tiveram seus dados computados na análise. Os 105 restantes foram excluídos pelos seguintes motivos: 16 por terem apresentado cultura positiva para EBHA (na primeira ou segunda coleta) e 89 por não terem retornado para a segunda coleta.

2. Métodos

2.1. Cultura da secreção da orofaringe

Foi colhida e imediatamente processada a secreção da orofaringe de todos os indivíduos, nas 2 visitas. A coleta foi realizada usando uma haste flexível, algodoadada nas extremidades (“swab”), estéril e embalada individualmente. O material era colhido e o “swab” mergulhado em um caldo nutritivo. O orifício do tubo de ensaio contendo o caldo nutritivo foi flambado antes de receber o “swab” e logo antes de ser fechado com algodão esterilizado. O material assim colhido e acondicionado foi enviado para o setor de microbiologia do Laboratório Central do Hospital São Paulo, onde as culturas foram processadas e os resultados fornecidos para serem incorporados na análise do presente estudo.

2.2. Coleta de sangue

A coleta de amostras de sangue dos indivíduos participantes desse estudo foi realizada em 2 ocasiões, com intervalo de um mês entre elas. Para tanto, utilizou-se tubos secos com agulha descartável (*vacutainer*, Becton Dickinson). Após a coleta, cada amostra de sangue foi centrifugada a 3000 rpm para a separação do soro (sobrenadante). Esse foi alíquotado (no mínimo 4 alíquotas de cada amostra colhida) em tubos de ensaio secos, previamente identificados e tampados com tampas de borracha. Os soros assim acondicionados foram armazenados em freezer a - 20^o C, para posterior análise.

2.3. Reação de neutralização

Entre as 758 amostras de soro dos 379 indivíduos (obtidas das coletas feitas nas duas ocasiões, previamente descritas), 242, correspondentes a 121 indivíduos escolhidos ao acaso, foram submetidas à reação de neutralização, considerada o padrão ouro (“gold standard”) para a detecção de anticorpos ASLO. A reação de neutralização foi realizada baseada na técnica descrita por RANTZ & RANDALL (1948) e modificada para execução em placa de microtitulação (FERRIERI, 1986).

A microtitulação em placa foi desenvolvida para facilitar a realização de grandes volumes de exames na rotina laboratorial, com economia de reagentes. As modificações da técnica original de neutralização em tubo (RANTZ & RANDALL, 1945), para a realização da microtécnica em placa, referem-se, principalmente, à escala de diluição e, conseqüentemente, ajuste na concentração de estreptolisina para o novo volume e equivalência da leitura, expressa em UT, para as novas diluições.

A escala de diluição utilizada na técnica em tubo é logarítmica, contendo valores intermediários, o que torna a execução da rotina em placa impraticável, uma vez que, nessa técnica, as diluições são realizadas utilizando-se microdiluidores semi-automáticos. Assim, ao invés das clássicas diluições 1:12,5; 1:25; 1:50; 1:100; 1:125; 1:166; 1:250; 1:333; 1:500; 1:625; 1:833 e assim por diante, passou-se a utilizar 2 escalas na técnica de microtitulação em placa, empregando-se a razão 2 de diluição, conforme será detalhado durante a descrição da técnica propriamente dita.

A mesma estreptolisina utilizada na técnica de neutralização em tubo, com sua potência ajustada segundo o padrão internacional (“International Standard”) (SPAUN et al., 1961), é empregada na técnica de microtitulação em placa. Portanto, a quantidade de unidades de estreptolisina, ajustada ao volume de soro e hemácias de carneiro utilizados, é proporcional à utilizada na técnica em tubo.

Assim, seguindo rigorosamente as modificações mencionadas acima, realizamos a microtécnica conforme descreveremos a seguir. Os soros foram inativados por 30 minutos, a 56⁰ C. A 0,2 ml dos mesmos, acrescentou-se 1,8 ml de cloreto de cálcio a 0,025 M e 0,05 ml de heparina (5000 UI/ml), para a remoção das betalipoproteínas. Após incubação por 2 horas à temperatura de 4⁰ C, foram centrifugados por 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante, assim obtido, correspondeu à diluição de 1:10 do soro.

Todas as diluições, a partir dessa etapa, foram feitas com tampão trietanolamina - TEA, preparado conforme descrição a seguir. Juntou-se 28 ml de trietanolamina, 90 ml de ácido clorídrico, 75 g de cloreto de sódio, 10 ml de cloreto de magnésio a 10%, 10 ml de cloreto de cálcio a 2% a 1 litro de água destilada. Diluiu-se 100 ml dessa solução em 1 litro de água destilada com gelatina 0,05% e o pH foi ajustado para 7,2.

A partir da diluição 1:10 do soro, previamente descrita, foram feitas as diluições 1:30 e 1:43. Nos primeiros orifícios da placa de microtitulação, foram colocados, lado a lado, 50 µl das diluições 1:30 e 1:43 e nos demais

orifícios, 25 µl do tampão TEA. Uma série de diluições do soro, a partir de 1:30 e de 1:43, em TEA, pH 7,2, foram realizadas, de tal forma que, as diluições finais, dispostas em paralelo na placa, resultassem em:

1:60	1:85
1:120	1:170
1:240	1:340
1:480	1:680
1:960	1:1360
1:1920	1:2720
1:3840	1:5440
1:7680	1:10880

Subsequentemente, foram adicionados, a cada orifício com os soros diluídos, 25 µl de estreptolisina O, ativada pela cisteína, incubando-se a placa por 15 minutos, em incubadora a 37⁰ C. A cada orifício da placa foram acrescentados 25µl de suspensão de hemácias de carneiro a 2% e a placa incubada por 45 minutos, em incubadora a 37⁰ C. Finalmente, procedeu-se à leitura. Os títulos de anticorpos ASLO, expressos em UT, correspondem à recíproca da maior diluição do soro ainda capaz de neutralizar a estreptolisina O, visualizada pela ausência de hemólise na reação (aspecto de botão).

A tablita utilizada para a leitura dos nossos resultados foi criada a partir de um estudo não publicado, realizado há muitos anos atrás no Laboratório Fleury, São Paulo-SP, para estabelecer a correspondência entre as diluições utilizadas em placa e a concentração de anti-estreptolisina,

expressas em UT. Esse estudo foi realizado conforme será descrito a seguir.

Soros previamente titulados em tubo, com suas respectivas concentrações expressas em UT, foram testados em placa. O intervalo entre as diluições da placa onde ocorria hemólise era anotado. Por exemplo, se um soro com 100 UT, pela técnica em tubo, fosse testado pela técnica de microtitulação em placa e hemólise fosse observada a partir da diluição 1:125, concluía-se que o título era superior a diluição 1:85 e inferior a de 1:120, portanto, por equivalência, a diluição de 1:85 seria aproximadamente correspondente a 100 UT. O mesmo procedimento foi realizado utilizando-se soros com títulos diversos e a correspondência entre diluições e UT para a técnica de microtitulação em placa foi estabelecida. A seguir, a tablita de leitura assim criada:

Tablita de correspondência entre as diluições utilizadas na técnica de microtitulação em placa e o título de anticorpos ASLO, expressos em UT.

1:60 =	50 UT	1:85 =	100 UT
1:120 =	125 UT	1:170 =	166 UT
1:240 =	250 UT	1:340 =	333 UT
1:480 =	500 UT	1:680 =	625 UT
1:960 =	833 UT	1:1360 =	1250 UT
1:1920 =	2500 UT	1:2720 =	3000 UT
1:3840 =	4000 UT	1:5440 =	6000 UT

A leitura dos resultados da reação de neutralização nesse estudo foi, assim, realizada. Para cada indivíduo foram obtidos 2 valores, correspondentes à análise do material colhido nas 2 ocasiões, com um intervalo de um mês entre elas.

2.4. Reação de aglutinação com partículas de látex

Para a determinação do limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO realizamos a reação de aglutinação em lâmina de partículas de látex sensibilizadas pela estreptolisina O, utilizando um *kit* comercial ASO *SLIDEX* (bioMérieux/BIOLAB). Todos os testes foram feitos em duplicata e a leitura realizada por dois examinadores, de forma independente.

As diluições foram feitas utilizando-se solução salina tamponada com fosfatos (PBS) - solução de cloreto de sódio 0,14 M contendo tampão fosfato 0,01 M, pH 7,2. A reação de aglutinação foi executada da seguinte forma:

1. numa lâmina de fundo escuro, demarcada, eram colocados 10 μ l do soro diluído e 10 μ l do reagente de látex, lado a lado
2. o soro era misturado ao reagente com uma espátula
3. a lâmina era homogenizada com movimentos suaves de rotação por 2 minutos
4. a leitura era realizada imediatamente pelos 2 observadores e os resultados anotados em locais separados

É importante ressaltar que o tempo da reação foi observado criteriosamente, pois a demora na leitura poderia implicar em resultados falso-positivos.

Com o objetivo de economizar material e tempo, um teste de triagem foi realizado em todos os soros na diluição de 1:20 (10 μ l do soro puro + 0,20 ml de PBS). Os soros que não apresentaram aglutinação foram

considerados com títulos < 20 UI, uma vez que o teste não tem poder de detecção de títulos inferiores a esse valor. Quando a aglutinação estava presente na diluição 1:20, a partir desta, era feita uma série de diluições na razão 2: 1:40, 1:80, 1:160, 1:320, 1:640 e assim por diante. Os soros eram então testados com o reagente de látex, nessas várias diluições, uma a uma, até aquela onde a aglutinação não pudesse mais ser evidenciada.

O título de anticorpos ASLO, expressos em UI, correspondem à recíproca da maior diluição do soro capaz de aglutinar, de modo visível, as partículas de látex, na reação. Por exemplo, se um soro apresentasse aglutinação até a diluição de 1:80 e na diluição de 1:160 não ocorresse aglutinação, o título de anticorpos ASLO nesse soro seria igual a 80 UI. Os possíveis resultados encontrados com a reação de aglutinação em UI foram, portanto, < 20, 20, 40, 80, 160, 320, 640, 1280 e assim por diante.

Realizamos a detecção de anticorpos ASLO pelas 2 técnicas acima descritas, com o objetivo de comparar os resultados obtidos pelas mesmas. Verificou-se que a equivalência dos títulos de anticorpos ASLO fornecidos pela reação de aglutinação e neutralização era: 1 UI = 1,04 UT. Como os valores são muito próximos, convencionou-se considerá-los iguais para fins de análise.

2.5. Métodos estatísticos

Para a análise dos dados demográficos foi utilizada estatística descritiva (média e desvio padrão para as variáveis contínuas e frequência para as variáveis categóricas).

Para determinar o limite superior de normalidade dos títulos de anticorpos ASLO, o método estatístico de ordenação e distribuição em percentis foi computado, sendo o percentil 97,5 adotado como o limite superior de normalidade. A escolha do percentil baseou-se na curva de Gauss. Só nos interessava o limite superior, ou seja, títulos que estivessem a direita da curva. O percentil escolhido correspondeu a títulos obtidos em 97,5% da população de indivíduos normais ou sadios, no contexto desse estudo. Consideramos que os 2,5% dos títulos que estivessem na extrema direita da curva de Gauss, não deveriam ser computados como normais pois poderiam ter ocorrido por acaso.

Análise de variância (ANOVA) foi computada para determinar: 1) se houve diferenças significantes entre os observadores que realizaram a leitura da reação de aglutinação e entre as 2 amostras do mesmo paciente colhidas com um mês de intervalo; e 2) para estimar os componentes de variância utilizados no cálculo do coeficiente de correlação intra-classes. Um valor igual ou inferior a 0,05 ($\alpha \leq 5\%$) foi considerado como o nível requerido para ter significância estatística.

A reprodutibilidade inter-observadores e intra-indivíduos (soro do mesmo indivíduo colhido em 2 ocasiões) foi determinada calculando-se o coeficiente de correlação intra-classes.

Para a comparação dos resultados obtidos nas reações de aglutinação e neutralização, o coeficiente de correlação de Spearman foi calculado.

IV - RESULTADOS

Um total de 484 indivíduos foram selecionados para o presente estudo. Desses, 16 (3,3%) apresentaram cultura de secreção de orofaringe positiva para EBHA e 89 (18,4%) indivíduos não compareceram para a segunda visita, apesar de várias tentativas para contactá-los (telegrama, telefonemas, etc). Sendo assim, esses 105 (21,7%) indivíduos, inicialmente selecionados, foram excluídos da análise. Os dados demográficos dos 379 indivíduos estão apresentados na tabela 1.

Tabela 1 - Dados demográficos dos 379 indivíduos que participaram do estudo.

IDADE	VARIAÇÃO	2 a 17 anos
	MÉDIA	7,7 anos
	DESVIO PADRÃO	3,9 anos
SEXO	FEMININO	48,3 %
	MASCULINO	51,7 %
FREQUENTANDO A ESCOLA OU CRECHE	SIM	71,0%
	NÃO	29,0%
No. INDIVÍDUOS DIVIDINDO O MESMO DORMITÓRIO	ATÉ 2	63,5%
	> 2	36,5%

Como é possível observar, a distribuição dos indivíduos quanto ao sexo foi semelhante. A média de idade da amostra aproxima-se do pico de início da FR. Quanto aos fatores que poderiam contribuir para uma maior exposição ao EBHA, 71% dos indivíduos da amostra frequentavam escola ou creche e 36,5% dividiam o dormitório com um número superior a 2 indivíduos.

A maior exposição dos indivíduos ao EBHA ocorre em idade escolar, sendo o pico de incidência entre 6 e 10 anos. Sendo assim, para possibilitar a visualização da distribuição dos indivíduos da nossa amostra, segundo a faixa etária (pré-escolar = 2 a 5 anos; escolar = 6 a 10 e 11 a 17 anos), apresentamos, na tabela 2, a frequência e percentual dos 379 indivíduos agrupados por faixa etária.

Tabela 2 - Distribuição dos indivíduos quanto a faixa etária.

FAIXA ETÁRIA (anos)			FREQUÊNCIA (No. de indivíduos)	PORCENTAGEM (%)
2	-	5	128	33,7
6	-	10	150	39,6
11	-	17	101	26,7
TOTAL			379	100,0

A distribuição dos títulos de anticorpos ASLO obtidos na reação de aglutinação com partículas de látex, na primeira e na segunda coleta, está apresentada na tabela 3.

Tabela 3 - Distribuição dos títulos de anticorpos ASLO (reação de aglutinação) obtidos na primeira e segunda coletas.

TÍTULO ASLO (UI)	PRIMEIRA COLETA		SEGUNDA COLETA	
	FREQUÊNCIA	(%)	FREQUÊNCIA	(%)
< 20	108	28,5	110	29,0
20	75	19,8	49	12,9
40	62	16,4	77	20,3
80	77	20,3	74	19,5
160	41	10,8	45	11,9
320	14	3,7	21	5,5
640	2	0,5	3	0,8
TOTAL	379	100,0	379	100,0

Verificamos que o número de indivíduos que apresentou uma grande variação de título (superior a 2 razões de diluição), entre a primeira e segunda coleta, foi muito pequeno (ANEXO 3); conseqüentemente, a distribuição dos títulos de anticorpos ASLO, obtidos nas duas ocasiões, comportou-se de forma homogênea.

A distribuição dos títulos de anticorpos ASLO obtidos na reação de aglutinação, para cada faixa etária, nas 2 ocasiões, está apresentada na tabela 4.

Tabela 4 - Distribuição dos títulos de anticorpos ASLO, obtidos na reação de aglutinação, por faixa etária, nas duas ocasiões.

TÍTULO (UI)	FAIXA ETÁRIA					
	2-5 anos		6-10 anos		11-17 anos	
	1a. No. (%)	2a. No. (%)	1a. No. (%)	2a. No. (%)	1a. No. (%)	2a. No. (%)
< 20	65 (50,8)	71 (55,5)	31 (20,7)	28 (18,7)	12 (11,9)	11 (10,9)
20	26 (20,3)	13 (10,1)	27 (18,0)	20 (13,3)	22 (21,8)	16 (15,8)
40	10 (7,8)	20 (15,6)	35 (23,3)	37 (24,7)	17 (16,8)	20 (19,8)
80	21 (16,4)	13 (10,1)	27 (18,0)	30 (20,0)	29 (28,7)	31 (30,8)
160	4 (3,1)	6 (4,7)	23 (15,3)	24 (16,0)	14 (13,9)	15 (14,8)
320	2 (1,6)	4 (3,2)	6 (4,0)	9 (6,0)	6 (5,9)	8 (7,9)
640	0 (0,0)	1 (0,8)	1 (0,7)	2 (1,3)	1 (1,0)	0 (0,0)
TOTAL	128	128	150	150	101	101

Na faixa etária pré-escolar, ou seja, de 2 a 5 anos, houve um grande número de indivíduos com títulos de anticorpos ASLO mais baixos (de < 20 a 80 UI), enquanto que as faixas etárias escolares apresentaram uma concentração maior de indivíduos com títulos mais altos (de 80 a 320 UI).

No *Material e Métodos* dessa tese determinamos que o limite superior de normalidade do título de anticorpos ASLO seria o correspondente ao percentil 97,5, ou seja, aquele que incluiria 97,5% da amostra. Sendo assim, na tabela 5 apresentamos a distribuição dos títulos de anticorpos ASLO, de acordo com os percentis.

Tabela 5 - Distribuição dos títulos de anticorpos ASLO de acordo com os percentis (n = 379 soros em cada visita).

TÍTULOS DE ASLO (UI)	PERCENTIS				
	2,5	50	75	95	97,5
PRIMEIRA COLETA	< 20	40	80	160	320
SEGUNDA COLETA	< 20	40	80	320	320

Segundo esse critério adotado, para indivíduos sadios, entre 2 e 17 anos, residentes na cidade de São Paulo-SP, o limite superior de normalidade dos títulos de anticorpos ASLO pela reação de aglutinação com partículas de látex é de 320 UI.

O coeficiente intra-classes para determinar a reprodutibilidade do teste (reação de aglutinação) entre-observadores e a variabilidade ocorrida entre as 2 coletas foi calculado utilizando-se os dados obtidos na análise de variância (ANOVA). Na tabela 6 apresentamos a análise de variância e em seguida o cálculo do coeficiente intra-classes.

Tabela 6 - Análise de variância (ANOVA) utilizando os títulos de anticorpos ASLO obtidos na reação de aglutinação, nas duas ocasiões e pelos dois observadores independentes.

VARIÂNCIA	SOMATÓRIA DAS MÉDIAS	GRAUS DE LIBERDADE	QUADRADO DAS MÉDIAS
INDIVÍDUOS (i)	3388	378	8,96
TEMPO (t)	7,69	1	7,69
INDIVÍDUOS x TEMPO (i x t)	386	378	1,02
OBSERVADOR (o)	0,26	1	0,26
INDIVÍDUOS x OBSERVADORES (s x o)	22,2	378	0,058
[ERRO] (err)	11,4	378	0,030

O coeficiente intra-classes foi calculado de acordo com os métodos da teoria de generalização (CRONBACH et al, 1972; STREINER & NORMAN, 1995). A fórmula para o cálculo do coeficiente de reprodutibilidade entre-observadores foi a seguinte:

$$\text{Reprodutibilidade (entre-observadores)} = \frac{\sigma^2_i + \sigma^2_{it}}{\sigma^2_i + \sigma^2_{it} + \sigma^2_{io} + \sigma^2_o + \sigma^2_{err}} = 0,98^*$$

* p < 0,001

onde: σ^2_i = variância devida aos indivíduos
 σ^2_{it} = variância devida a uma interação entre indivíduo vs. tempo
 σ^2_{io} = variância devida a uma interação entre indivíduo e observador
 σ^2_o = variância devida aos observadores
 σ^2_{err} = variância devida a erros casuais

A semelhança do cálculo do coeficiente de reprodutibilidade entre-observadores, a reprodutibilidade do teste, ou seja, a variabilidade do teste ocorrida entre as duas ocasiões, com um mês de diferença entre as coletas,

foi computada calculando-se o coeficiente intra-classes. A fórmula para o cálculo foi a seguinte:

$$\text{Reprodutibilidade do teste} = \frac{\sigma^2_i + \sigma^2_{i_o}}{\sigma^2_i + \sigma^2_{i_o} + \sigma^2_{it} + \sigma^2_t + \sigma^2_{err}} = 0,789^*$$

* $p < 0,001$

onde: σ^2_i = variância devida aos indivíduos
 $\sigma^2_{i_o}$ = variância devida a uma interação entre indivíduo e observador
 σ^2_{it} = variância devida a uma interação entre indivíduo vs. tempo
 σ^2_t = variância devida a tempos diferentes
 σ^2_{err} = variância devida a erros casuais

O coeficiente de correlação de Spearman foi calculado utilizando os resultados obtidos com os 121 soros testados pelas técnicas de aglutinação e neutralização, nas 2 ocasiões. O coeficiente de correlação, entre as técnicas, para as amostras obtidas na primeira visita foi de 0,69 ($p < 0,05$). Para as amostras obtidas na segunda visita, obtivemos um coeficiente de correlação de 0,77 ($p < 0,05$). Os coeficientes atingiram valores satisfatórios (estatisticamente significante) para demonstrar uma boa correlação entre os resultados obtidos pelas 2 técnicas.

V - DISCUSSÃO

Para se determinar valor normal de um teste de laboratório, o processo de seleção da amostra a ser estudada assume grande importância. O objetivo é selecionar uma amostra de indivíduos, de tal forma que os resultados do estudo possam ser úteis em qualquer situação clínica, ou seja, para que a informação obtida possa ser generalizada. Dois aspectos principais podem interferir com a generalização dos resultados: a população-alvo (indivíduos que frequentam o ambulatório ou procedentes da comunidade) e a definição de “normal” ou “sadio” (critérios de seleção).

A maioria dos estudos na literatura (as referências, bem como, a descrição de cada estudo serão apresentadas no decorrer dessa discussão) que tiveram como objetivo determinar limite superior de normalidade de um teste para detecção de anticorpos ASLO selecionaram indivíduos ou da comunidade, ou de ambulatórios sediados em hospitais (nível terciário). A definição de “normal” não apresentou uma uniformidade.

O termo “normalidade” habitualmente designa as condições mais comuns ou usuais, portanto, as características normais para uma população poderiam basear-se em dados obtidos de um número suficiente de indivíduos que apresentassem estado de saúde aparentemente normal, ou seja, plena capacidade funcional, sensação de bem estar, capacidade de realizar as atividades domésticas, sociais, ocupacionais e de lazer, sem limitações (BEELER, 1968; BENSON, 1968). A Organização Mundial de Saúde define saúde como um estado de completo bem estar físico, psíquico e social (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1958). Tais definições

apresentam em comum a fácil compreensão e a dificuldade de se criar critérios de seleção para a composição de uma amostra de indivíduos “normais”.

Os critérios de inclusão e exclusão, criados para a seleção da nossa amostra, visaram definir os indivíduos “normais” ou “sadios”, no contexto desse estudo. Sendo assim, utilizamos o critério de ausência de história recente, sinais ou sintomas de infecção estreptocócica. A cultura de secreção de orofaringe negativa foi útil como evidência de ausência de infecção pelo EBHA, uma vez que o exame clínico, isoladamente, poderia introduzir falhas no processo de seleção. Desta forma, com o objetivo de permitir que os nossos resultados pudessem ser utilizados por centros primários ou até terciários de saúde, participaram do estudo indivíduos que frequentavam o ambulatório, bem como, procedentes da comunidade.

A faixa etária que adotamos baseou-se em estudos sobre epidemiologia da FR. A maioria desses estudos mostra que a FR afeta indivíduos de 5 a 15 anos (MARKOWITZ, 1987; ARGÜELLES et al., 1989; FERRIANI et al., 1996). Adotando-se uma margem de segurança, ampliamos esse espectro para 2 a 17 anos. Para a análise dos resultados, subdividimos a amostra em 3 faixas etárias mais estreitas, respeitando a idade pré-escolar (2 a 5 anos) e faixas escolares (6 a 10 anos e 11 a 17 anos). Obtivemos um número de indivíduos ligeiramente superior na faixa etária de 6 a 10 anos (39,6% da amostra) e uma porcentagem semelhante de indivíduos nas faixas de 2 a 5 anos e de 11 a 17 anos (33,7 e 26,7%,

respectivamente). A FR apresenta um pico de início da doença exatamente na faixa etária de 6 a 10 anos (TARANTA & MARKOWITZ, 1989; FERRIANI et al., 1996).

Conforme mencionado na introdução dessa tese, populações com situação sócio-econômica precária estão mais expostas ao EBHA, portanto apresentam uma maior prevalência de infecção por essa bactéria e, conseqüentemente, de complicações tardias como a FR (MARKOWITZ, 1987; ARGÜELLES et al., 1989; TARANTA & MARKOWITZ, 1989). Situações de confinamento e baixas condições de moradia são bons parâmetros para medir o grau de exposição de um indivíduo ou população ao EBHA (TARANTA & MARKOWITZ, 1989). Para documentar as condições em que viviam os indivíduos que compunham a nossa amostra, na entrevista inicial, os mesmos (ou responsável legal) eram indagados sobre o número de pessoas que dividiam o mesmo dormitório e, também, sobre frequentarem escolas ou creches (situações de confinamento). Setenta e um por cento dos componentes da nossa amostra frequentavam escola ou creche e 36,5% dividiam o dormitório com um número superior a 2 indivíduos. Essas informações refletem o grau de exposição ao EBHA e, mais uma vez, auxiliam na generalização dos nossos resultados.

BHAVE et al. (1991) realizou um levantamento epidemiológico da infecção estreptocócica em Bombaim, Índia e observaram que crianças com baixo nível sócio-econômico, frequentando escolas municipais, apresentaram uma maior incidência de infecção estreptocócica quando

comparadas às pertencentes a um nível sócio-econômico mais elevado. Os autores concluíram que o valor de 200 UI/ml, determinado para uma população de indivíduos normais americanos e utilizado como limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO na Índia, precisa ser revisto. Segundo os autores, a valorização dos títulos de anticorpos ASLO deve levar em consideração o nível sócio-econômico e a procedência (região geográfica) do indivíduo. Indivíduos “normais” procedentes de países em desenvolvimento como a Índia e vivendo em baixo nível sócio-econômico podem apresentar títulos maiores que 200 UI/ml. O significado clínico desse título irá depender do limite superior determinado para uma população “normal”, residente naquela região. ANYIWO et al. (1989), em estudo anterior realizado em Lagos, Nigéria, haviam chegado as mesmas conclusões.

PEREIRA et al. (1982) estudando uma população de 96 escolares, de 6 a 14 anos, que frequentavam uma escola pública de periferia na cidade do Rio de Janeiro, Brasil, observaram que: 3 indivíduos com faringite e cultura positiva para EBHA apresentavam um título médio de ASLO de 462 UT; em 9 indivíduos sem faringite e com cultura positiva para EBHA, o título médio de ASLO foi de 296 UT; 18 indivíduos com faringite e cultura negativa para EBHA tiveram um título médio de ASLO de 173 UT e em 41 indivíduos sem faringite e com cultura negativa para EBHA o título médio de ASLO foi de 192 UT. Os autores ressaltam a importância dos portadores sadios em nosso meio e comparam a variação de título de ASLO nos vários grupos de indivíduos, incluindo o dos portadores. O único grupo que poderia

ter o título de ASLO comparado ao limite superior de normalidade determinado em nosso estudo seria o de indivíduos sem faringite e com cultura negativa para o EBHA. Esse grupo era composto por 41 indivíduos. A reduzida amostra populacional impossibilita essa comparação.

Alguns estudos observaram uma variação sazonal no título de anticorpos ASLO. ÄKERRÉN (1952) foi um dos primeiros investigadores a estudar a influência das estações do ano no título de anticorpos ASLO numa população de indivíduos “normais”, residentes na cidade de Gothenburg, Suécia, selecionados na comunidade. Para tal, estudou todas as amostras de sangue de 2493 doadores distribuídos nos 12 meses do ano (aproximadamente 200 doadores por mês). Todos os indivíduos foram submetidos a exame físico e coleta de secreção da orofaringe para a cultura. Os autores observaram uma ascensão do título durante os meses de novembro a abril (meses frios). Os autores concluem que uma variação dos títulos de ASLO, de acordo com as condições climáticas e, conseqüentemente, maior exposição ao EBHA, deve ser considerada na interpretação de um único teste.

A reação de neutralização é considerada o padrão ouro ou “gold standard” para a detecção de anticorpos ASLO. Qualquer outra técnica desenvolvida com a mesma finalidade, além de ter que apresentar vantagens em termos técnicos (facilidade de execução, por exemplo), deve ser estudada quanto a sua validade e reprodutibilidade. Validade, nesse caso, refere-se à concordância ou correlação entre os resultados obtidos

pelas 2 técnicas (validade de critério) e reprodutibilidade, à variabilidade entre-observadores (observadores independentes) e intra-teste (soro do mesmo indivíduo testado pela mesma técnica, em ocasiões distintas).

Na literatura, os estudos que compararam as reações de neutralização (padrão ouro ou “gold standard”) e aglutinação demonstraram um elevado índice de concordância entre os resultados obtidos pelos 2 métodos, além de sensibilidade e especificidade comparáveis (91 e 86%, respectivamente) (UNGUREANU & MIHALCU, 1987; CURTIS et al., 1988; GERBER et al., 1990; HAZARIKA et al., 1991). Além disso, a reação de aglutinação é de fácil execução, rápida e pouco dispendiosa quando comparada à reação de neutralização, não sendo necessária a retirada dos inibidores inespecíficos (betalipoproteínas), etapa obrigatória e laboriosa da reação de neutralização.

Baseados nas evidências acima mencionadas, optamos por utilizar, no presente estudo, a reação de aglutinação para a detecção de anticorpos ASLO. Acreditamos que essa técnica, por sua facilidade de execução e custo acessível, pode ser utilizada pela maioria dos centros de saúde no Brasil, não dependendo de laboratórios com equipamentos mais sofisticados ou treinamento de pessoal técnico por períodos prolongados.

Com o objetivo de comparar o desempenho das reações de neutralização e aglutinação utilizadas em nosso estudo, 121 soros, escolhidos ao acaso, foram submetidos às 2 técnicas. À semelhança dos

estudos na literatura, obtivemos uma boa correlação entre os resultados obtidos pelas 2 técnicas ($r = 0,69$ para os soros colhidos na primeira visita e $r = 0,77$ para os soros, dos mesmos indivíduos, colhidos na segunda visita).

Como a leitura da técnica de aglutinação depende do observador, um treinamento mínimo da leitura é necessário. No presente estudo, a leitura foi realizada por 2 observadores independentes, devidamente treinados. A reprodutibilidade entre-observadores foi estatisticamente significativa (coeficiente intra-classes = 0,98). A reprodutibilidade do teste, ou seja, resultado da reação de aglutinação realizada com soro do mesmo indivíduo, colhido em 2 ocasiões diferentes, também foi satisfatória (coeficiente intra-classes = 0,789; $p < 0,001$). Esses resultados demonstram que, em média, os títulos de anticorpos ASLO obtidos com material colhido em 2 ocasiões distintas, comportaram-se de forma homogênea, ou seja, de uma forma geral, não apresentaram grandes discrepâncias. Essa estratégia metodológica utilizada teve como objetivo produzir evidências que contribuíssem para uma maior confiabilidade dos nossos resultados.

Numa revisão da literatura para identificar estudos que tiveram como objetivo, principal ou secundário, a determinação de títulos de anticorpos ASLO em indivíduos sadios, durante o período de 1950 a 1996, foram selecionados 15 referências (BREESE & GRAY, 1951; RANTZ et al., 1952; SAINT-MARTIN, 1957; HSIOH-TEH & HUA-CH'ENG, 1958; BÖSZÖRMÉNYI, 1961; POTTER & LORBER, 1961; KUSUMA et al., 1962; MUÑOZ et al., 1969; SANDOVAL & LEÓN, 1970; KLEIN et al., 1971;

BANCHEREAU et al., 1981; CASAS et al., 1981; FUJIKAWA & OHKUNI, 1983; ROBLES et al., 1995; MHALU & MATRE, 1995). Os artigos de revisão foram excluídos. Dentre as 15 referências selecionadas, estão estudos realizados em países desenvolvidos tais como Estados Unidos, Canadá, Japão, França e Noruega e, também, estudos realizados em países em desenvolvimento como a China, Cuba, Venezuela, México e Tanzânia. Para a seleção dos artigos, não utilizamos como critério a qualidade metodológica dos estudos. Tal critério, se utilizado, provavelmente reduziria muito o número de estudos a serem selecionados, o que não era nosso objetivo. As limitações metodológicas relevantes para essa discussão serão apontadas no decorrer da descrição dos estudos.

BREESE & GRAY (1951), com o objetivo de documentar o comportamento dos títulos de anticorpos ASLO em indivíduos “normais” e doentes, estudaram o soro de 160 crianças ditas “normais” (com sinais e sintomas diversos que, entre outras hipóteses, poderiam sugerir FR); 45 pacientes com antecedente de FR; 39 crianças com infecção estreptocócica aguda; e, finalmente, 56 pacientes com FR ativa. A detecção de anticorpos ASLO foi realizada pela técnica de neutralização. Os autores observaram títulos: ≤ 166 UT em 76,3% dos indivíduos “normais”; ≥ 100 UT em 68,9% dos indivíduos com antecedentes de FR; ≤ 500 UT em 69,2% dos indivíduos com infecção estreptocócica aguda; e, finalmente, > 500 UT em 71,4% dos indivíduos com FR ativa. O trabalho foi realizado no norte dos Estados Unidos, local onde as condições sócio-econômicas são boas mas, pelo clima frio, as condições de confinamento ocorrem, com maior

frequência, no período do inverno. A definição de “normal” diverge daquela que adotamos em nosso estudo, tornando difícil uma comparação com os resultados encontrados no presente estudo.

RANTZ et al. (1952), autores da técnica de neutralização utilizada até hoje, em estudo para determinar os títulos de anticorpos ASLO em várias doenças, incluindo a FR e em indivíduos saudáveis, testaram, pela técnica de neutralização, o soro de 243 indivíduos saudáveis, com faixas etárias variadas (32 crianças, 120 estudantes de medicina e 91 adultos acima dos 40 anos), 61 pacientes com diagnóstico de FR e 79 indivíduos com outros diagnósticos que não FR (artrite reumatóide, outras doenças auto-imunes e glomerulonefrite difusa aguda). No grupo de indivíduos saudáveis, os autores observaram, um título de 150 UT para crianças entre 5 e 7 anos, 184 UT para crianças entre 8 e 12 anos, 102 UT para estudantes de medicina, 46 UT para indivíduos entre 40 e 49 anos e 48 UT para indivíduos entre 50 e 59 anos. Nesse estudo não são citados dados sócio-econômicos da população, nem a procedência dos indivíduos (local da seleção). A única informação disponível é que o estudo foi realizado no estado da Califórnia, Estados Unidos. A carência das informações acima mencionadas, dificulta a generalização dos resultados apresentados.

SAINT-MARTIN (1957), com o objetivo de determinar o limite superior do título de anticorpo ASLO em indivíduos “normais” e compará-lo com os obtidos em doentes (com FR ativa, sequela de FR, artrite reumatóide e uma miscelânea de doenças reumáticas), testou, pela técnica

de neutralização, o soro de: 1153 indivíduos “normais”, da comunidade, entre 15 e 40 anos; 46 pacientes com FR ativa e 210 pacientes com sequela de FR (70) ou artrite reumatóide (32) ou outras doenças reumáticas (108). O autor observou que 97,8% da amostra de indivíduos “normais” apresentavam título de ASLO \leq 250 UT; 82,6% dos pacientes com FR ativa apresentavam título \geq 250 UT e 90 a 97% dos indivíduos do grupo miscelânea apresentaram título \leq 250 UT. Apesar dos indivíduos terem sido selecionados da comunidade (parte da nossa amostra foi selecionada entre os indivíduos da comunidade), 2 diferenças importantes, com relação à população-alvo que selecionamos para o nosso estudo, podem ser apontadas: condições sócio-econômicas e climáticas (estudo realizado no Canadá) e faixa etária dos indivíduos estudados (de 15 a 25 anos versus de 2 a 17 anos, em nosso estudo).

HSIOH-TEH & HUA-CH'ENG (1958) estudaram o título de ASLO no soro de uma amostra de indivíduos da população chinesa, distribuídos da seguinte forma: 142 indivíduos “normais” (sem infecção estreptocócica), 74 pacientes com FR ativa, 20 pacientes com sequela de FR, 16 pacientes com artrite reumatóide, 3 pacientes com endocardite bacteriana subaguda e 50 pacientes com escarlatina típica. Os autores observaram títulos inferiores a 250 U em indivíduos normais, com sequela de FR, com artrite reumatóide e com endocardite bacteriana subaguda, enquanto que nos pacientes com FR ativa e escarlatina, os títulos observados excederam a 400 U. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO foi a de neutralização. Os autores não citam a procedência dos indivíduos “normais”, nem dados sobre a condição sócio-

econômica dos componentes da amostra. A faixa etária estudada foi de 0 a > 30 anos, sendo que apenas 25 indivíduos “normais” estavam dentro da faixa etária que selecionamos para o nosso estudo.

BÖSZÖRMÉNYI (1961) estudou o soro de 600 doadores de sangue residentes em Budapeste, Hungria. A técnica utilizada foi a de neutralização. Mais uma vez, as condições sócio-econômicas dos componentes da amostras não foi relatada. Os indivíduos estudados tinham idades entre 18 e 71 anos e foram avaliados clínica e laboratorialmente para definir normalidade. Os critérios de inclusão e exclusão não foram explicitamente relatados. Apesar do objetivo principal do estudo não ter sido a determinação do título superior de normalidade de anticorpos ASLO, essa determinação fez parte do estudo. O autor concluiu que 250 U é o limite superior de normalidade do teste para indivíduos “sadios”, na faixa etária de 18 e 71 anos, residentes em Budapeste. A faixa etária da população desse estudo é diferente da que avaliamos, portanto, não faz sentido comparar os resultados dos 2 estudos.

POTTER & LORBER (1961) estudaram soro de crianças “normais”, em 2 grupos etários: 279 menores e 40 maiores que 5 anos de idade. Os critérios de inclusão e exclusão, bem como a procedência dos indivíduos, foram claramente descritos. O nível sócio-econômico da população estudada não foi avaliado. A única informação disponível é que a população é procedente de um país desenvolvido (Inglaterra). A técnica utilizada foi a de neutralização, com sistema de diluição modificado para o estudo

(resultados expressos em unidades/ml). Os autores concluíram que: para crianças abaixo de 2 meses de idade, os títulos são semelhantes aos maternos; de 2 meses a 2 anos de idade, a maioria dos indivíduos apresentam títulos de anticorpos ASLO não detectáveis; no grupo de 2 a 5 anos observou-se uma ascensão dos títulos e, de forma geral, o título superior de normalidade para a faixa etária de zero a 5 anos ficou abaixo de 100 U/ml. A comparação desses resultados com os obtidos em nosso estudo torna-se difícil principalmente pela diferença de faixa etária.

KUSUMA et al. (1962) com o objetivo de determinar o título de anticorpos ASLO em indivíduos de diferentes grupos etários, utilizando técnica de neutralização modificada, testaram o soro de 2810 indivíduos “normais” (sem infecção estreptocócica), distribuídos em 4 grupos etários: crianças menores que 7 anos, crianças em idade escolar, estudantes de enfermagem de 19 a 21 anos e funcionários da defesa civil entre 18 e 40 anos. Os autores observaram um título médio de: 111 U/ml nas crianças em idade escolar; 100 U/ml nas crianças de 1 a 5 anos; 117 U/ml nas crianças com 6 anos; 94 U/ml nos indivíduos entre 19 e 21 anos e 85 U/ml nos indivíduos entre 18 e 40 anos. Crianças entre 0 e 6 meses apresentaram títulos semelhantes aos maternos e de 6 meses a 1 ano, títulos inferiores a 20 U/ml. A condição sócio-econômica da população estudada não foi citada. O fato do estudo ter sido realizado no Japão, sugere um nível sócio-econômico comparável a outros países desenvolvidos. O título médio observado em crianças na idade escolar foi inferior ao observado em nosso estudo, corroborando com a hipótese da menor exposição ao EBHA em

países desenvolvidos, mesmo quando submetidos a situação de confinamento (escola).

MUÑOZ et al (1969), com o objetivo de determinar a taxa de portadores de EBHA na orofaringe e nível normal de ASLO em indivíduos entre 5 e 25 anos e com baixo nível sócio-econômico, moradores de bairros periféricos de Barquisimeto, Venezuela, selecionaram 106 indivíduos, consecutivamente e realizaram cultura da secreção de orofaringe e sorologia para detecção de anticorpos ASLO. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO não foi citada mas sugere a de neutralização. Os autores concluíram que, na dependência da presença ou ausência de EBHA na orofaringe do indivíduo, no momento da titulação, 2 valores normais (determinados pelo título médio) foram determinados: 291 e 192 U, respectivamente. Apesar das limitações metodológicas desse estudo (amostra populacional reduzida e não citação do método sorológico utilizado para a detecção de anticorpos ASLO), o nível sócio-econômico e faixa etária da população estudada são semelhantes a nossa população. Como o método sorológico utilizado não foi citado, tornou-se impossível estabelecer a equivalência entre a unidade em que os resultados foram expressos e UI. Os títulos normais foram calculados pela média e não o limite superior de normalidade. Se as unidades fossem equivalentes e fosse considerado o título superior de normalidade (percentil), os resultados desse estudo e do nosso seriam muito próximos.

SANDOVAL & LEÓN (1970) estudaram o soro de 349 indivíduos “normais”, com idades entre 14 e 73 anos, pertencentes à classe média e residentes na cidade de San Luis Potosí, México. O objetivo principal do estudo foi determinar o título médio de ASLO para essa população, pela técnica de neutralização. Os autores concluíram que o título médio de ASLO para a população estudada foi de 143 U/ml. A única informação sobre a condição sócio-econômica é que os indivíduos pertenciam à classe média. A definição de indivíduos “normais” não foi descrita no artigo. A faixa etária da população estudada foi diferente da população que estudamos. Mais uma vez, o título médio de ASLO foi adotado como normal. Em nosso estudo adotamos o percentil 97,5 como limite superior de normalidade. Essas diferenças entre as populações estudadas e metodologias empregadas impedem a comparação dos resultados obtidos nos 2 estudos.

KLEIN et al. (1971) realizaram um estudo para determinar o limite superior de normalidade de anticorpos ASLO e antideoxiribonuclease B em indivíduos “sadios” (sem história recente de infecção estreptocócica), pertencentes a vários grupos etários e residentes na cidade de Atlanta, Estados Unidos. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO foi a neutralização por microtitulação em placa. O limite superior de normalidade adotado foi o título que abrangesse 80 a 85% dos indivíduos, isto é, excedido apenas por 15 a 20% da população. Foram estudados soros de 433 crianças entre 0 e 15 anos e de 220 adultos (não sendo citadas as idades). O limite superior de normalidade determinado para cada grupo etário foi: 85 UI para crianças menores que 1 ano; 60 UI para crianças de 1

a 4 anos; 170 UI para crianças entre 5 e 8 anos; 120 UI para crianças de 13 a 15 anos e 85 UI para os adultos. A faixa etária da população estudada, a técnica para a detecção de anticorpos ASLO e a metodologia adotada para determinar o limite superior de normalidade foram, em parte, comparáveis ao nosso estudo. O maior valor encontrado (170 UI) é inferior ao limite superior determinado para a nossa amostra (320 UI). Apesar da condição sócio-econômica da população estudada não ter sido citada no artigo, o estudo foi realizado nos Estados Unidos. A diferença entre o nosso resultado e o encontrado nesse estudo talvez possa ser explicada pela diferença no grau de exposição ao EBHA a que são submetidos as 2 populações (país em desenvolvimento versus país desenvolvido).

BANCHEREAU et al (1981), com o objetivo de determinar o título superior de normalidade dos anticorpos anti-estreptocócicos ASLO, anti-deoxiribonuclease B e anti-exoproteínas, estudou o soro de 227 crianças “normais” (sem história recente de infecção estreptocócica), de 0 a 10 anos (distribuídos em 4 grupos etários) e residentes na cidade de Paris, França. Os autores adotaram como limite superior de normalidade o título que abrangesse até 80% dos indivíduos “normais”, componentes da amostra estudada. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO foi a de neutralização. Os títulos de ASLO possíveis, segundo o esquema de diluições realizado, foram: 50, 100, 200, 400, 800, 1600, 3200 U e assim por diante. Os autores concluíram que o título superior de normalidade para cada grupo etário foi: ≤ 50 U para as crianças de 0 a 6 meses e de 6 meses a 2 anos; 100 U para as crianças de 2 a 5 anos e 400 U para as crianças de

5 a 10 anos. A condição sócio-econômica da população estudada não foi citada no artigo. Também não foi citado o local de seleção (se hospital ou comunidade). A única informação disponível é que os indivíduos são procedentes de um país desenvolvido. O que se esperaria era que o título superior de normalidade fosse inferior ao que observamos em nosso estudo. Apesar do título do ASLO para os indivíduos entre 2 e 5 anos ter sido superior ao que observamos, 2 possíveis razões para esse fato podem ser apontadas: o esquema de diluição empregado não permite conhecer os títulos intermediários e o critério de normalidade aliado ao local de seleção podem ter interferido com a composição da amostra.

CASAS et al. (1981), com o objetivo de determinar o título médio de anticorpos ASLO em indivíduos “normais” e doentes, estudaram soro e secreção da orofaringe de uma população composta por 131 indivíduos (76 adultos e 55 crianças) “sadios” (segundo a definição de saúde da Organização Mundial da Saúde) e 108 indivíduos (57 adultos e 51 crianças) com diagnóstico de FR. Os indivíduos eram procedentes de centros de saúde e da comunidade (escola primária, secundária e universidade), com nível sócio-econômico homogêneo, residentes na cidade de La Habana, Cuba. Entre os indivíduos “normais”, a faixa etária variou de menos que 5 anos a mais que 40 anos e havia uma porcentagem de portadores de EBHA na orofaringe (cultura positiva). O título médio observado no grupo de adultos “sadios” foi de: 290 UT para os portadores de EBHA na orofaringe e 232 UT para os não portadores. Para as crianças “sadias” observou-se um título médio de ASLO de: 525 UT para os portadores de EBHA na orofaringe

(cultura positiva) e 382 UT para os não portadores. Parece que a situação sócio-econômica da população estudada foi semelhante à que estudamos. Cuba e Brasil são países em desenvolvimento e apresentam clima semelhante. Apesar da convenção utilizada para determinar o título normal (título médio) ter sido diferente da que adotamos (percentil 97,5), o título observado para crianças “sadias” com cultura negativa para o EBHA é comparável ao que verificamos na nossa população (320 UI).

FUJIKAWA & OHKUNI (1983) realizaram um estudo para determinar as mudanças no limite superior de normalidade de ASLO em crianças “normais” (sem infecção estreptocócica), em idade escolar (6 a 14 anos) e residentes na cidade de Toquio, Japão. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO empregada foi a da neutralização modificada (microtitulação em placa). O estudo comparou o limite superior de normalidade de ASLO (definido como o título, a partir do qual apenas 15 a 20% da população excedesse, ou seja, percentil 80 a 85), obtido em cada ano (de 1975 a 1981) e, posteriormente, uma média dos limites superiores de normalidade nos 6 anos do estudo. Os autores concluíram que o título superior de normalidade de ASLO para a população estudada foi de 250 UT (entre 160 e 320 UT). A metodologia empregada nesse estudo em muito se assemelha a que utilizamos. Para um país desenvolvido seria esperado um limite superior de normalidade de ASLO menor, porém, a faixa etária estudada compreendeu apenas crianças em idade escolar (6 a 14 anos) onde os maiores títulos normais se concentram. Como a nossa amostra foi composta por indivíduos entre 2 e 17 anos, os títulos menores observados

entre 2 e 5 anos e entre 15 e 17 anos provavelmente rebaixou o nosso limite superior de normalidade. Como o nosso objetivo principal foi determinar o limite superior de normalidade de ASLO para ser utilizado como auxílio diagnóstico na FR, selecionamos uma faixa etária que abrangesse toda a população de risco para o desenvolvimento da doença.

ROBLES et al. (1995), com o objetivo de discutir a valorização clínica da detecção de anticorpos ASLO na FR aguda no México, estudou soro de 55 indivíduos adultos, clinicamente “normais”, 27 pacientes menores e 12 maiores que 15 anos com outras cardiopatias que não a cardite reumática, 9 pacientes com FR aguda e 3 com a doença inativa. A técnica para a detecção de anticorpos ASLO foi a nefelometria. Nos pacientes com menos de 15 anos, com outras cardiopatias que não a cardite reumática, observou-se um título superior de normalidade de 354 U (quando o percentil 75 foi adotado) e 451 U (quando o percentil 90 foi adotado). Dentre as principais limitações desse estudo podem ser citadas: o reduzido tamanho da amostra estudada e a procedência dos indivíduos estudados (hospital universitário). O limite superior de normalidade de ASLO para indivíduos abaixo de 15 anos foi superior ao que determinamos. A distribuição das idades desses indivíduos não foi citada. Tal fato aliado às limitações metodológicas já citadas impede uma comparação consistente entre os resultados obtidos e o observado em nosso estudo.

MHALU & MATRE (1995) estudaram, utilizando a técnica de nefelometria, o soro de indivíduos adultos, doadores de sangue, com

sorologia negativa para HIV e com procedências distintas: 140 eram residentes da cidade de Dar es Salaam, Tanzânia e 107 eram residentes da cidade de Bergen, Noruega. O limite superior de normalidade de ASLO adotado foi definido como o título, a partir do qual apenas 15 a 20% da população excedesse, ou seja, percentil 80 a 85. Os autores observaram um limite superior de normalidade de 200 U/ml para a amostra colhida na Tanzânia e de 250 U/ml para a amostra colhida na Noruega. A condição sócio-econômica das 2 amostras populacionais não foi medida. A única informação disponível é que uma amostra foi colhida em país em desenvolvimento, com baixo nível sócio-econômico e outra em país desenvolvido, com nível sócio-econômico bem mais elevado. Comparando-se os resultados obtidos, seria esperado um limite superior de normalidade mais baixo para a população procedente de um país desenvolvido e mais elevado para a procedente de um país em desenvolvimento e não limites quase idênticos como o observado. A única possível explicação para esse fato seria a variação sazonal que interfere com a exposição ao EBHA. Em nosso estudo, observamos um limite superior de normalidade superior ao observado na Tanzânia. Reanalizando os dados fornecidos no artigo acima descrito, se o percentil 97,5 tivesse sido adotado, o título superior de normalidade para a população da Tanzânia subiria para 300 U/ml, ou seja, comparável ao título que determinamos em nossa amostra.

Reunindo as evidências que acabamos de descrever, é possível notar que não há uma uniformidade metodológica entre os vários estudos, o que dificulta uma comparação entre o limite superior de normalidade

determinado para cada população e o que observamos em nosso estudo. É importante ressaltar que, pela quantidade de estudos encontrados na literatura que tiveram como objetivo a determinação de um limite superior de normalidade de anticorpos ASLO, há uma preocupação em se determinar esse valor para que uma correta interpretação do título possa ser de auxílio como evidência de infecção estreptocócica recente. Tal interpretação tem implicações importantes no diagnóstico e acompanhamento evolutivo da FR.

Um trabalho recente desenvolvido em Goiânia, Brasil, que teve como objetivo verificar os níveis de anticorpos ASLO numa população de escolares, entre 3 e 17 anos de idade, não foi incluído nessa revisão pois não está publicado e dispunhamos apenas de um resumo apresentado no último Congresso Brasileiro de Reumatologia (FRANCESANTONIO & SILVA, 1996). O resumo apresentado não cita se foram realizadas culturas da secreção da orofaringe para definir os indivíduos normais (critério de normalidade), nem tampouco o nível sócio-econômico da população estudada. O tamanho da amostra e a faixa etária estudada são semelhantes ao presente estudo. Os resultados apresentados mostraram que 73,4% da população apresentaram títulos \leq a 320 UT. Não foi possível recalculá-los para o percentil 97,5 para, então, comparar o título assim determinado com o resultado do nosso estudo.

Quanto à convenção adotada para o limite superior de normalidade, alguns estudos consideraram o título médio e outros o percentil 80 ou 85. No presente estudo, adotamos o percentil 97,5, ou seja, os títulos que

abrangessem 97,5% da população normal estudada. Assumimos que os 2,5% de indivíduos da população normal que apresentassem títulos que ultrapassassem aqueles obtidos por 97,5% da amostra, teriam apresentado tais resultados por “acaso”, ou seja, por razões outras que não uma infecção estreptocócica recente.

É possível observar que a maioria dos estudos realizados em países desenvolvidos mostraram títulos inferiores a 320 UI (determinado no presente estudo). Um único estudo, realizado na França (BANCHEREAU et al., 1981), determinou um título superior de normalidade de 400 U para crianças entre 5 e 10 anos. Como nesse estudo, o critério de normalidade não incluiu cultura de secreção da orofaringe e o artigo não cita a estação do ano e a procedência dos indivíduos (selecionados na comunidade ou num hospital), torna-se difícil a valorização desse resultado.

Quanto aos estudos realizados em países em desenvolvimento, os resultados foram controversos: 3 obtiveram títulos inferiores a 320 U (HSIOH-TEH & HUA-CH'ENG, 1958; MUNÓZ et al., 1969; SANDOVAL & LÉON, 1970); 1 obteve resultado comparável ao obtido no presente estudo (MHALU & MATRE, 1995) e 2 obtiveram títulos superiores a 320 U (CASAS et al., 1981; ROBLES et al., 1995). As diferenças na metodologia empregada nesses estudos talvez possam explicar a divergência dos resultados.

Atualmente, grandes laboratórios de análises clínicas vêm empregando a técnica de nefelometria em suas rotinas para detecção de

anticorpos ASLO, por suas vantagens metodológicas (método automatizado), rapidez na execução de um grande número de testes, concomitantemente e inexistência de variabilidade relacionada ao observador (leitor). Sendo a técnica automatizada, a leitura é padronizada segundo a calibração do aparelho. A única desvantagem prende-se ao investimento inicial da máquina, razão qual decidimos não optar por tal técnica. Conforme mencionado anteriormente, a reação de aglutinação não depende de aparelhagem sofisticada para sua execução.

Os resultados da detecção de anticorpos ASLO obtidos pelas diferentes técnicas são expressos em diferentes unidades (UT na neutralização, UI na aglutinação e UI/ml na nefelometria, por exemplo). Tais resultados, para fins práticos, podem ser considerados equivalentes, uma vez que o fator de correção é muito próximo de 1. Sendo assim, o limite superior de normalidade que determinamos pela técnica de aglutinação (em UI), pode também ser utilizado para as outras técnicas citadas (em UT ou UI/ml).

A FR ainda é um problema de saúde pública no Brasil. Como mencionado anteriormente, para o seu diagnóstico utilizam-se os critérios de Jones. Para a aplicação de tais critérios, a evidência de infecção recente pelo EBHA é uma exigência. A sorologia para a detecção de anticorpos ASLO é, portanto, um teste de importância para o auxílio diagnóstico da FR. Sendo assim, a determinação do limite superior de normalidade dos

anticorpos ASLO guia a correta interpretação de um único título, apesar de não ser o valor de corte do teste (“cut-off”).

O resultado desse estudo pode ser generalizado para indivíduos procedentes do ambulatório ou da comunidade. O nível sócio-econômico da população foi homogêneo e, provavelmente, representativo da maioria da população de São Paulo. A técnica utilizada nesse estudo é de fácil execução e não depende de aparelhagem sofisticada. A interpretação de um único título de anticorpos ASLO deve levar em consideração a clínica do paciente e o limite superior de normalidade determinado para a população normal da qual esse paciente faz parte. Sendo assim, o título superior de normalidade determinado nesse estudo (320 UI) é uma informação importante para o clínico, pois pode ajudá-lo a decidir se o título encontrado num determinado paciente, com clínica sugestiva de FR, é esperado ou não em um indivíduo normal, pertencente a mesma população.

Devido às dificuldades de interpretação do título de anticorpos ASLO no Brasil, esse teste ficou desacreditado por muitos clínicos, na rotina diária. É também possível notar, de uma forma geral, uma inadequação na solicitação do teste. Conforme já mencionado, um título de anticorpos ASLO só tem valor diagnóstico quando associado a dados clínicos que sugiram infecção estreptocócica ou FR.

A interpretação de um único título de anticorpos ASLO foi analisada por GRAY et al. (1993). Esses autores compararam 2 métodos de

interpretação: um dicotômico (sim ou não), utilizando o título correspondente ao percentil 80 de uma população “normal” e outro utilizando um método estatístico (“likelihood ratio”) que determina a chance de um teste positivo vir de um paciente e a chance de um teste negativo vir de um indivíduo sadio. Os autores concluíram que o segundo método é mais consistente com o julgamento clínico e permite uma melhor interpretação em cada caso em particular. Para o cálculo do “likelihood ratio” há necessidade de uma amostra composta por indivíduos sadios e doentes. Como a amostra selecionada para o nosso estudo era composta apenas por indivíduos sadios, não foi possível o cálculo do “likelihood ratio”.

O limite superior de normalidade de um teste não é sinônimo de valor de corte (“cut-off”) do teste. A determinação do limite superior de normalidade diz respeito apenas à especificidade do teste (valor normal, determinado em indivíduos sadios). Para se determinar o valor de corte de um teste, além de indivíduos normais (sadios), são necessários valores obtidos de indivíduos doentes. Assim é possível o cálculo da sensibilidade e da especificidade do teste. O valor de corte (“cut-off”) é então determinado traçando-se uma curva denominada “receiver operating characteristic” (curva ROC). Tal curva é construída colocando-se na ordenada (y) de um sistema cartesiano os valores positivos obtidos de pacientes (sensibilidade) e na abscissa (x) os valores falso-positivos (1 - especificidade). O ponto de inflexão da curva corresponde ao valor de corte (“cut-off”) do teste, ou seja, aquele valor que melhor discrimina os indivíduos normais dos que estão doentes (maior sensibilidade e menor número de falso-positivos).

O objetivo do nosso estudo foi determinar o limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO. Um estudo futuro, selecionando uma amostra composta também por doentes (nesse caso, indivíduos com cultura positiva para EBHA), com coletas seriadas para o acompanhamento da ascensão do título, é necessário para se determinar o valor de corte do teste (“cut-off”) dos anticorpos ASLO.

VI - CONCLUSÃO

- ◆ O limite superior de normalidade dos títulos de anticorpos ASLO em indivíduos saudáveis, na faixa etária de 2 a 17 anos, residentes na cidade de São Paulo-SP, Brasil é de 320 UI.
- ◆ A reação de aglutinação em lâmina de partículas de látex sensibilizadas pela estreptolisina O apresentou títulos comparáveis aos obtidos com a reação de neutralização (padrão ouro ou “gold standard”) para a detecção de anticorpos ASLO.

VII. RESUMO/ABSTRACT

INTRODUÇÃO: A febre reumática (FR) ainda é um problema de saúde pública no Brasil. A detecção de anticorpos anti-estreptolisina O (ASLO) no soro dos pacientes é importante no diagnóstico e surtos de agudização da FR. Na literatura, o limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO varia de acordo com a região do mundo. As diferenças climáticas e condição sócio-econômica de cada população impedem a adoção de um limite superior de normalidade universal para anticorpos ASLO.

OBJETIVO: Determinar o limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO em indivíduos “sadios”, na faixa etária de 2 a 17 anos, residentes na cidade de São Paulo-SP, Brasil.

MÉTODO: 484 crianças (sem sinais clínicos de infecção estreptocócica), entre 2 e 17 anos, foram consecutivamente selecionadas do Ambulatório de Pediatria da UNIFESP (puericultura) e do Colégio da Polícia Militar de São Paulo (1o. e 2o. graus). Secreção da orofaringe para cultura e sangue foram colhidos em 2 ocasiões, com um intervalo de 1 mês. Indivíduos que apresentaram cultura positiva para estreptococo beta-hemolítico do grupo A (EBHA) foram excluídos. A detecção de anticorpos ASLO foi realizada pela reação de aglutinação e a leitura realizada por 2 observadores independentes. Soros (colhidos nas 2 ocasiões) de 121 indivíduos, selecionados ao acaso, foram também testados pela reação de neutralização.

RESULTADOS: 379 completaram o estudo. 16 com cultura positiva para EBHA e 89 que não retornaram para a 2a. visita, foram excluídos. A média de idade da amostra foi de 7,7 anos. 51,7% eram do sexo masculino, 71% frequentavam a escola ou creche e 36,5% dividiam o dormitório com um número superior a 2 indivíduos. O limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO, correspondente ao percentil 97,5, foi de 320 UI. Os coeficientes intra-classe para determinar a reprodutibilidade do teste (resultado da 1a. e 2a. visitas lidos pelo mesmo observador) e entre-observadores (mesmo teste lido por 2 observadores independentes) foram de 0,789 ($p < 0,001$) e 0,98 ($p < 0,001$), respectivamente. Os coeficientes de correlação entre as técnicas (validade de critério), para as amostras obtidas na 1a. e 2a. visitas foram de 0,69 ($p < 0,05$) e 0,77 ($p < 0,05$), respectivamente.

CONCLUSÃO: O limite superior de normalidade dos anticorpos ASLO para a população de São Paulo, Brasil é de 320 UI. A reação de aglutinação apresentou resultados válidos (títulos comparáveis aos obtidos com o padrão ouro, a reação de neutralização).

BACKGROUND: Rheumatic fever (RF) remains a public health problem in Brazil. The serologic detection of anti-streptolysin O antibodies (ASO) is important in RF diagnosis and disease activity. In the literature, the upper limit of ASO antibodies varies across world areas. Differences in social economic status and climatic conditions prevent the adoption of an universal upper limit for ASO antibodies.

OBJETIVE: To determine the upper limit of normal ASO antibodies in “healthy” subjects, between the ages of 2 and 17, living in the city of Sao Paulo, Brazil.

METHODS: 484 children (with no clinical signs of streptococcal infection) between the ages of 2 and 17, were consecutively selected from the pediatric preventive health care outpatient clinic of UNIFESP and also from a Military Police School (from kindergarten to high school age). Oralpharyngeal secretion for culture and blood were collected on 2 separate occasions, with an interval of 1 month. Patients presenting positive culture for group A beta-hemolytic streptococcus (GABHS) were excluded. The detection of ASO antibodies was carried out using the latex agglutination test and the result was rated by 2 independent observers. Sera (from the 2 occasions) from 121 subjects, randomly selected, were also submitted to the neutralization test.

RESULTS: 379 completed the study. 16 with positive culture for GABHS and 89 who did not returned for the 2nd visit were excluded. The mean age of the sample was of 7.7 years. 51.7% were male, 71% were in school or daycare and 36.5% sharing the same bedroom with more than 2 subjects. The upper limit of ASO antibodies, corresponding to the 97.5 percentile, was 320 IU. The intraclass correlation coefficients calculated to determine the test-retest (result from 1st and 2nd visit read by the same observer) and inter-observer reliability (same test read by 2 independent observers), were 0.789 ($p < 0.001$) and 0.98 ($p < 0.001$), respectively. The Spearman correlation coefficients to compare both techniques (criterion validity) for the 1st and 2nd visits were 0.69 ($p < 0.05$) and 0.77 ($p < 0.05$), respectively.

CONCLUSION: The upper limit of normal ASO antibodies for residents in the city of Sao Paulo, Brazil is 320 IU. The latex agglutination test presented a valid result (as compared to the gold standard, the neutralization test).

VIII - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AGUZZI, F.; REZZANI, A.; NESPOLI, L.; MONAFO, V.; BURGIO, G.R. - Anti-streptolysin O titer, fiftyfive years after Todd: a reappraisal of its clinical significance. **Boll. Ist. Sieroter. Milan.**, **67**:162-164, 1988.
- ÄKERRÉN, B. - Antistreptolysin titer of "health" blood donors. **Acta Path. Microbiol. Scand.**, **93**:415-421, 1952.
- ALOUF, J.E. - Streptococcal toxin (Streptolysin O, Streptolysin S, Erythrogenic Toxin). **Pharmacol. Ther.**, **11**:661-717, 1980.
- AMIGO, M. C.; MARTÍNEZ-LAVÍN, M.; REYES, P. A. - Acute rheumatic fever. **Rheum. Dis. Clin. N. Am.**, **19**:333-350, 1993.
- ANYIWO, C.E.; OBI, C.L.; NNAJA, N.A. - Waning significance of antistreptolysin O (ASO) titres in diagnosing streptococcal infections in Lagos, Nigeria. **East Afr. Med. J.**, **66**:636-640, 1989.
- ARGÜELLES, E.; FISZMAN, P.; FAKOURY, L. - **Febre reumática e doenças valvulares do coração**. 2.ed. Rio de Janeiro, Livraria e Editora Revinter Ltda., 1989. 691p.
- ARAÚJO FILHO, R.; SCALLA, L.; MARANHÃO, E.A.M.; CUNHA, M.C.A.; LOJA, C.; SILVA, J.A.F. - Febre Reumática. **Temas Cardiol. Ped.**, **40**:67-79, 1981.
- ATIK, F.A.; CORDTS, E.B.; CARMO, J.; SOUZA Jr, A.P. - Febre reumática. Avanços no estudo da patogênese nas últimas décadas. **Arq. Bras. Cardiol.**, **63**:311-319, 1994.
- AYOUB, E.M.; BARRET, D.J.; MACLAREN, N.K.; KRISCHER, J.P. - Association of class II human histocompatibility leukocyte antigens with rheumatic fever. **J. Clin. Invest.**, **77**:2019-2020, 1986.
- AYOUB, E.M. & KAPLAN, E. - Host-parasite interaction in the pathogenesis of rheumatic fever. **J. Rheumatol.**, **18**:6-11, 1991.
- BACH, G.L.; WIATR, R.A.; ANDERSON, T.O.; CHEATLE, E. - The Latex ASO test: a rapid screening procedure for the detection of elevated antistreptolysin O titers. **Am. J. Clin. Path.**, **52**:126-131, 1969.

- BADR-ELDIN, M.K.; RASHWAN, E.A.; BADR-ELDIN, O.M.; EI-SAWY, I.H.; TARABIA, A.M. - Chemiluminescence response of monocytes in children with acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. **Alex. J. Pediatr.**, **8**:373-379, 1994.
- BADR-ELDIN, M.K. - Solving the problem of the pathogenesis of rheumatic fever. **Ann. Trop. Paediatr.**, **16**:113-121, 1996.
- BANCHEREAU, J.; HAIMART, M.; TORLOTIN, J.C. - Évolution des titres d'anticorps antistreptococciques chez les enfants âgés de 0 à 10 ans. **Act. Pharm. Biol. Clin.**, **1**:207-209, 1981.
- BEELEER, M.F. - Establishing normal values. **Postgrad. Med.**, **43**:67-69, 1968.
- BENATAR, A.; BEATTY, D.W.; HUMAN, D.G. - Immunological abnormalities in children with acute rheumatic carditis and acute post-streptococcal glomerulonephritis. **Int. J. Cardiol.**, **21**:51-58, 1988.
- BENEDEK, T.G. - Subcutaneous nodules and the differentiation of rheumatoid arthritis from rheumatic fever. **Sem. Arthritis Rheum.**, **13**:305-321, 1984.
- BENEDEK, T.G. - History of the rheumatic diseases. In: SCHUMACHER, H.R.; KLIPELL, J.H.; KOOPMAN, W.J. - **Primer on the Rheumatic Diseases**. 10.ed. Atlanta, Arthritis Foundation, 1993 p.1-4.
- BENSON, E.S. - What is normal? **Postgrad. Med.**, **43**:229-234, 1968.
- BERKE, C.M. - Development of rapid strep test technology. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, **8**:825-828, 1989.
- BERRIOS, X.; QUESNEY, F.; MORALES, A.; BLAZQUEZ, J.; LAGOMARSINO, E.; BISNO, A.L. - Acute rheumatic fever and post-streptococcal glomerulonephritis in a open population: comparative studies of epidemiology and bacteriology. **J. Lab. Clin. Med.**, **108**:535-542, 1986.
- BESSEN, D.; JONES, K.F.; FISCHETTI, V.A. - Evidence for two distinct classes of streptococcal M-protein and their relationship to rheumatic fever. **J. Exp. Med.**, **169**:269-283, 1989.

- BHATIA, R.; NARULA, J.; REDDY, K.S.; KOICHA, M.; MALAVIYA, A.N.; POTHINENI, R.B.; TANDON, R.; BHATIA, M.L. - Lymphocyte subsets in acute rheumatic fever and rheumatic heart disease. **Clin. Cardiol.**, **12**:34-38, 1989.
- BHAVE, S.Y.; KINIKAR, A.; SANE, S.; AGARWAL, M.; AMDEKAR, Y.K. - Epidemiology streptococcal infection with reference to rheumatic fever. **Indian Ped.**, **28**:1503-1508, 1991.
- BIER, O.G. - **Microbiologia e Imunologia**. 23a. ed. São Paulo, Melhoramentos, 1984. 1234p.
- BISNO, A.L.; PEARCE, I.A.; WALL, H.P.; MOODY, M.D.; STOLLERMAN, G.H. - Contrasting epidemiology of acute rheumatic fever and acute glomerulonephritis. **N. Engl. J. Med.**, **283**:561-565, 1970.
- BISNO, A.L. - The concept of rheumatogenic and nephritogenic group A streptococci. In: READ, S.E., ZABRISKIE, J.B. (eds.) - **Streptococcal diseases and the immune response**. New York, Academic Press, 1980. p.789-803.
- BÖSZÖRMÉNYI, J. - Antistreptolysin-O titre of healthy adults in Budapest. **Acta Microbiol. Acad. Scient. Hung.**, **8**:243-252, 1961.
- BRAGA, A.; COVELLI, I.; DEL PEZZO, M.A. - Determinazione immunonefelometrica della anti-streptolisina O del siero: valutazione multicentrica di un nuovo metodo. **Biochimica Clin.**, **16**:1063-1069, 1992.
- BREESE, B.B. & GRAY, H. - Antistreptolysin titer as an aid in the diagnosis of rheumatic fever. **N.Y. State J. Med.**, **51**:389-391, 1951.
- BROKMAN, H.J.; BRILL, H.J.; FRENZELL, J. - Komplement ablenkung mit organ extrakten von rheumatiken bei sogenannten gelenk rheumatismus. **Klin. Wochenschr**, **16**:502-503, 1937.
- BRONZE, M.S. & DALE, J.B. - The reemergence of serious group A streptococcal infections and acute rheumatic fever. **Am. J. Med. Sci.**, **311**:41-54, 1996.

- CABAU, N. & BADIN, J. - Valeur du dosage de l'antistreptolysine sur sérum privé de bêta-lipoprotéines. **J. Méd. Lyon**, **48**:1299-1304, 1965.
- CALVETI, P.A. - Autoantibodies in rheumatic fever. **Proc. Soc. Exp. Biol.**, **60**:379-381, 1945.
- CASAS, A.S.; SILVA, J.L.Z.; CABRERA, M.S.; VITON, D.T. - Infección por estreptococo beta hemolítico (EBH). I. Relación entre los títulos de antistreptolisina O (AELO) y el aislamiento del microorganismo en individuos sanos y reumáticos. **Rev. Cub. Med. Trop.**, **33**:26-38, 1981.
- CATANZARO, F.J.; STETSON, C.A.; MORRIS, A.J.; CHAMOVITZ, R.; RAMMELKAMP Jr., C.H.; STOLZER, B.L.; PERRY, W.D. - The role of the streptococcus in the pathogenesis of rheumatic fever. **Am. J. Med.**, **17**:749-756, 1954.
- CHELSON, B.D.; CHRISTENEN, R.L.; SPERLING, R. - The origin of the chemiluminescence of phagocytosing granulocytes. **J. Clin. Invest.**, **58**:789-796, 1976.
- COLLIS, W.R.F. - Bacteriology of rheumatic fever. **Lancet**, **2**:817-821, 1939.
- COMBINED RHEUMATIC FEVER STUDY GROUP - A comparison of short-term intensive prednisone and acetylsalicylic acid therapy in the treatment of acute rheumatic fever. **N. Engl. J. Med.**, **272**:63-65, 1965.
- CONGENI, B.; RIZZO, C.; CONJENI, J.; SREENIVASAN, V.V. - Outbreak of acute rheumatic fever in northeast Ohio. **J. Pediatr.**, **111**:176-178, 1987.
- CRONBACH, L.J.; GLEESER, G.C.; NANDA, H.; RAJARATNAM, N. - **The dependability of behavioral measurements: theory of generalizability for scores and profiles.** New York, John Wiley & Sons, 1972 496p.
- CUNNINGHAM, M.W.; McCORMACK, J.M.; FENDERSON, P.G. - Human and murine antibodies cross-reactive with streptococcal M protein and myosine recognize the sequence GLN-LYS-SER-LYS-GLN in M protein. **J. Immunol.**, **143**:2677-2683, 1989.

CURTIS, G.D.W.; KRAAK, W.A.G.; MITCHELL, R.G. - Comparison of latex and hemolysin tests for determination of anti-streptolysin O (ASO) antibodies. **J.Clin. Pathol.**, **41**:1331-1333, 1988.

DAJANI, A.S.; SPECIAL WRITING GROUP OF THE COMMITTEE ON RHEUMATIC FEVER, ENDOCARDITIS, AND KAWASAKI DISEASE OF THE COUNCIL ON CARDIOVASCULAR DISEASE IN THE YOUNG OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION - Guidelines for the diagnosis of rheumatic fever - Jones criteria, 1992 update. **JAMA**, **268**:2069-2073, 1992.

DAJANI, A.S.; TAUBERT, K.; FERRIERI, P.; PETER, G.; SHULMAN, S; COMMITTEE ON RHEUMATIC FEVER, ENDOCARDITIS, AND KAWASAKI DISEASE OF THE COUNCIL ON CARDIOVASCULAR DISEASE IN THE YOUNG OF THE AMERICAN HEART ASSOCIATION - Treatment of acute streptococcal pharyngitis and prevention of rheumatic fever: a statement for health professionals. **Pediatrics**, **96**:758-764, 1995.

DÉCOURT, L.V. - Nuestra experiência con las pruebas de laboratorio en la enfermedad reumática. **I Symp. Internac. Fiebre Reumática**, México, Instituto Nacional de Cardiología, 1958. p.359

DÉCOURT, L.V.; CAMARGO, M.E.; KOPERSZTYCH, S. - Estudo de inibidores serológicos da estreptolisina O. I - Avaliação de sua incidência. **Arch. Bras. Cardiol.**, **21**:175-179, 1968.

DÉCOURT, L.V. - **Doença Reumática**. 1a. ed. São Paulo, Sarvier, 1969. 173p.

DÉCOURT, L.V. - Doença reumática. Profilaxia medicamentosa de recorrências. Análise de aspectos normativos. **Folha Méd.**, **98**:125-129, 1989.

DOBSON, S.R.M. - Group A streptococci revisited. **Arch. Dis. Child.**, **64**:977-980, 1989.

DUDDING, B.A. & AYOUB, E.M. - Persistence of streptococcal group A antibody in patients with valvular disease. **J. Exp. Med.**, **128**:1081-1098, 1968.

- EISSA, A.M.; KHASHABA, A.A.; EYADA, T.K. - Circulating immune complexes and complement in some Egyptian rheumatic heart subjects. **J. Arab. Child**, **1**:7-13, 1990.
- EVANS, H.B.; MERWE, P.L.; STRACHAN, A.F.; JOHNSON, D.M. - Antibodies reactive with streptococcal peptidoglycan - polysaccharide complexes in rheumatic fever, sub-acute bacterial endocarditis and tuberculosis. **Int. Arch. Allergy Appl. Immunol.**, **85**:316-321, 1988.
- ETZIONI, A.B.; LEVY, T.; GREIF, Z.; KATZ, R.; POLLACK, S. - Transient immunoregulatory perturbation during the acute phase of rheumatic fever. **J. Clin. Lab. Immunol.**, **20**:7-9, 1986.
- FALK, J.A.; FLEISCHMAN, J.L.; ZABRISKIE, J.B.; FALK, R.E. - A study of HLA antigen phenotype in rheumatic fever and rheumatic heart disease patients. **Tissue Antigens**, **3**:173-178, 1973.
- FAVARA, B.E.; HOYUM, B.; FRANCIOSI, R.A. - The antistreptolysin O latex test. **Am. J. Dis. Child.**, **123**:462-469, 1972.
- FERRIANI, V.P.L.; COMITÊ DE REUMATOLOGIA DA SOCIEDADE DE PEDIATRIA DE SÃO PAULO. - Febre reumática: características clínicas de 786 pacientes. Estudo multicêntrico. **Rev. Paul. Ped.**, **14** (supl.):12, 1996.
- FERRIERI, P. - Immune responses to Streptococcal infections. In: ROSE, N.R.; FRIEDMAN, H.; FAHEY, J.L. - **Manual of Clinical Laboratory Immunology**. 3.ed. Washington, D.C., Griedman & Fahey, 1986. p.336-341.
- FISCHETTI, V.A.; JONES, K.F.; HOLLINGSHEAD, S.K.; SCOTT, J.R. - Structure, function and genetics of streptococcal M protein. **Rev. Infect. Dis.**, **10(Suppl 2)**:S356-S359, 1988.
- FRANDESCANTONIO, P.L.C. & SILVA, N.A. - Avaliação da concentração de antiestreptolisina O em escolares de Goiânia 1990-1994. **Rev. Bras. Reumatol.**, **36**:313, 1996.
- FUJIKAWA, S. & OHKUNI, M. - Annual changes of upper limit of ASO titer in school children. **Jap. Circul. J.**, **47**:1290-1292, 1983.

- GERBER, M.A.; CAPARAS, L.S.; RANDOLPH, M.F. - Evaluation of a new latex agglutination test for detection of streptolysin O antibodies. **J. Clin. Microbiol.**, **28**:413-415, 1990.
- GIBOFSKY, KHANNA, A.; SUH, E.; ZABRISKIE, J.B. - The genetics of rheumatic fever: relationship to streptococcal infection and autoimmune disease. **J. Rheumatol. Suppl.**, **30**:1-5, 1991.
- GINSBURG, I. - Mechanisms of cell and tissue injury induced by group A streptococci: relation to post streptococcal sequelae. **J. Infect. Dis.**, **126**:294-340, 1972.
- GLEZEN, W.P.; CLYDE Jr., W.A.; SENIOR, R.J.; SHEAFFER, C.I.; DENNY, F.W. - Group A streptococci, mycoplasmas and viruses associated with acute pharyngitis. **JAMA**, **202**:455-460, 1967.
- GOLDENBERG, J.; FERRAZ, M.B.; FONSECA, A.S.M.; HILÁRIO, M.O.; BASTOS, W.; SACCHETTI, S. - Sydenham chorea: clinical and laboratory findings. Analysis of 187 cases. **Rev. Paul. Med.**, **110**:152-157, 1992.
- GOLDSTEIN, I.; HALPERN, B.; ROBERT, L. - Immunological relationship between streptococcus A polysaccharide and the structural glycoproteins of heart valve. **Nature**, **213**:44-47, 1967.
- GRAY, E.D.; ABDIN, Z.H.; KHOLY, A. - Augmentation of cytotoxic activity by mitogens in rheumatic heart disease. **J. Rheumatol.**, **15**:1672-1676, 1988.
- GRAY, G.C.; STRUEWING, J.P.; HYAMS, K.C.; ESCAMILLA, J.; TUPPONCE, A.K.; KAPLAN, E.L. - Interpreting a single antistreptolysin O test: a comparison of the "upper limit of normal" and likelihood ratio methods. **J. Clin. Epidemiol.**, **46**:1181-1185, 1993.
- GUZMAN, L. - Rheumatic fever. In: SCHUMACHER, H.R.; KLIPPELL, J.H.; KOOPMAN, W.J. - **Primer on the Rheumatic Diseases**. 10.ed. Atlanta, Arthritis Foundation, 1993 p.168-171.
- HAFEZ, M.; EI-BATTOTY, M.F.; HAWAS, S. - Evidence of inherited susceptibility of increased adherence to pharyngeal cell of children with rheumatic fever. **Br. J. Rheumatol.**, **28**:304-309, 1989.

- HAHN, E.O.; HOUSER, H.B.; RAMMELKAMP Jr., C.H.; DENNY, F.W.; WANNAMAKER, L.W. - Effect of cortisone on acute streptococcal infections and post-streptococcal complications. **J. Clin. Invest.**, **30**:274-281, 1951.
- HAZARIKA, M.; KISHORE, J.; GUPTA, U. - Comparison of latex agglutination test with the standard ASO for antistreptolysin O antibodies. **Indian J. Med. Sci.**, **45**:111-113, 1991.
- HEFELFINGER, D.C. - Resurgence of acute rheumatic fever in west Alabama. **South Med. J.**, **85**:761-765, 1992.
- HERBERT, D. & TODD, E.W. - Purification and properties of a hemolysin produced by group A hemolytic streptococci (Streptolysin O). **Biochem. J.**, **35**:1124-1139, 1941.
- HILÁRIO, M.O.E.; LEN, C.; GOLDENBERG J.; FONSECA, A.S.; FERRAZ, M.B.; NASPITZ C.K. - Febre reumática: manifestações articulares atípicas. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, **38**:214-216, 1992.
- HODGE, B.E. & SWIFT, H.F. - Varying hemolytic and constant combining capacity of streptolysin: influence on testing for antistreptolysins. **J. Exp. Med.**, **58**:277-287, 1933.
- HOSIER, D.M.; CRAENEN, J.M.; TESKE, D.W.; WHELLER, J.J. - Resurgence of acute rheumatic fever. **Am. J. Dis. Children**, **141**:730-733, 1987.
- HSIOH-TEH, C. & HUA-CH'ENG, W. - The clinical significance of serum antistreptolysin O levels. **Chin. Med. J.**, **76**:259-265, 1958.
- HUSBY, G.; Van de RIJN, I.; ZABRISKIE, J.B.; ABDIN, Z.; WILLIAMS Jr., R.C. - Antibodies reacting with cytoplasm of subthalamic and caudate nuclei neurons in chorea and acute rheumatic fever. **J. Exp. Med.**, **144**:1094-1110, 1976.
- INGRAN, G.B.P. & HUGHES, J.E.P. - A modified rapid slide test for anti-streptolysin O. **J. Clin. Pathol.**, **25**:543-544, 1972.

- JHINGHAN, B.; MEHRA, N.K.; REDDY, K.S.; TANEJA, V.; VAIDYA, M.C.; BHATIA, M.L. - HLA, blood groups and secretor status in patients with established rheumatic fever and rheumatic heart disease. **Tissue Antigens**, **27**:172-178, 1986.
- JONES, T.D. - Diagnosis of rheumatic fever. **JAMA**, **126**:481-484, 1944.
- KAPLAN, E.L. - The rapid identification of group A beta-hemolytic streptococci in the upper respiratory tract: current status. **Pediatr. Clin. North Am.**, **35**:535-542, 1988.
- KILBOURNE, E.D. & LGE, J.P. - The comparative effects of continuous and intermittent penicillin therapy on the formation of streptolysin in hemolytic streptococcal pharyngitis. **J. Clin. Invest.**, **27**:418-425, 1948.
- KLEIN, G.C.; BAKER, N.C.; MODY, M.D. - Comparison of antistreptolysin O latex screening test with the antistreptolysin O hemolytic test. **Appl. Microbiol.**, **19**:60-61, 1970.
- KLEIN, G.C.; BAKER, C.N.; JONES, W.L. - "Upper limits of normal" antistreptolysin O and antidesoxyribonuclease B titers. **Appl. Microbiol.**, **21**:999-1001, 1971.
- KROBER, M.S.; BASS, J.W.; MICHAELS, G.N. - Streptococcal pharyngitis: placebo-controlled, double-blind evaluation of clinical response to penicillin therapy. **JAMA**, **253**:1271-1274, 1985.
- KUSAMA, H.; OHASHI, M.; KOBAYASHI, S.; FUKUMI, H.; HABU, T.; SONOGUSHI, T.; SHIMIZU, T. - Immunological significance of antistreptolysin O (ASL) in streptococcal infections. Sero-epidemiological studies in various age groups. **Jpn. J. Med. Sci. Biol.**, **15**:175-187, 1962.
- LANCEFIELD, R.C. - Specific relationship of cell composition to biological activity of hemolytic streptococci. Harvey Lectures 1940-41. Baltimore, Williams & Wilkins, 1941 p.251.
- MAHARAJ, B.; HAMMOND, M.D.; APPADOO, B.; LEARY, W.P.; PUDIFIN, D.J. - HLA-A, B, DR and DQ antigens in black patients with severe chronic rheumatic heart disease. **Circulation**, **76**:259-261, 1987.

- MARCY, S.M. - Throat culture for group A beta-hemolytic streptococci: still the gold standard? **Report Pediatr. Infect. Dis.**, **4**:3-4, 1991.
- MARKOWITZ, M. - Rheumatic fever. In: VAUGHAN, V.C. & BEHRMAN, R. - **Nelson Textbook of Pediatrics**. 13.ed. Philadelphia, WB Saunders, 1987. p.539-540.
- MARKOWITZ, M. - Changing epidemiology of group A streptococcal infections. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, **13**:557-560, 1994.
- MARTELLI, P.; CROVATTO, M.; TOFFOLUTTI, M.; GRATTONI, E.; SANTINI, G. - Valutazione comparativa di tre tests per la determinazione del titolo antistreptolisínico. **Giorn. Batt. Virol. Immunol.**, **78**:34-42, 1985.
- MASON, T.; FISHER, M.; KUJALA, G. - Acute rheumatic fever in west Virginia. **Arch. Int. Med.**, **151**:133-136, 1991.
- McCARTY, M. - The immune response in rheumatic fever. In: THOMAS, L. - **Rheumatic fever**. 1. ed. Minneapolis, University of Minnesota Press, 1952 p.136.
- McCARTY, M. - The streptococcal cell wall. **Circulation**, **65**:73, 1969.
- McCLURE, E. & ARGÜELLES, E - Patologia da febre reumática. In: ARGÜELLES, E.; FISZMAN, P.; FAKOURY, L. - **Febre reumática e doenças valvulares do coração**. 2.ed. Rio de Janeiro, Livraria e Editora Revinter Ltda., 1989. p.41-64.
- MHALU, F.S. & MATRE, R. - Antistreptolysin O and antideoxyribonuclease B titres in blood donors and in patients with features of nonsuppurative sequelae of group A streptococcus infection in Tanzania. **East Afr. Med. J.**, **72**:33-36, 1995.
- MIHALCU, F. & MITRICĂ, N. - Méthodes simples pour le titrage spécifique des antistreptolysines O sur γ -globulines sériques. Leur interprétation. **Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.**, **24**:985-989, 1965.

- MILLER, L.C.; GRAY, E.D.; MANSOUR, M. - Cytokines and immunoglobulin in rheumatic heart disease: production by blood and tonsillar mononuclear cells. **J. Rheumatol.**, **16**:1436-1442, 1989.
- MOFFETT, H.L.; CRAMBLETT, G.H.; BLACK, J.P. - Group A streptococcal infections in a children's home. **Pediatrics**, **33**:5-10, 1964.
- MUÑOZ, J.; HERRERA, J.; MONTILVA, A.P. - Infeccion por estreptococo hemolitico: etiologia, tasa de portadores, niveles normales de ASO. **Bol. Ofic. Sanit. Panam.**, **67**:31-37, 1969.
- MURPHY, G.E. - The evolution of our knowledge of rheumatic fever. **Bull. Hist. Med.** **14**:123-147, 1943.
- MURPHY, G.E. - The characteristic rheumatic lesions of striated and of non-striated or smooth muscle cells of the heart. Genesis of the lesions known as Aschoff bodies and those myogenic components known as Aschoff cells or myocytes. **Medicine**, **42**:73-84, 1963.
- MURRAY, G.S.; MONTEIL, M.M.; PERSELLIN, R.H. - A study of HLA antigens in adults with acute rheumatic fever. **Arthritis Rheum.**, **21**:652-656, 1978.
- MURRAY, P.R.; WOLD, A.D.; HALL, M.M.; WASHINGTON, J.A. 2nd. - Bacitracin differentiation for presumptive identification of group A beta-hemolytic streptococci: comparison of primary and purified plate testing. **J. Pediatr.**, **89**:576-579, 1976.
- PACIFICO, L.; MANCUSO, G.; PROPERZI, E.; RAVAGNAN, G.; PASQUINO, A.M.; CHIESA, C. - Comparison of nephelometric and hemolytic techniques for determination of antistreptolysin O antibodies. **Am. J. Clin. Pathol.**, **103**:396-399, 1995.
- PATARROYO, M.E.; WINCHESTER, R.J.; VEJERANO, A.; GIBOFSKY, A.; CHALEM, F.; ZABRISKIE, J.B.; KUNKEL, H.G. - Association of a B cell alloantigen with susceptibility to rheumatic fever. **Nature**, **278**:173-174, 1979.

- PEREIRA, J.A.A.; PLOTKOWISKI, M.C.M.; SUASSUNA, A.; SUASSUNA, I.
- Faringite estreptocócica em população de escolares do Rio de Janeiro. Evidências de infecção subclínica. **Rev. Ass. Med. Brasil.**, **28**:45-48, 1982.
- PICHICHERO, M.E.; DISNEY, F.A.; GREEN, J.L.; FRANCIS, A.B.; MARSOCCI, S.M.; LYND, M.; WOOD, G.C. - Comparative reliability of clinical, and antigen detection methods for the diagnosis of group A beta-hemolytic streptococcal tonsillopharyngitis. **Pediatric Ann.**, **21**:798-805, 1992a.
- PICHICHERO, M.E. - Culture and antigen detection tests for streptococcal tonsillopharyngitis. **Am. Fam. Physician**, **45**:199-205, 1992b.
- PORTO, S.O. - Estreptococo: generalidades. **Mom. & Perspec. Saúde**, **1**:49-52, 1987.
- POKORSKI, S.J.; VETTER, E.A.; WOLLAN, P.C.; COCKERILL III, F.R. - Comparison of gen-probe group A streptococcus direct test with culture for diagnosing streptococcal pharyngitis. **J. Clin. Microbiol.**, **32**:1440-1443, 1994.
- POTTER, C.W. & LORBER, J. - Antistreptolysin levels in normal infants and young children. **J. Clin. Path.**, **14**:525-527, 1961.
- PRAKASH, K.; KAPOOR, A.K.; KHANDPUR, R. - Evaluation of Rapi Tex ASL with conventional antistreptolysin O test. **Indian J. Med. Microbiol.**, **3**:75-79, 1985.
- QUINN, R.W. - Comprehensive review morbidity and mortality trends for rheumatic fever, streptococcal disease, and scarlet fever: the decline of rheumatic fever. **Rev. Infect. Dis.**, **11**:928-953, 1989.
- RANTZ, L.A. & RANDALL, E.A. - A modification of the technic for determination of the antistrptolysin titer. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, **59**:22-25, 1945.
- RANTZ, L.A.; Di CAPRIO, J.M.; RANDALL, E. - Antistreptolysin O and antihyaluronidase titers in health and in various diseases. **Am. J. Med. Sci.**, **244**:194-200, 1952.

- READ, S.E.; REID, H.F.; FISCHETTI, V.A. - Serial studies on the cellular immune response to streptococcal antigens in acute and convalescent rheumatic fever patients in Trinidad. **J. Clin. Immunol.**, **6**:433-441, 1986.
- ROBLES, G.; ZAVALA, A.N.; REYES, P.A. - Anticuerpos contra productos extracelulares del estreptococo grupo A. Importancia diagnostica en la fiebre reumatica aguda. **Arch. Inst. Cardiol. Méx.**, **65**:115-119, 1995.
- ROTHBARD, S.; WATSON, R.F.; SWIFT, H.F.; WILSON, A.T. - Bacteriologic and immunologic studies on patients with hemolytic streptococcal infections as related to rheumatic fever. **Arch. Inter. Med.**, **82**:229-250, 1948.
- SAINT-MARTIN, M. - Antistreptolysin-O determinations in health and in disease. **Can. Med. Ass. J.**, **76**:627-633, 1957.
- SAMSONOV, M.Y.; TILZ, G.P.; PISKLAKOV, V.P.; REIBNEGGER, G.; NASSONOV, E.L.; NASSONOVA, V.A.; WACHTER, H.; FUCHS, D. - Serum-soluble receptors for tumor necrosis factor-alpha and interleukin-2 and neopterin in acute rheumatic fever. **Clin. Immunol. Immunopathol.**, **74**:31-34, 1995.
- SANDOVAL, C.G. & LEÓN, H.V. - Titulos de antiestrepolisina O (ASO) en la poblacion general de San Luis Potosi, S.L.P.. **Arch. Inst. Cardiol. Méx.**, **40**:261-270, 1970.
- SCHECHTER, D.C. - Vitus dance and rheumatic disease. **N. T. St. J. Med.**, **75**:1091-1102, 1975.
- SHIFFMAN, R.N. - Guideline maintenance and revision - 50 years of the Jones criteria for diagnosis of rheumatic fever. **Arch. Pediatr. Adolesc. Med.**, **149**:727-732, 1995.
- SIEGEL, A.C.; JOHNSON, E.E.; STOLLERMAN, G.H. - Controlled studies of streptococcal pharyngitis in pediatric population. 1. Factors related to the attack rate. **N. Engl. J. Med.**, **265**:559-566, 1961.
- SMYTHE, C.V. & HARRIS, T.N. - Hemolysin produced by group A B hemolytic streptococi. **J. Immunol.**, **38**:283-300, 1941.

- SPAGNUOLO, M. & TARANTA, A. - Rheumatic fever in siblings: similarity of its clinical manifestations. **N. Engl. J. Med.**, **278**:183-188, 1968.
- SPAUN, J.; BENTZON, M.W.; LARSEN, S.O.; HEWITT, L.F. - International standard for antistreptolysin O. **Bull. W.H.O.**, **24**:271-279, 1961.
- STERNBERG, J.C. - A rate nephelometer for measuring specific proteins by immunoprecipitation reactions. **Clin. Chem.**, **23**:1456-1464, 1977.
- STEVENS, D.L. - Invasive group A streptococcal infections: the past, present and future. **Pediatr. Infect. Dis. J.**, **13**:561-566, 1994.
- STOLLERMAN, G.H.; MARKOWITZ, M.; TARANTA, A.; WANNAMAKER, L.W.; WHITTEMORE, R. - Jones criteria (revised) for guidance in the diagnosis of rheumatic fever. **Circulation**, **32**:664-668, 1965.
- STOLLERMAN, G.H. - Nephritogenic and rheumatogenic group A streptococci. **J. Infect. Dis.**, **120**:258-263, 1969.
- STOLLERMAN, G.H. - Rheumatogenic and nephritogenic streptococci. **Circulation**, **43**:915-921, 1971.
- STOLLERMAN, G.H. - Streptococcal vaccines and global strategies for prevention of rheumatic fever. **Am. J. Med.**, **68**:636-638, 1980.
- STOLLERMAN, G.H. - Global changes in group A streptococcal diseases and strategies for their prevention. **Adv. Intern. Med.**, **27**:373, 1982.
- STOLLERMAN, G.H. - The nature of rheumatogenic streptococci. **Mt. Sinai J. Med.**, **63**:144-158, 1996.
- STREINER, D.L. & NORMAN, G.R. - Generalizability theory. In: _____ - **Health measurements scales: a practical guide to their development and use**. Oxford, UK, Oxford University Press Inc., 1995. p.128-143
- TAGG, J.R. & MacGIVEN, A.R. - Some possible autoimmune mechanisms in rheumatic carditis. **Lancet**, **2**:686-688, 1972.

- TARANTA, A. - Rheumatic fever in monozygotic and dizygotic twins. **Circulation**, **20**:778-784, 1959.
- TARANTA, A. & MARKOWITZ, M.; - **Rheumatic Fever**. 2.ed. Dordrecht, Kluwer Academic Publishers, 1989 99p.
- TELLES, W. - Considerações sobre as estreptococcias e a febre reumática. Principais aspectos do problema no Brasil. **Anais Microbiol.**, **9(b)**:291-329, 1961.
- TERRERI, M.T.R.A. & HILÁRIO, M.O.E. - Aspectos imunogenéticos da febre reumática. **Rev. Bras. Reumatol.**, **36**:391-394, 1996.
- THOMPSON, A.; HALBERT, S.P.; SMITH, U. - The toxicity of streptolysin O for beating mammalian heart cells in tissue culture. **J. Exp. Med.**, **131**:745-763, 1970.
- TODD, E.W. - Antigenic streptococcal hemolysin. **J. Exp. Med.**, **55**:267-280, 1932.
- UNGUREANU, V. & MIHALCU, F. - Screening method for detection of antistreptolysin O antibodies by latex-agglutination. **Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol.**, **46**:99-104, 1987.
- VEASEY, V.; WIEDMEIER, S.E.; ORSMOND, G.S.; RUTTENBERG, H.D.; BOUCEK, M.M.; ROTH, S.J. et al. - Resurgence of acute rheumatic fever in the intermountain area of the United States. **N. Engl. J. Med.**, **316**:421-427, 1987.
- WAHL, R.; PEREZ, J.J.; CABAU, N. - Etude du pouvoir inhibiteur des sérums humains pour la streptolysine dans les différents fractions obtenues par l'électrophorèse sur amidon. **Ann. Inst. Pasteur**, **95**:129-135, 1958.
- WALD, E.R.; DASHEFSKY, B.; FEIDT, C.; CHIPONIS, D.; BYERS, C. - Acute rheumatic fever in western Pennsylvania and the tristate area. **Pediatrics**, **80**:371-374, 1987.
- WALLACE, M.R.; GARST, P.D.; PAPADIMOS, T.J.; OLDFIELD, E.C. III - The return of acute rheumatic fever in young adults. **JAMA**, **262**:2557-2561, 1989.

- WANNAMAKER, L.W. - Serum antibodies to streptococci in rheumatic fever, glomerulonephritis and chorea. **Zbl. Bakt. I. Abt. Orig.**, **214**:331-335, 1970a.
- WANNAMAKER, L.W. - Differences between streptococcal infections of the throat and of the skin. **N. Engl. J. Med.**, **282**:23-31, 1970b.
- WANNAMAKER, L.W. & AYOUB, E.M. - Antibody titers in acute rheumatic fever. **Circulation**, **21**:598-614, 1960.
- WATSON, R.F.; HIRST, G.K.; LANCEFIELD, R.C. - Bacteriological studies of cardiac tissues obtained at autopsy from eleven patients dying with rheumatic fever. **Arthritis Rheum.**, **4**:74-85, 1961.
- WEGNER, D.L.; WITTE, D.L.; SCHRANTZ, R.D. - Insensitivity of rapid antigen detection methods and single blood agar plate culture for diagnosing streptococcal pharyngitis. **JAMA**, **267**:695-697, 1992.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - The first ten years of the World Health Organization. Geneva, **WHO**, 1958.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION - Community control of rheumatic heart disease in developing countries: a major public health problem. **WHO Chronicle**, **34**:336-348, 1980.
- WILLIAMS, R.C.; WALKER, L.C.; KASSABY, M. - Circulating immune complexes in acute rheumatic fever. **J. Clin. Lab. Immunol.**, **2**:185-190, 1979.
- WOOD, H.F. & McCARTY, M. - Laboratory aids in the diagnosis of rheumatic fever and in evaluation of disease activity. **Am. J. Med.**, **17**:768-774, 1954.
- YOSHINOYA, S. & POPE, R.M. - Detection of immune complexes in acute rheumatic fever and their relationship to HLA-B5. **J. Clin. Invest.**, **65**:136-145, 1980.
- ZABRISKIE, J.B. & FREIMER, E.H. - An immunological relationship between the group A streptococcus and mammalian muscle. **J. Exp. Med.**, **124**:661-678, 1966.

ZABRISKIE, J.B. & FRIEDMAN, J.E. - The role of heart binding antibodies in rheumatic fever. **Adv. Exp. Med. Biol.**, **161**:457-470, 1983.

ZABRISKIE, J.B.; LAVENCHY, D.; WILLIAMS, R.C. Jr.; FU, S.M.; YEADON, C.A.; FOTINO, M.; BRAUN, D.G. - Rheumatic fever-associated B cell alloantigens as identified by monoclonal antibodies. **Arthritis Rheum.**, **28**:1047-1051, 1985.

ANEXOS

ANEXO 1**Carta informativa aos pais ou responsável legal do indivíduo selecionado para participação no estudo.**

São Paulo, de de 1992

Prezados senhores pais,

A Febre Reumática é uma doença inflamatória crônica que acomete crianças entre 2 e 17 anos, afetando as juntas e, mais severamente, as válvulas do coração destes pacientes. Esta doença é uma complicação tardia de uma infecção de garganta, comum entre as crianças, causada por uma bactéria chamada *Estreptococo β Hemolítico do Grupo A de Lancefield*. As condições de higiene, clima, comportamento, genética entre outras, interferem na incidência deste tipo de infecção.

Há um teste de laboratório para o diagnóstico da infecção, feito no sangue (soro) e que se chama Anti-Estreptolisina O (ASLO). No Brasil, este teste é utilizado mas os valores normais utilizados são americanos, uma vez que não existe nenhum trabalho determinando o valor normal brasileiro. Isto pode estar errado pois a infecção pelo *Estreptococo β Hemolítico do Grupo A de Lancefield*, pelas razões anteriormente expostas, comporta-se de forma diferente nos dois países.

Com o objetivo de determinar o valor normal deste teste para a população brasileira, eu, Marina Rodrigues Quaresma, médica, CRMSP 53474, pós-graduanda da Disciplina de Reumatologia da Escola Paulista de Medicina estou realizando tese neste assunto.

Para tanto, solicito a colaboração dos senhores no sentido de autorizar a coleta de sangue (5 ml) e de secreção de orofaringe de seu(s) filho(s), contribuindo desta forma para o diagnóstico desta doença.

A coleta será realizada utilizando material descartável importado dos Estados Unidos (marca Becton Dickinson) e terá duas etapas com intervalo de 1 mês.

Certa da compreensão de V.Sas., coloco-me a disposição para maiores esclarecimentos.

Atenciosamente,

Marina Rodrigues Quaresma

ANEXO 2

PROTOCOLO - ASLO
 DISCIPLINA DE REUMATOLOGIA
 ESCOLA PAULISTA DE MEDICINA - UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO

No. : _____
 DATA : ___/___/___
 VISITA: 1 2

IDENTIFICAÇÃO

NOME: _____
 DATA DE NASCIMENTO: ___/___/___ SEXO: F M IDADE: ___anos/___meses
 ENDEREÇO: _____
 BAIRRO: _____ CEP: _____ TEL: _____
 TEL.P/ RECADOS: _____ (_____)
 PROFISSÃO: _____ ESCOLARIDADE: _____
 MÃE OU RESP.: _____
 PROFISSÃO: _____ ESCOLARIDADE: _____

CONDIÇÃO SÓCIO-ECONÔMICA:

HABITAÇÃO: INDIVIDUAL () COLETIVA* ()
 ALVENARIA () OUTRO MATERIAL ()
 No. DORMIT. () No. PESSOAS ()
 No. DE PESSOAS que dormem no mesmo quarto que o indivíduo ()

* coletiva = cortiço, favela, pensão, asilo, orfanato...

DADOS ANAMNÉSTICOS:

AMIGDALITE ÚLTIMOS 6 MESES S N QUANDO? _____
 LESÃO DE PELE ÚLTIMOS 6 MESES S N QUANDO? _____
 QUE TIPO DE LESÃO? _____
 DOENÇAS RENAIIS ÚLTIMOS 6 MESES S N QUANDO? _____
 NEFRITE? S N QUANDO? _____
 ANTIBIÓTICO (última vez que tomou) _____ QUAL? _____
 POR QUE? _____
 *Obs.: Importante pesquisar PENICILINA e CLORANFENICOL
 EXAME OROFARINGE _____
 EXAME PELE _____
 OBSERVAÇÕES _____

CULTURA DE MATERIAL DA OROFARINGE PARA PESQ. DE ESTREPTOCOCO
 BETA HEMOLITICO DO GRUPO A: POSITIVA () NEGATIVA ()

HOVE CRECIMENTO BACTERIANO? S N

BACTÉRIA IDENTIFICADA _____

TÍTULO DE ASLO: _____ UI