

## DIAGNÓSTICO SOROLÓGICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

### II — Reação de imunofluorescência com cercárias de *Schistosoma bovis* e *Cercaria caratinguensis*

J. PELLEGRINO (1) e E. BIOCCA (2)

#### RESUMO

A reação de imunofluorescência, recentemente descrita por SADUN, WILLIAMS & ANDERSON para o diagnóstico da esquistossomose, foi praticada com cercárias de *S. bovis* e *Cercaria caratinguensis* em soros de pacientes com esquistossomose mansônica e de indivíduos seguramente livres desta helmintose. Cercárias de *Schistosoma mansoni* foram usadas como controle.

Foi verificado que o comportamento da *Cercaria caratinguensis* e da cercária do *S. bovis*, na prova de imunofluorescência (método indireto), é semelhante ao da cercária do *S. mansoni*. Este achado sugere a existência de antígenos comuns às três cercárias mencionadas.

#### INTRODUÇÃO

A demonstração de reações sorológicas de grupo para as espécies de *Schistosoma* que parasitam o homem indica a existência de antígenos comuns a estes esquistossomos (cf. revisão feita por KAGAN & PELLEGRINO<sup>5</sup>). Estas reações de grupo estendem-se também ao *Schistosoma bovis*. De fato, foi verificado que extratos de *S. bovis*, quando injetados por via intradérmica em pacientes com esquistossomose, produzem resposta cutânea semelhante à observada após a injeção de antígeno homólogo (KHALIL & HASSAN<sup>6</sup>, GOLDSTEIN<sup>4</sup>, PELLEGRINO, BIOCCA & MEMORIA<sup>9</sup>). SADUN & BIOCCA<sup>12</sup> mostraram que elevada percentagem de indivíduos expostos a cercárias do *S. bovis* desenvolve uma sensibilização cutânea a extratos do *S. mansoni* e que a reação de imunofluorescência é positiva na maioria destes indivíduos. Recentemente, DÖNGES<sup>2,3</sup> refere que a reação cercariana de VOGEL & MINNING<sup>14</sup> pode ser re-

produzida com várias espécies de furcocercárias e que os resultados, pelo menos em algumas espécies, são tão satisfatórios como os obtidos com cercárias de *S. mansoni*. A existência de reações cruzadas em um grupo relativamente grande de cercárias não só tem importância do ponto de vista imunológico como também diagnóstico.

No presente trabalho serão apresentados os resultados da reação de imunofluorescência, praticada com cercárias de *S. bovis* (Son-sino, 1876) e *Cercaria caratinguensis* Ruiz, 1953, em soros de pacientes com esquistossomose e em indivíduos livres desta helmintose.

#### MATERIAL E MÉTODO

*Pacientes com esquistossomose e controles* — A reação de imunofluorescência com *Cercaria caratinguensis* foi feita com o soro de

Trabalho realizado com auxílio financeiro da Organização Mundial da Saúde (Division of Communicable Diseases, Parasitic Diseases Section, World Health Organization).

(1) Instituto Nacional de Endemias Rurais e Instituto de Biologia, Faculdade de Filosofia da Universidade de Minas Gerais, Belo Horizonte.

(2) Istituto di Parassitologia, Universidade de Roma, Itália.

36 pacientes com esquistossomose mansônica residentes em Medina, foco de alta endemicidade no norte do Estado de Minas Gerais, e com o sêro de 34 contrôles (indivíduos residentes em Florianópolis, Santa Catarina). A reação com cercárias de *S. bovis* foi feita com o sêro de 10 pacientes com esquistossomose (foco de Medina) e de 8 indivíduos seguramente livres desta helmintose. Em tôdas as amostras de sêro a reação foi também praticada com cercárias de *S. mansoni*.

*Reação de imunofluorescência* — Cercárias de *S. mansoni* e *Cercaria caratinguensis*, eliminadas por exemplares de *Australorbis glabratus* naturalmente infectados (Belo Horizonte), e cercárias de *S. bovis*, eliminadas por exemplares de *Bullinus* capturados na Sardenha, foram utilizadas no presente estudo. Ao líquido contendo as cercárias foi adicionado albumina bovina conjugada com lissamina-rodamina RB-200 (Microbiological Associates, Bethesda, Maryland) na proporção de 1:200. As cercárias foram em seguida fixadas em formol (concentração final = 10%).

A reação de imunofluorescência (método indireto) foi praticada de acôrdo com a técnica de SADUN, WILLIAMS & ANDERSON<sup>13</sup>, tendo sido a centrifugação substituída pela sedimentação espontânea das cercárias por 6 minutos (PELLEGRINO<sup>8</sup>). A diluição dos soros (1:4) e as lavagens foram feitas com

salina tamponada (tampão fosfato) 0,01M e pH 7,2. A diluição ótima da anti-gama globulina humana marcada com isotiocianato de fluoresceína (Baltimore Biological Laboratory Inc., Baltimore, Maryland) foi determinada por titulação em bloco. As preparações foram examinadas com equipamento Zeiss para fluorescência (iluminação com lâmpada de vapor de mercúrio HBO-200 e sistema de filtros adequados). Os resultados foram anotados como *negativo* (cercárias com fluorescência avermelhada), *duvidoso* (contôrno amarelo-esverdeado indistinto, não envolvendo completamente a cercária) e *positivo* (cutícula da cercária com fluorescência amarelo-esverdeada nítida).

#### RESULTADOS

Os dados obtidos acham-se resumidos no Quadro I. Apesar dos resultados das reações praticadas com *Cercaria caratinguensis* terem sido bem aproximados daqueles obtidos com cercárias de *S. mansoni*, tanto em pacientes com esquistossomose (Fig. 1) como nos contrôles, a percentagem de resultados concordantes foi de 77,8% para o grupo de indivíduos infectados e de 82,4% para o grupo contrôle. Nos pacientes com esquistossomose, em 3 casos a reação foi positiva com cercárias de *S. mansoni* e negativa com *Cercaria caratinguensis*. O inverso foi observado em um caso.

QUADRO I

Resultados da reação de imunofluorescência (método indireto), com cercárias *caratinguensis*, *bovis* e *mansoni*, praticada em soros de pacientes com esquistossomose mansônica e em indivíduos não infectados. Os números entre parênteses indicam percentagens

Cercárias	Pacientes com esquistossomose			Indivíduos sem esquistossomose		
	Positivo	Duvidoso	Negativo	Positivo	Duvidoso	Negativo
<i>Caratinguensis</i>	29 (80,6)	3 (8,3)	4 (11,1)	1 (2,9)	5 (14,7)	28 (82,4)
<i>Mansoni</i>	32 (88,9)	1 (2,8)	3 (8,3)	— (—)	6 (17,6)	28 (82,4)
<i>Bovis</i>	10 (100,0)	— (—)	— (—)	1 (12,5)	— (—)	7 (87,5)
<i>Mansoni</i>	10 (100,0)	— (—)	— (—)	— (—)	— (—)	8 (100,0)

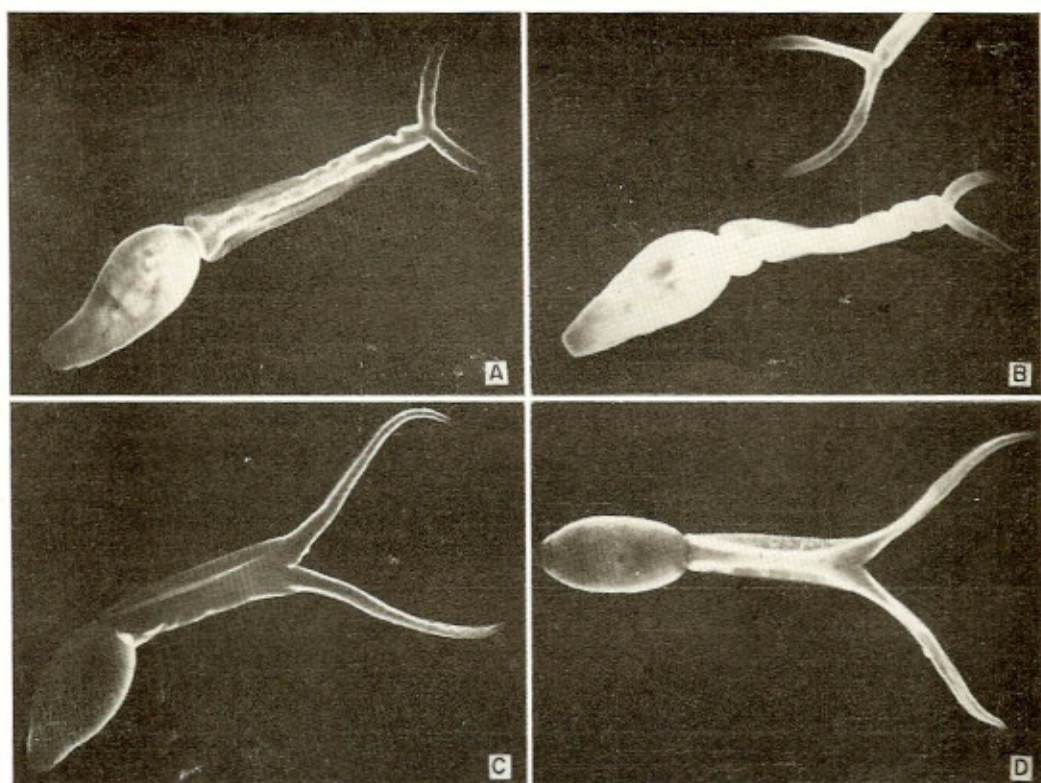


Fig. 1 — Reação de imunofluorescência positiva em soro de paciente com esquistossomose mansônica ativa. A e B — Cercárias de *S. mansoni*. C e D — *Cercaria caratinguensis*.

Embora o número de soros em que a reação de imunofluorescência foi feita com cercárias de *S. bovis* e *S. mansoni* tenha sido pequeno (10 pacientes com esquistossomose e 8 controles), em apenas um caso o resultado foi discordante (soro de indivíduo sem esquistossomose: positivo para *S. bovis* e negativo para *S. mansoni*, Quadro I).

#### DISCUSSÃO

A *Cercaria caratinguensis*, furcocercária descrita por RUIZ<sup>10</sup> em 1953, é comumente encontrada infectando *Australorbis glabratus* em Belo Horizonte. Possui faringe e se origina de esporocistos, pertencendo portanto à família *Strigeidae*. Como salientou LUTZ<sup>7</sup>, as cercárias dos *Strigeidae* penetram em animais inferiores que funcionam como hospedeiros intermediários; nunca penetram diretamente no hospedeiro definitivo. Segundo

BRUMPT<sup>1</sup> são incapazes de atravessar a pele do homem. As cercárias do *Schistosoma bovis*, parasito do boi, búfalo e carneiro, encontrado na África, Mesopotâmia e certas ilhas do Mediterrâneo (Sardenha, Córsega), atravessam o tegumento cutâneo e podem provocar, no homem, uma dermatite de fundo alérgico, muito pronunciada.

O fato de que em indivíduos expostos a cercárias do *S. bovis* a reação de imunofluorescência, com cercárias de *S. mansoni*, é positiva em elevada percentagem de casos (SADUN & BIOCCA<sup>12</sup>), já era indicativo de que esta reação imunológica deveria resultar positiva, com soro de pacientes com esquistossomose, usando-se, como antígeno, cercárias de *S. bovis*. É interessante que o mesmo achado tenha também ocorrido com a *Cercaria caratinguensis*. As verificações de DÖNGES<sup>2,3</sup> mostram igualmente que várias espécies de cercárias podem partilhar antígenos comuns.

Os autores que descreveram a reação de imunofluorescência para o diagnóstico da esquistossomose (SADUN, WILLIAMS & ANDERSON<sup>13</sup>, SADUN, ANDERSON & WILLIAMS<sup>11</sup>) emprestam-lhe grande importância na realização de levantamentos sorológicos. Entretanto, antes de uma conclusão definitiva a este respeito, seria necessário conhecer o comportamento desta prova imunológica em indivíduos expostos a diferentes espécies de cercárias, aliás muito numerosas e de extensa distribuição geográfica, capazes de penetrar na pele do homem nêlo desenvolvendo uma sensibilização cutânea a antígenos cercarianos que se exterioriza como uma dermatite pruriginosa conhecida como "water itch" ou "swimmer's itch".

#### SUMMARY

*Serologic diagnosis of schistosomiasis mansoni. II. Immunofluorescence test with cercariae of Schistosoma bovis and Cercaria caratinguensis.*

The immunofluorescence test, recently described by SADUN, WILLIAMS & ANDERSON for the diagnosis of schistosomiasis, was performed with sera from patients with active schistosomiasis mansoni and with sera from non-infected individuals. Cercariae of *S. bovis* and *Cercaria caratinguensis* were used and the results compared with those obtained with *S. mansoni* cercariae. It was concluded that these cercariae share common antigen(s).

#### AGRADECIMENTOS

Agradecemos a colaboração do técnico Lourenço Chiari e a cooperação e estímulo do Dr. N. Ansari, da Organização Mundial da Saúde.

#### REFERÊNCIAS

1. BRUMPT, E. — Précis de parasitologie. 6<sup>a</sup> ed. 1:713. Paris, Masson.
2. DÖNGES, J. — Die Cercarien-Hüllen-Reaktion zum Nachweis einer Bilharziose-Erkrankung mit einheimischen Cercarienarten. Med. Welt 49:2639-2640, 1962.
3. DÖNGES, J. — Eine Modification der Cercarien-Hüllen-Reaktion von Vogel u. Minning

zum Nachweis einer Schistosoma-Infektion. Ztschr. f. Parasitenkunde 22:108-109, 1962.

4. GOLDSTEIN, A. C. — Dépistage rapide de la bilharziose en milieu indigène aux colonies par l'intradermo-reaction a *Schistosoma bovis*. Ann. Parasitol. hum. & comp. 21:129-137, 1946.
5. KAGAN, I. G. & PELLEGRINO, J. — A critical review of immunological methods for the diagnosis of bilharziasis. Bull. World Health Organ. 25:611-674, 1961.
6. KHALIL, M. & HASSAN, A. — A preliminary note on a new skin reaction in human schistosomiasis. J. Egypt. med. Assoc. 15: 129-130, 1932.
7. LUTZ, A. — Notas sobre Dicranocercarias brasileiras. Mem. Inst. Oswaldo Cruz 27: 349-376, 1933.
8. PELLEGRINO, J. — Diagnóstico sorológico da esquistossomose mansônica. I — Estudo comparativo entre as reações de floculação, de imunofluorescência e de fixação do complemento. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 5:140-146, 1963.
9. PELLEGRINO, J.; BIOCICA, E. & MEMORIA, J. M. P. — A reação intradérmica na esquistossomose mansônica. VII — Reações cruzadas com antígenos de *Schistosoma japonicum* e *Schistosoma bovis*. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 4:136-139, 1962.
10. RUIZ, J. M. — Contribuição ao estudo de formas larvárias de trematóides brasileiros. 5(5):261-264, setembro/outubro, 1963. rem em planorbídeos hospedeiros do *Schistosoma mansoni*. Mem. Inst. Butantan 25:77-89, 1953.
11. SADUN, E. H.; ANDERSON, R. I. & WILLIAMS, J. S. — Fluorescent antibody test for the laboratory diagnosis of schistosomiasis in humans by using dried blood smears on filter paper. Exp. Parasitol. 11: 117-120, 1961.
12. SADUN, E. H. & BIOCICA, E. — Intradermal and fluorescent antibody tests on humans exposed to *Schistosoma bovis* cercariae from Sardinia, Italy. (Em publicação).
13. SADUN, E. H.; WILLIAMS, J. S. & ANDERSON, R. I. — Fluorescent antibody technic for sero-diagnosis of schistosomiasis in humans. Proc. Soc. exper. Biol. & Med. 105: 289-291, 1960.
14. VOGEL, H. & MINNING, W. — Hüllenbildung bei Bilharzia-Cercarien in Serum bilharzia-infizierter Tiere und Menschen. Zentralbl. f. Bakt. (Abt. 1, Orig.) 153:91-105, 1949.

Recebido para publicação em 19 junho 1963.