

ANTICORPOS SÉRICOS IgA NO DIAGNÓSTICO DA FASE AGUDA DA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI HUMANA

Herminia Yohko KANAMURA*
Rita Maria SILVA**
Ana Lúcia T. RABELLO***
Roberto S. ROCHA***
Naftale KATZ***

RIALA6/717

KANAMURA, H. Y.; SILVA, R. M.; RABELLO, A. L. T.; ROCHA, R. S.; KATZ, N. — Anticorpos séricos IgA no diagnóstico da fase aguda da esquistossomose mansoni humana. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2): 101-104, 1991.

RESUMO: Anticorpos IgA e IgM contra antígenos de natureza polissacarídica, presente nas células epiteliais do tubo digestivo do *Schistosoma mansoni* foram detectados por técnica de imunofluorescência indireta, utilizando-se como substrato antigênico cortes parafinados de vermes adultos fixados em solução de Rossman. Amostras de soros de 40 pacientes esquistossomóticos, 20 na fase aguda e 20 na fase crônica, e de 40 indivíduos, não esquistossomóticos foram estudadas. Anticorpos da classe IgA foram observadas em 15 dos 20 pacientes da fase aguda e em apenas 1 da crônica. Anticorpos IgM foram detectados em 90% (36/40) dos pacientes esquistossomóticos estudados, 19 agudos e 17 crônicos. Nenhuma reação positiva foi observada entre os não esquistossomóticos incluídos neste estudo.

DESCRITORES: Esquistossomose mansônica. Diagnóstico. Anticorpos. Fase Aguda e Fase crônica.

INTRODUÇÃO

Anticorpos IgA são detectados em pacientes com esquistossomose aguda pela técnica de imunofluorescência indireta (RIF), enquanto anticorpos IgM e IgG tanto na fase aguda como na fase crônica da doença (10). Anticorpos IgA e IgM apresentam reatividade dirigida especificamente contra estruturas relacionadas ao tubo digestivo (TD) do verme adulto^{10,11}. A utilização da RIF de cortes de vermes incluídos em parafina^{2,17,19} mostrou ser a pesquisa de anticorpos da classe IgM contra antígeno polissacarídico de TD, mais sensível e específica do que a pesquisa de anticorpos IgG, para fins diagnósticos das fases aguda e crônica da esquistossomose mansoni.

Na fase aguda, anticorpos IgM anti-TD apare-

cem em níveis mais elevados do que na fase crônica^{10,11}; entretanto, a diferenciação entre fases aguda e crônica baseada em anticorpos IgM TD específicos é pouco prática e pouco eficiente.

No presente trabalho, avalia-se a utilidade diagnóstica dos anticorpos séricos IgA e IgM contra TD e da técnica de RIF com cortes parafinados de vermes adultos do *Schistosoma mansoni*, na diferenciação das fases aguda e crônica da esquistossomose humana.

MATERIAL E MÉTODOS

Soros — Foram obtidas amostras de soros de 20 pacientes, do sexo masculino, idade entre 18 e 19 anos, na fase aguda da esquistossomose mansônica¹. Todos os pacientes apresentavam

* Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

** Instituto Adolfo Lutz-Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo.

*** Centro de Pesquisa "Renê Rachou" - FIOCRUZ.

ovos de *S. mansoni* nas fezes pelo método de Kato/Katz (mínimo: 6, máximo: 462, média 127 ovos por grama de fezes — ogf). Foram estudados também soros de 20 pacientes do sexo masculino, entre 18 e 19 anos, na fase crônica da esquistossomose, forma intestinal, eliminando ovos de *S. mansoni* nas fezes (mínimo: 4, máximo: 944, média 154 ogf).

Foram ainda incluídos no estudo amostras de soros de 40 pacientes com exames de fezes negativos para *S. mansoni* sendo 20 de indivíduos clínica e laboratorialmente normais e 20 de indivíduos com outras afecções como: Ascaridíase¹⁰, Ancilostomíase⁵, protozooses intestinais⁵.

Antígeno — Vermes adultos de *S. mansoni* foram fixados em solução fixadora de Rossman por 2 horas à temperatura ambiente e após desidratação, por metodologia convencional em meio de etanol absoluto e xilol, incluídos em Paraplast (MONOJECT CIENTIFICO, Div, Sherwood Medial, St. Louis, MO, USA), de acordo com técnica já descrita^{15,17}. As lâminas com os cortes de vermes parafinados foram desparafinizadas e reidratadas de forma convencional em banhos sucessivos de xilol e de etanol em diferentes concentrações (96,70,50 e 30%), sendo o último banho em água destilada. As lâminas assim preparadas foram armazenadas à temperatura ambiente até o momento do uso.

Reação de imunofluorescência (RIF) — A RIF, utilizando como substrato antigênico cortes de vermes adultos parafinados foi realizada segundo metodologia já descrita^{2,17}.

Conjugados fluoresceinados comerciais anti IgM humana (Biolab Merieux, Rio de Janeiro, Brasil)

e anti-IgA humana (Hyland Div. Travenol Lab., USA) mono-específicos para as cadeias pesadas, respectivamente μ e α , foram utilizados diluídos em solução de azul de Evans a 2 mg% em solução salina tamponada com fosfatos 0,01 M, pH 7,2 (SSTF), de acordo com seus títulos ótimos de uso, previamente determinados por titulação em bloco com soros padrão positivo e negativo.

Os soros de pacientes foram diluídos em SSTF a 1/10, para detecção de anticorpos IgA, e 1/20, para IgM^{10,11}.

A leitura das lâminas de RIF foi feita em estudo cego, em microscópios de imunofluorescência com sistema de epi-iluminação.

Foram consideradas como positivas as RIF com presença de fluorescência de cor verde maçã apenas nas estruturas relacionadas ao tubo digestivo do verme^{10,17}; fluorescência a nível de membrana ou de parênquima foram consideradas como inespecíficas e não válidas como positivas para fins diagnósticos da esquistossomose.

RESULTADOS

Os resultados quanto à positividade da reação de imunofluorescência (RIF), para anticorpos IgA e IgM, nos 40 pacientes esquistossomóticos, classificados de acordo com a fase clínica, aguda ou crônica, estão apresentados na Tabela 1. O único paciente em fase aguda que não apresentou anticorpos IgM foi também negativo para IgA.

Não foi observada reatividade de IgM ou IgA nos soros dos 40 indivíduos não esquistossomóticos incluídos neste estudo.

TABELA 1

Positividade da RIF em cortes de vermes parafinados em soros de pacientes com forma aguda e crônica de esquistossomose de acordo com a classe de imunoglobulina do anticorpo.

FORMA CLÍNICA	Nº PACIENTES	RIF			
		IgA		IgM	
		Nº	%	Nº	%
Aguda	20	15	75%	19	95%
Crônica	20	1	5%	17	85%
Total	40	16	40%	36	90%

DISCUSSÃO

A pesquisa de anticorpos da classe IgA contra estruturas antigênicas do epitélio intestinal do *S. mansoni*, como já anteriormente observado pela RIF em cortes de vermes congelados^{10,11} proporciona um instrumento importante capaz de discriminar entre esquistossomose aguda e crônica.

A possibilidade de detectar esses anticorpos através de cortes de vermes parafinados torna a RIF

um teste prático e de interpretação fácil, sendo possível armazenar as lâminas em temperatura ambiente por período de pelo menos três meses, o que viabiliza a realização dos testes por centros de pesquisa que não mantêm o ciclo do parasita. O fixador de Rossman utilizado na preparação dos vermes preserva a antigenicidade das estruturas relacionadas ao tubo digestivo e reduz ou elimina a antigenicidade de outras partes do verme^{2,17}.

Várias preparações antigênicas e testes soroló-

gicos têm sido avaliados na tentativa de se obter metodologia sorológica útil capaz de diferenciar a fase aguda da crônica na esquistossomose^{3,4,6,9,14}. A utilização de antígenos de cercárias comparativamente ao de verme adulto pelas técnicas de ELISA, RHA e RIF^{7,11,13} mostrou que a reatividade contra antígeno cercariano era mais evidente na fase aguda do que na crônica, ocorrendo o inverso com antígenos de verme adulto. Níveis de anticorpos IgM são mais elevados nas fases iniciais da esquistossomose^{10,14}. Entretanto, a determinação dos níveis de anticorpos é pouco prática e não permite a distinção entre infecção aguda e crônica, devido às variações individuais que ocorrem na indução da resposta imune^{12,15,18}.

É possível a diferenciação entre esquistossomose aguda e crônica pela determinação de anticorpos IgG e IgM contra o KLH (Keyhole limpet hemocyanin), hemocianina do molusco marinho *Me-*

gathura crenulata, que apresenta epitopos semelhantes aos de superfície do esquistossomulo⁸. Esses anticorpos estão presentes apenas na fase aguda da esquistossomose¹⁴.

Os resultados apresentados neste trabalho mostram que a RIF em cortes de vermes parafinados constitui teste útil no diagnóstico da esquistossomose pela determinação de IgM e no diagnóstico diferencial da fase aguda, através da pesquisa de anticorpos da classe IgA.

AGRADECIMENTOS

Às pesquisadoras científicas Maria Ivani P.G. Silva e Sylvia A.G. Velloso e à técnica Eliane T. Garcia pela colaboração na manutenção do ciclo e obtenção de antígenos do *S. mansoni* e à Sra. Sueli Providelo pela parte datilográfica.

RIALA6/717

KANAMURA, H.Y.; SILVA, R.M.; RABELLO, A.L.T.; ROCHA, R.S.; KATZ, N. — IgA antibodies in the diagnosis of acute schistosomiasis mansoni. Rev. Inst. Adolfo Lutz, 51 (1/2): 101-104, 1991.

ABSTRACT: Specific IgA and IgM antibodies to a polysaccharide antigen present in the epithelial cells of the schistosome gut were measured by an indirect immunofluorescence technique, using paraffin sections of adult worms fixed in Rossman's fixative. Sera from 40 schistosomiasis patients, 20 acute and 20 with chronic form, and also from 40 individuals with no schistosome infection were examined. Of the 20 acute patients, 15 (75%) had IgA antibodies, whereas only one of the 20 in the chronic stage was positive for IgA. IgM antibodies were detected in 19 of the acute patients and in 17 of the chronic ones (90% positivity).

No positive reaction was observed among non-schistosomiasis patients.

DESCRIPTORS: Schistosomiasis mansoni, Diagnosis. Antibodies. Acute phase. Chronic phase.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, M.F.F.L.; ROCHA, R.S.; ZICKER, F. & KATZ, N. — Evaluation of schistosomiasis in a hyperendemic area of the Minas Gerais state: two cross sectional studies. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo, 27: 279-285, 1985.
2. DEELDER, A.M. & KORNELIS, D. — A comparison of the IFA and the ELISA for the Demonstration of Antibodies Against Schistosome Gut-Associated Polysaccharide Antigens in Schistosomiasis. Z. Parasitenk., 64(1): 65-75, 1980.
3. DEELDER, A.M. & KORNELIS, D. — Immunodiagnosis of recently acquired Schistosoma mansoni infection. A comparison of various immunological techniques. Trop. geogr. Med. 33: 36-41, 1981.
4. DEELDER, A.M.; KORNELIS, D.; MARBIN, M.; NOORDPOOL, H.N.; GODFRIED, R.M.; ROTMANS, J.P. & OOSTBURG, B.F.J. — Applicability of different antigen preparations in the enzyme — linked immunosorbent assay for Schistosomiasis mansoni. Am. J. Trop. Med. Hyg., 29(3): 401-410, 1980.
5. DEELDER, A.M.; KORNELIS, D.; VAN MARCK, E.A.E.; EVELEIGH, P.C. & EDMOND, J.G. — Schistosoma mansoni: Characterization of two circulating polysaccharide antigens and the immunological response to these antigens in mouse, hamster, and human infections. Exp. Parasitol., 50: 16-32, 1980.
6. EVERGARD, B.; HAMMARSTROM, L.; SMITH, C.I.E. & LINDER, E. — Early antibody responses in human schistosomiasis. Clin. exp. Immunol., 80: 69-76, 1990.
7. FELDMEIER, H. & BUTTNER, D.W. — Immunodiagnosis of Schistosomiasis mansoni in man. Application of crude extracts from adult worms and cercariae in the I.H.A. and the ELISA. Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. OrigA 255: 413-421, 1983.

8. GRZYCH, J.M.; DISSOUS, C.; CAPRON, M., TORRES, S.; LAMBERT, P.H. & CAPRON, A. — *Schistosoma mansoni* shares a protective carbohydrate epitopes with Keyhole limpet hemocyanin. J. exp. Med., 165: 865-878, 1987.
9. JASSIM, A.; HASSAN, K & CATTY, D. — Antibody isotypes in human schistosomiasis mansoni. Parasite: Immunology, 9: 627-650, 1987.
10. KANAMURA, H.Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; CAMARGO, M.E. & SILVA, L.C. — Class specific antibodies and fluorescent staining patterns in acute and chronic forms of Schistosomiasis mansoni. Am. J. trop. Med. Hyg., 28(2): 242-248, 1979.
11. KANAMURA, H.Y. — Antigenos de diferentes formas evolutivas do *S. mansoni* para diagnóstico e acompanhamento sorológicos de pacientes submetidos à quimioterapia. São Paulo, 1985, 109 p. [Tese de Doutorado — Instituto de Ciências Biomédicas — Universidade de São Paulo].
12. LEAL-BACELAR, G.M.J.P. — Padronização e avaliação da técnica ELIEDA para fins diagnósticos e acompanhamento de pacientes tratados. São Paulo, 1989, 103 p. [Dissertação de Mestrado — Faculdade de Ciências Farmacêuticas — Universidade de São Paulo].
13. LUNDE, M.N. — OTTESEN, E.A. & CHEEVER, A.W. — Serological differences between acute and chronic schistosomiasis mansoni detected by Enzyme-Linked — Immunosorbent Assay (ELISA). Am. J. trop. Med. Hyg., 28(1): 87-91, 1979.
14. MANSOUR, M.M.; ALI, P.O.; FARID, Z.; SIMPSON, A.J.G. & WOODY, J.W. — Serological differentiation of acute and chronic schistosomiasis mansoni by antibody responses to keyhole limpet hemocyanin. Am. J. trop. Med. Hyg., 41(3): 338-344, 1989.
15. MOTT, K.E. & DIXON, H. — Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of schistosomiasis. Bull. W.H.O., 60(5): 729-753, 1982.
16. NASH, T.E. — Localization of the circulating antigen within the gut of *S. mansoni*. Am. J. trop. Med. Hyg., 23: 1085-1087, 1974.
17. NASH, T.E. — Antibody response to a polysaccharide antigen present in the schistosome gut. Am. J. trop. Med. Hyg., 27(5): 938-943, 1978.
18. RUIZ-TIBEN, E.; HILLYER, G.V.; KNIGHT, W.B.; GOMEZ de RIOS, I. & WOODALL, J.P. — Intensity of infection with *Schistosoma mansoni*: Its relationship to the sensitivity and specificity of serologic tests. Am. J. trop. Med. Hyg., 28(2): 230-236, 1979.
19. SAUNERON, M.F.; APPRIU, M. RIPERT, Ch., TRIBOULEY — DURET, J. & TRIBOULEY, J. — Étude par la réaction d'immunofluorescence des anticorps dirigés contre les antigenes de l'épithélium intestinal de *Schistosoma mansoni*. Ann. Parasitol. Hum. Com. 60(2): 147-154, 1985.

Recebido para publicação em 23 de agosto de 1991.