

# INFLUÊNCIA DA FONTE DO ANTÍGENO E DOS FATORES ALÉRGICOS NO TESTE INTRADÉRMICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

Adriana Bezerra de Carvalho \*, Maria Thereza Almeida \*\* e Aggeu Magalhães Filho \*\*\*

*73 (setenta e três) pacientes esquistosomóticos e 29 (vinte e nove) indivíduos não parasitados foram testados pelo teste intradérmico para esquistossomose mansônica utilizando-se antígeno de vermes adultos *S. mansoni* obtidos por filtração sanguínea humana. O teste foi comparado com o antígeno clássico obtido de vermes do camundongo, observando-se a interferência de manifestações alérgicas.*

## INTRODUÇÃO

Smithers e Terry (12), em 1968, demonstraram que vermes adultos de *S. mansoni* transferidos de um hospedeiro para outro, imunizado contra o primeiro, eram destruídos. Conseqüentemente, ficou comprovada a incorporação de antígenos do hospedeiro à superfície do parasito, fenômeno este denominado por vários autores de premunição ou imunidade concomitante (1, 8, 12, 13).

Usualmente, o antígeno para o auxílio de diagnóstico na esquistossomose mansônica é preparado com vermes adultos obtidos por perfusão de camundongos experimentalmente infectados (5). Assim sendo, os vermes desenvolvidos em camundongos naturalmente incorporam os antígenos de histocompatibilidade do hospedeiro, o camundongo, os quais devem influenciar

na responsividade quando injetados na pele humana.

Indivíduos portadores de manifestações alérgicas poderiam também reagir com um alto índice de falsa positividade ao teste intradérmico (IDT), conforme salienta Davis (2).

Caso tais fenômenos ocorram, os antígenos para IDT preparados pela primeira vez a partir de vermes obtidos no hospedeiro humano devem oferecer resultados mais verdadeiros.

Finalmente, indivíduos de grupos sanguíneos ABO incompatíveis com o doador dos vermes devem reagir também contra os antígenos de histocompatibilidade, como refere Rosenfield (9).

Esta investigação tem por finalidade avaliar até que ponto os antígenos de histocompatibilidade (antígenos do hospedeiro incorporados ao verme) e os fatores alérgicos interferem nos resultados do IDT.

---

Trabalho realizado no IV Dept.º de Anatomia e Fisiologia Patológicas da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco.

\* Médica estagiária do Departamento de Anatomia e Fisiologia Patológica da Fac. de Medicina da Univ. Federal de Pernambuco.

\*\* Médica estagiária do Departamento de Anatomia e Fisiologia Patológica da Fac. de Medicina da Univ. Federal de Pernambuco.

\*\*\* Prof. Adjunto do IV Departamento de Anatomia e Fisiologia Patológica do Hospital das Clínicas de Universidade Federal de Pernambuco.

Recebido para publicação em 26.4.1972.

## MATERIAL E MÉTODOS

*Material*

Antígeno salino para IDT na esquistosomose mansônica de vermes adultos *S. mansoni*, colhidos por filtração sanguínea humana e preparado no laboratório de Imunopatologia do Departamento de Anatomia e Fisiologia Patológicas do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Pernambuco (F.M.U.F.Pe.) — Serviço do Prof. R. de Barros Coelho.

Antígeno salino para IDT na esquistosomose mansônica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Minas Gerais — Serviço do Prof. Pellegrino, de vermes adultos obtidos por perfusão de camundongos infectados experimentalmente.

Antiseros para determinação de grupo sanguíneo fabricados pelo Laboratório Johnson & Johnson.

Seringas tipo tuberculina e agulhas 10x4mm.

73 (setenta e três) pacientes adultos, selecionados nas 1ª Clínica Médica, 2ª Clínica Médica e na Disciplina de Doenças Infecciosas e Parasitárias do Hospital das Clínicas (HC) da F.M.U.F.Pe., eliminando ovos viáveis de *S. mansoni*, e livres de outras parasitoses, observando-se os casos em que existiam referências de manifestações alérgicas (asma brônquica, urticária, rinite vasomotora e dermatite esquistossomótica).

29 (vinte e nove) indivíduos adultos, não parasitados (7), nos quais também eram colhidos os dados alérgicos.

*Métodos*

Os vermes humanos de *S. mansoni* foram colhidos de pacientes esquistossomóticos na 2ª Clínica do H. C. da F.M.U.F.Pe. Após esplenectomia, com deslocamento prévio dos vermes pelo Gluconato de sódio e Antimonilo (Triostib), na dose de 15-17 mg/kg. de peso foi mantida a filtração sanguínea através da veia esplênica, em circulação extracorpórea durante 55 minutos. Os parasitos foram imediatamente enviados ao nosso laboratório, lavados por 3 vezes em solução fisiológica, em seguida congelados e liofilizados. Daí por diante obedeceu-se rigorosamente a técnica utilizada

por Kagan e Pellegrino (5) na preparação do antígeno procedente de Belo Horizonte.

Uma vez ajustado o conteúdo de nitrogênio protéico para 30-40  $\mu\text{g/ml}$  de N<sub>2</sub> (método de micro-Kjeldahl), como recomendam Kagan e Goodchild (4), os testes foram realizados da seguinte maneira: 0,05 ml de cada antígeno eram injetados, intradermicamente, ao mesmo tempo (por 2 observadores), em pontos separados nas costas (metade superior) dos indivíduos, em área de pele sem tratamento prévio. Na mesma ocasião, em área separada 0,05 ml de soro fisiológico era injetado com a mesma técnica, obtendo-se uma pápula que variou de 0,4 a 0,9 cm<sup>2</sup> (média de 0,5 cm<sup>2</sup>) de acordo com a padronização da OMS (5).

A leitura dos resultados, 15 minutos após a injeção intradérmica dos dois antígenos, foi mensurada calculando-se a área da pápula em cm<sup>2</sup> (resultados positivos acima de 1,2 cm<sup>2</sup>, duvidosos entre 1,0 e 1,1 cm<sup>2</sup> e negativos menores que 0,9 cm<sup>2</sup>). A fim de verificar se a diferença das áreas era significativa, foi feito o teste "t" de Student.

## RESULTADOS

Na tabela 1, os 73 (setenta e três) pacientes esquistossomóticos forneceram uma média de mensuração nas áreas das pápulas muito maior com antígeno de vermes de camundongo, do que com o de vermes humanos. Obteve-se um percentual de positividade de 100% para o primeiro e de 90% para o segundo. Dos 29 (vinte e nove) indivíduos usados como controle da parasitose, observou-se da mesma maneira uma maior média nas áreas obtidas com antígeno de vermes de camundongo, apresentando porém um percentual de falsa positividade de 52% para o antígeno de vermes de camundongo e de 27% para o antígeno de vermes humanos. Em relação às diferenças entre as áreas obtidas com o uso dos dois antígenos estudados nos pacientes esquistossomóticos, estas foram significantes e o "p" menor que 0,001.

Na tabela 2 observa-se o grau de respostas dos dois grupos quanto ao aspecto alérgico. Dos 73 (setenta e três) pacientes esquistossomóticos, 39 (trinta e nove) não referiram manifestações alérgicas.

TABELA I

## ESTUDO COMPARATIVO DO IDT USANDO-SE AgC \* E AgH \*\*

RESULTADOS	Grupo de pacientes	Grupo s/parasitose (controle)
Número de indivíduos .....	73	29
Média das áreas do controle com soro fisiológico logo após a injeção (cm <sup>2</sup> ) .....	0,5	0,5
Média das áreas com AgC (cm <sup>2</sup> ) .....	2,745	1,665
Média das áreas com AgH (cm <sup>2</sup> ) .....	1,672	0,812
% de positividade com AgC .....	100	52
% de positividade com AgH .....	90	27

\* AgC — Antígeno de vermes do camundongo

\*\* AgH — Antígeno de vermes humanos

TABELA II

## VALOR DAS MANIFESTAÇÕES ALÉRGICAS

RESULTADOS	Nº de indiv. testados	Média das áreas com AgC (cm <sup>2</sup> )	Média das áreas com AgH (cm <sup>2</sup> )	Diferença de médias p/cs dois Ags. (cm <sup>2</sup> )
Pacientes sem referências a manifestações alérgicas .....	39	2,656	1,521	1,135
Indivíduos sem parasitose e sem referências a manifestações alérgicas (controle) .....	9	0,633	0,577	0,056
Pacientes com referências a manifestações alérgicas .....	34	3,458	1,552	1,906
Indivíduos sem parasitoses e com referências a manifestações alérgicas ..	20	2,156	0,917	1,239

Nestes, o antígeno de vermes do camundongo também se apresentou com maior grau de reatividade.

Do grupo controle da parasitose e sem manifestações alérgicas, em número de 9 (nove), resultou uma média das áreas quase igual para os dois antígenos.

Nos 34 (trinta e quatro) esquistossomóticos com manifestações alérgicas apresentou-se um resultado análogo ao geralmente observado.

Porém no grupo não parasitado e com tais referências de alergia, em número de 20 (vinte), houve como média uma interpretação falsamente positiva para o antígeno de vermes do camundongo e negativa no caso do antígeno de vermes humanos.

Neste grupo estudado pela tabela 2 foi encontrado um valor significativo para um "p" menor que 0,01, ("t" = 2,242).

Analisando-se a diferença entre as médias das áreas papulosas nos pacientes não alérgicos e alérgicos com os 2 antígenos, observa-se 1,135 cm<sup>2</sup> para os primeiros e 1,906 cm<sup>2</sup> nos segundos.

Na tabela 3, onde um grupo de 10 (dez) pacientes esquistossomóticos ABO incompatíveis foram testados, a média das áreas com o antígeno de vermes humanos foi de 1,620 cm<sup>2</sup>. Comparando-se este dado com o grupo de 10 (dez) pacientes ABO compatíveis, observa-se uma sensível diminuição da média das áreas mensuradas para 1,132, com uma diferença de 0,488, um "t" = 2,435, significativo para um "p" menor que 0,01.

## COMENTÁRIOS E CONCLUSÕES

Os dados do IDT fornecidos nas tabelas 1 e 2 apresentam uma intensidade menor de positividade, em média das áreas mensuradas para o antígeno de vermes oriundos do mesmo hospedeiro, no total dos indivíduos testados e especialmente nos esquistossomóticos. Do mesmo modo, os fenômenos alérgicos interferem na intensidade da resposta aos dois antígenos.

Estes fatos vêm levantar um aspecto novo na interpretação epidemiológica do teste (6, 7, 13).

Quando uma grande amostra de população é analisada pelo IDT para avaliação de áreas endêmicas, uma parcela de indivíduos fornece resultados positivos para esquistossomose mansônica com áreas papulosas muito próximas à margem mínima de positividade (1,2 cm<sup>2</sup>) (6, 7).

Conforme acabamos de observar, os fenômenos de histocompatibilidade decorrentes de uma distância filogenética, poderiam ser os responsáveis pelo acréscimo da intensidade no IDT nos indivíduos não parasitados e exatamente na dose necessária para uma falsa positividade.

É interessante notar também o comportamento no que diz respeito aos fatores alérgicos nos indivíduos não parasitados. Sobre este aspecto, o antígeno de vermes do camundongo leva a possibilidade de uma falsa positividade, o que não é observado nos mesmos indivíduos com o antígeno de fonte homóloga.

TABELA III

### RESULTADOS OBTIDOS COM O ESTUDO SUMÁRIO DA HISTOCOMPATIBILIDADE (IDT)

RESULTADOS	Nº de indiv. testados	Média das áreas com AgH (cm <sup>2</sup> )	Diferença das médias (cm <sup>2</sup> )
Grupo de pacientes ABO incompatíveis ..	10	1,620	
Grupo de pacientes ABO compatíveis ....	10	1,132	0,488

Sabendo-se que a anafilaxia cutânea ativa no homem é mediada por anticorpos reagínicos citofílicos e homocitotrópicos, pertencentes a classe IgE das imunoglobulinas (2, 3, 14), tentaremos fornecer algum subsídio sobre os diferentes mecanismos nos dois antígenos estudados.

Nos pacientes esquistossomóticos sem referências a manifestações alérgicas (14) os anticorpos reagínicos atuam contra as frações antigênicas do *S. mansoni* e contra as frações antigênicas do camundongo incorporadas ao parasita, quando se utiliza o antígeno de vermes obtidos deste animal (9). No caso dos mesmos pacientes frente ao antígeno de vermes humanos elimina-se o componente heterólogo do camundongo.

Nos pacientes alérgicos o mecanismo torna-se exacerbado pela atopia, uma vez

que alguns indivíduos apresentam um maior nível sérico de anticorpos reagínicos (3). Para uma melhor valorização da alergia, foi verificada uma falsa positividade ao IDT em indivíduos não parasitados com tais referências, ou seja, possuindo anticorpos reagínicos acima do "nível crítico" chamado por Davis (2), ao empregar-se o antígeno de vermes do camundongo.

Os dados apreciados quanto à histocompatibilidade ABO sugerem a existência de imunidade concomitante no hospedeiro humano (1, 11, 12).

O mecanismo através do qual isto interfere na intensidade do IDT em pacientes esquistossomóticos ainda permanece até o momento obscuro.

#### SUMMARY

*It has been demonstrated by Smithers & Terry (8) that adult worms are destroyed when they are transferred to another host previously immunized by the first one.*

*As is well known, the schistosoma antigen used in the schistosomiasis intradermal test is usually prepared from worms obtained with experimentally infected mice.*

*This fact raised an important question in our mind: Could the antigen prepared from mice worms bring with it some of the host antigens?*

*If this is so, the host antigens contaminate the S. mansoni antigen and would interfere with the specificity of the test.*

*Shistosoma antigens from worms removed by portal blood perfusion during splenectomy of human patients, were prepared and tested side by side, using the well-known antigen prepared from mice in Brazil by Pellegrino.*

*73 patients without any other parasitosis were tested using both kinds of antigen at the same time, and 29 individuals without the parasitosis were used for control.*

*From table 1, we can see that the antigen gave a large size papule with 100% positive, compared with the smaller human antigen, but showed a percentage of 52% false positive. In the patients tested with antigen from human S. mansoni worms the positivity was 90% and the false cases dropped to 27%. Looking at table 2, (relationship to the allergic factors) one can see that mice antigen gave more positive results in 39 patients without an allergic background. On the other hand in the control group without schistosomiasis and with allergic manifestation the average size of the papules was positive for the mice S. mansoni antigen and negative for the human S. mansoni antigen.*

*In conclusion, it has been demonstrated that average size of the papules of both antigen were smaller when the antigen from worms of the human host was used. At same time, the allergic patients condition gave papule bigger than the nonallergic patients.*

*The authors admit that in a region with endemic schistosomiasis where could be a great number of individuals showing a borderline size of papule, this fact has been demonstrated in the paper, as a result of anti-species antigen-anti body reaction.*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CAPRON, S. et alii — Les antigènes de *Schistosoma mansoni*. II — Étude immunoelectrophoretique comparée de divers stades larvaires et des adultes de deux sexes. Aspects immunologiques des relations hôte-parasite de la cercaire et de l'adulte de *S. mansoni*. Ann de l'Institut Pasteur 5: 799-810, 1965.
2. DAVIS, BERNARD D. et alii — "Hipersensibilidad": In: Davis, Bernard D. et alii — Tratado de Microbiologia, Barcelona, Salvat, 1970, cap. 17, p. 538-583.
3. HUMPHREY, S. H. & WHITE, R. G. — Immunology for Students of Medicine 3. ed. Oxford and Edinburg, Blackwell Scientific Publications, 1970.
4. KAGAN, IRVING & GOODCHILD, C. G. — Polysaccharide content of Schistosoma skin with comparisons of reactivity of nitrogen and carbohydrate contents. Am. J. Trop. Med. Hyg. 12: 179, 1963.
5. KAGAN, IRVING G. & PELLEGRINO, S. — A critical review of immunological methods for diagnosis of Bilharziasis, Bull. Wld. Hlth. 25: 611-674, 1961.
6. KAGAN, IRVING G. — Serologic diagnosis of Schistosomiasis, Bull. N. Y Acad. Ced. 44: 262-277, 1968.
7. KHALIL, H. M. — Prevalence of Schistosomiasis in Gezer, Sudan, as revealed by the intradermal test, Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 61, 100-103, 1967.
8. MAGALHÃES FILHO, A. et alii — Estudo imunológico do fígado, baço e gânglio linfático de pacientes na forma hepatoesplênica da esquistosomose mansônica, utilizando a microscopia de fluorescência. Rev. Soc. Bras. Med. Trop., 2, 112-125, 168.
9. ROSENFELD, RICHARD E. — "Estado actual de alguns problemas de los grupos sanguíneos humanos" In: Miescher, Peter A. & Muller — e Bernhard, Hans J. — Tratado de inmunopatología. Barcelona, Científico Médica, 1971, v. 2, cap. 36, p. 493-511.
10. RUSSEL, PAUL S. et alii — "Inmunopatología clínica del transplante renal" In: Miescher, Peter A. & Muller e Bernhard, Hans J. — Tratado de Inmunopatología. Barcelona, Científico Médica, 1971, v. 2, cap. 62, p. 837-853.
11. SADUN, E. H. — Parasitologic pathologic and serologic reactions to *Schistosoma mansoni* in monkeys exposed to irradiated cercariae, Am. J. Trop. Med. Hyg., 13: 548-557, 1964.
12. SMITHERS, S. R. & TERRY, R. J. — The immunology of Schistosomiasis. Adv. Parasitol. 7: 41-93, 1968.
13. Proceedings of the Seventh International Congresses on Tropical Medicine and Malaria, 2, p. 30-51, 1964.
14. ZVAIFLER, N. S., SADUN, E. H. and BEEKER, E. L. — Anaphylactic (reaginic) antibodies in helminth infections, Clin. Rev. 14: 336, 1966.