

IMMUNODIAGNOSIS (IMUNODIAGNÓSTICO)

SILVIA MARIA LUCENA MONTENEGRO

Centro de Pesquisas Aggeu Magalhães – FIOCRUZ, Av. Moraes Rego s/nº, 50670-420 Recife, PE, Brasil

In the last years, the knowledge about immunodiagnosis in schistosomiasis has increased considerably. This was due to a better immunologic understanding of the host-parasite interaction and the evolution of the technical procedures by the introduction of new concepts and techniques.

The search of more sensitive, specific, practical and less expensive diagnostic tests has led to the development of a great number of immunological tests that could complement the limitations of the parasitological diagnosis.

The antigens of different life cycle stages of Schistosoma mansoni may be used as target for immunodiagnostic tests and the anti-schistosome antibodies in the sera of infected patients can be detected. The research of circulating schistosome antigens, the production of specific antisera and the application of these antibodies in immunodiagnostic tests have also been discussed.

Key words: *Schistosoma mansoni* – immunodiagnosis

Apesar de existir uma grande variedade de testes sorológicos para a esquistossomose, eles são de pouco valor no diagnóstico, devido a: reações cruzadas que ocorrem, principalmente com outras helmintoses; não detectam a intensidade da infecção, e esses exames sorológicos podem permanecer positivos durante anos após a cura quimioterápica (Smithers & Doenhoff, 1982).

Em razão disso, o diagnóstico parasitológico, isto é, a visualização do ovo do *Schistosoma mansoni*, ainda é mais largamente aceito (Smithers & Doenhoff, 1982).

Alguns autores (Coelho & Tavares, 1991; Rey, 1991) salientaram que os métodos imunológicos são justificados apenas em áreas de carga parasitária muito pequena onde existe diminuição da eficiência dos exames parasitológicos. Esses testes imunológicos por apresentarem maior sensibilidade, são usados principalmente como métodos auxiliares em levantamentos epidemiológicos e controle da cura através da pesquisa de antígenos parasitários circulantes (Coelho & Tavares, 1991).

Na Tabela, existe uma classificação geral em métodos indiretos e diretos. Os métodos indiretos são a maioria dos testes sorológicos

e a sua positividade não indica doença, pois somente correspondem a uma resposta do sistema imune do hospedeiro frente a alguns antígenos parasitários. O método direto, como veremos mais adiante é utilizado como critério de cura e o paciente uma vez curado não apresenta mais positividade (Coelho & Tavares, 1991).

Reação intradérmica ou intradermorreação – A positividade aparece 4-8 semanas após a infecção, ocorrendo uma reação de hipersensibilidade do tipo I ou reação anafilática. Essa reação apresenta uma sensibilidade de 95% em indivíduos do sexo masculino maiores de 20 anos e 65% em indivíduos jovens do sexo feminino. Reações falsos positivos ocorrem com *Fasciola hepática*, dermatites, e nas infecções por outros trematódeos (Coelho & Tavares, 1991). A leitura do teste é feita 15-20 min após a inoculação do antígeno e o teste é positivo quando ocorre pápula de diâmetro superior a 1 cm (ou área superior a 1,2 cm²; Rey, 1991).

As limitações dessa técnica são idade, sexo e tratamento anterior que influenciam o resultado quando ocorre uma sensibilização dos pacientes anteriormente negativos (Coelho & Tavares, 1991; Rey, 1991).

TABELA

Classificação dos testes imunológicos utilizados na esquistossomose (Coelho & Tavares, 1991)

Métodos indiretos
Reação intradérmica ou intradermorreação
Teste de aglutinação cercariana
Reação circumovular
Reação pericercariana
Reação de imobilização do miracídio
Reação de fixação de complemento
Reação de hemaglutinação indireta
Reação de imunofluorescência indireta
Radioimunoensaio (RIE)
Técnica imunoenzimática (ELISA)
Métodos diretos
ELISA de captura

Teste de aglutinação cercariana – Foi descrito por Lin & Bang (1950) e o seu princípio é que o soro imune inativo aglutina cercárias vivas. A positividade do teste coincide com a época da deposição de ovos de *S. mansoni* no paciente. A sensibilidade desse teste na fase aguda da doença é de 100%, entretanto, na fase crônica baixa para 6,1% (Coelho & Tavares, 1991).

As limitações dessa técnica são: (a) não deve ser utilizada no diagnóstico da fase crônica da esquistossomose devido a sua baixa sensibilidade, e (b) necessita de cercárias vivas para a realização do teste (Coelho & Tavares, 1991).

Reação periovular ou circumovular – Foi descrita por Oliver-Gonzalez (1954) e consiste na incubação de soro imune inativo com o ovo de *S. mansoni* a 37 °C por 24 h, formando-se em torno da casca do ovo precipitados hialinos globosos ou alongados. Essa reação é espécie-específica e a sensibilidade é de 80-100%. Essa sensibilidade é maior na fase crônica do que na fase aguda (Mott & Dixon, 1982).

As limitações dessa técnica são: (a) obtenção de ovos; (b) o critério de cura é muito subjetivo, e (c) tempo gasto no preparo da técnica (Coelho & Tavares, 1991).

Reação pericercariana – Essa reação foi descrita por Vogel & Minning (1949) e torna-se positiva a partir da 4ª semana, antes do aparecimento dos ovos de *S. mansoni* nas fezes do paciente. Na reação, observa-se a formação do imunocomplexo em torno da

cercária, quando esta entra em contato com soro imune (Coelho & Tavares, 1991).

A limitação dessa técnica é a obtenção de cercárias vivas.

Reação de imobilização do miracídio – Em 1953, Senterfit descreveu essa técnica, onde ocorre paralisia do movimento ciliar do miracídio em contato com soro imune.

As limitações dessa técnica são: (a) sua baixa sensibilidade, e (b) obtenção complexa dos miracídios (Coelho & Tavares, 1991).

Reação de fixação de complemento – Os anticorpos que fixam complemento aparecem, desde a 3ª semana de parasitismo, antes mesmo que surjam os ovos de *S. mansoni* nas fezes do paciente. Nos casos crônicos com mais de dez anos de evolução, essa reação apresenta menor sensibilidade (Rey, 1991).

Reação de hemaglutinação indireta – Essa reação foi inicialmente descrita para esquistossomose por Kagan (1955) e consiste em que os antígenos de *S. mansoni* são adsorvidos às hemácias de carneiro e essas se aglutinam quando em contato com soro imune. Em 1981, Kanamura et al. utilizaram hemácias sensibilizadas com extratos do parasita. Essa reação apresenta sensibilidade entre 17% e 93% e especificidade de 88% (Coelho & Tavares, 1991).

Reação de imunofluorescência indireta – O seu princípio é a ligação de imunoglobulinas, presentes no soro imune de pacientes, na superfície das formas evolutivas parasitárias e na ligação posterior de antiglobulinas humanas marcadas com fluoresceína.

A IMFI é de interesse em soros de pacientes com infecções agudas e crônicas, que podem ser distinguíveis pelas classes de imunoglobulinas (IgG ou IgM) e a distribuição do anticorpo reativo sobre o verme. Nas infecções agudas, ocorre um padrão focal, onde ocorre coloração de fluorescência no tubo digestivo do verme, enquanto que, na forma crônica ocorre um padrão difuso, no qual se cora o parênquima, a membrana e o tubo digestivo (Helden et al., 1975; Kanamura et al., 1979; Hoshino-Shimizu et al., 1986).

O teste tem uma sensibilidade equivalente à fixação do complemento mas, é menos específico (Coelho & Tavares, 1991).

Radioimunoensaio – O Iôdo¹²⁵ é o marcador mais utilizado em testes de radioimunoensaio, os quais têm o mesmo princípio de imunofluorescência.

Mott & Dixon (1982) concluíram, que o RIE não apresenta vantagens quando comparado com outras técnicas e apresenta as desvantagens de (a) se trabalhar com material radioativo; (b) aparelhos especializados e (c) seu custo operacional ser muito alto.

ELISA – Em 1971, um grupo sueco (Engvall et al.) e outro holandês (Van Weemen & Schuurs) introduziram ensaios imunoenzimáticos, onde utilizavam enzimas ligadas a antígenos ou anticorpos para detecção de anticorpos ou antígenos, respectivamente. Esses testes imunoenzimáticos apresentaram maior sensibilidade do que os testes de imunofluorescência e mesma sensibilidade que os testes de radioimunoensaio com a vantagem dos reagentes apresentarem maior estabilidade e serem mais econômicos.

Atualmente sabe-se que o antígeno SWAP (soluble worm antigen preparation) é o mais indicado para o teste ELISA, devido ao seu rendimento e facilidade de obtenção (Coelho & Tavares, 1991).

ELISA por captura – O princípio dessa técnica é a detecção de antígenos presentes no soro, através de anticorpos monoclonais ligados à placa de microtitulação. Esses anticorpos são revelados pela adição de outro anticorpo monoclonal marcado com a fosfatase alcalina.

O antígeno utilizado nessa técnica é o CAA (circulating anodic antigen), que se origina no tubo digestivo do parasito que são regurgitados na corrente sanguínea do hospedeiro (Coelho & Tavares, 1991).

Essa técnica é considerada um método direto, isto é, indica se o paciente está com a doença ativa e é um ótimo controle para a cura, pois após quimioterapia os vermes são mortos e não secretam o antígeno, tornando-se a técnica negativa dez dias após o uso da medicação (Coelho & Tavares, 1991).

REFERÊNCIAS

- COELHO, P. M. Z. & TAVARES, C. A. P., 1991. Diagnóstico Imunológico, p. 27-36. In L. P. Castro; P. R. S. Rocha & A. S. Cunha (eds.) *Tópicos em Gastroenterologia 2*. MEDSI, Rio de Janeiro.
- ENGVALL, E.; JONSSON, K. & PERLMANN, P., 1971. Enzyme-linked immunosorbent assay. II. Quantitative assay of protein antigen, immunoglobulin G, by means of enzyme-labelled antigen and antibody-coated tubes. *Bioch. Bioph. Acta*, 251: 424-434.
- HELDEN, H. P. T. van; TERPSTTRA, W. J.; OKOT-KOTBER, B. M. & EYAKUZE, V. M., 1975. Are these stage-characteristic immunofluorescence patterns in schistosomiasis? *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 69: 309-311.
- HOSHINO-SHIMIZU, S.; CAMARGO, M. E.; KAWADA, H. Y. K.; SILVA, L. C. da & DIAS, L. C. S., 1986. Aspectos sorológicos e soroepidemiológicos da esquistossomose mansônica. *Suplemento dos Anais da Academia Mineira de Medicina*, 14: 67-89.
- KAGAN, I. G., 1955. Hemagglutination after immunization with schistosome antigens. *Science*, 122: 376-377.
- KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S.; CAMARGO, M. E. & SILVA, L. C., 1979. Class specific antibodies and fluorescent staining in acute and chronic forms of schistosomiasis mansoni. *Amer. J. Trop. Med. Hyg.*, 28: 242-248.
- KANAMURA, H. Y.; HOSHINO-SHIMIZU, S. & SILVA, L. C., 1981. Solubilization of antigens of *S. mansoni* adult worms for the passive hemagglutination test. *Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo*, 23: 92-95.
- LIN, C. & BANG, F. B., 1950. Agglutination of cercariae of *Schistosoma mansoni* by immune sera. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 76: 68-72.
- MOTT, D. E. & DIXON, H., 1982. Collaborative study on antigens for immunodiagnosis of schistosomiasis. *Bull. WHO*, 60: 729-753.
- OLIVER-GONZALEZ, J., 1954. Anti-egg precipitin in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni*. *J. Inf. Dis.*, 95: 86-91.
- REY, L., 1991. Parasitologia. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro.
- SETERFIT, L. B., 1953. Immobilization of *Schistosoma mansoni* miracidia by immune sera. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 84: 5-7.
- SMITHERS, S. R. & DOENHOFF, M. J., 1982. Schistosomiasis, p. 527-607. In *Immunology of Parasitic Infections*. Sidney Cohen & Kenneth S. Warren, London.
- VAN WEEMEN, B. K. & SCHUURS, A. H. W. M., 1971. Immunoassay using antigen-enzyme conjugates. *Febs Letters*, 15: 232-236.
- VOGEL, H. & MINNING, W., 1949. Hüllenbildung bei Bilharzia – Cercarien in Serum bilharzia – infizierter Tiere und Menschen. *Zentralbl. f. Bakt.*, 153: 91-105.