

A REAÇÃO INTRADÉRMICA NA ESQUISTOSSOMOSE MANSONI

II. Observações sôbre a estabilidade de antígenos de cercária e verme adulto

J. PELLEGRINO e J. M. Pompeu MEMORIA

RESUMO

Seis grupos de pacientes com esquistossomose mansoni ativa foram injetados, por via intradérmica, com diferentes partidas de antígenos de cercária e verme adulto (*S. mansoni*) recentemente preparadas ou depois de mantidas na geladeira por um período que variou de 4 meses a 2 anos e 6 meses. Mesmo utilizando-se a medida das áreas das pápulas produzidas 15 minutos após a injeção dos antígenos, como critério de interpretação dos resultados fornecidos pelo teste cutâneo, não foi evidenciada diminuição, estatisticamente significativa, da atividade dos antígenos relacionada com a conservação dos mesmos, na geladeira.

INTRODUÇÃO

Observações feitas por diversos autores sôbre a conservação de antígenos usados em testes intradérmicos para o diagnóstico da esquistossomose têm demonstrado que a estabilidade do material alergênico é muito grande. Assim, PRATT & OLIVER-GONZALEZ¹² não observaram nenhuma perda da "potência" de diversas partidas de antígenos de cercária de *S. mansoni*, mantidas na geladeira por períodos até 12 meses. A resultados semelhantes chegaram MAYER & PIFANO⁵ e COUTINHO² com o emprêgo de antígeno de esquistossomos adultos (*S. mansoni*) e MARTINS⁴ usando antígeno de hepatopâncreas de moluscos infectados com formas evolutivas dêste helminto. BLAIR & ROSS¹ referem que uma partida de antígeno de miracídio de *S. haematobium* conservou suas propriedades depois de mantida à temperatura ambiente por 7 anos e uma partida de antígeno de cercária dêste parasita mostrou-se ativa mesmo depois de ficar exposta diariamente à luz solar pelo período de 1 ano. Segundo LURIE & MEILLON³, antígenos de cercária conservaram-se inalterados em sua atividade após permanecerem 3 anos em ge-

ladeira ou 6 meses à temperatura ambiente. A única referência, ao que nos consta, de perda de atividade, foi feita por PESIGAN & col.¹¹. Estes autores, trabalhando com antígeno de *S. japonicum* (verme adulto), observaram ligeiro decréscimo de sua "potência", após 3 meses.

No presente trabalho serão relatadas observações por nós coligidas sôbre a estabilidade de antígenos de cercária e verme adulto (*S. mansoni*). Nestas observações adotou-se como critério de leitura da reação intradérmica, a medida da área da pápula formada 15 minutos após a injeção do antígeno (PELLEGRINO & MACEDO⁶). Pensamos que com esta técnica pequenas alterações da atividade antigênica poderiam ser evidenciadas.

MATERIAL E MÉTODOS

Casos de esquistossomose. — Os seguintes grupos de indivíduos com exame de fezes positivo para ovos de *S. mansoni* foram incluídos no presente trabalho:

Grupo A: 25 adultos não selecionados, do sexo masculino. Estes pacientes foram injetados na mesma ocasião, por via intradérmica, com duas partidas de antígeno de cercária: uma de preparação recente (C_9) e outra preparada há 8 meses e conservada na geladeira (C_4). Os antígenos foram empregados nas seguintes diluições: 1:1.000; 1:10.000 e 1:100.000.

Grupo B: 25 adultos não selecionados, do sexo masculino. Foram empregadas neste grupo duas partidas de antígeno de verme adulto: uma de preparação recente (V_9) e outra preparada há 8 meses e conservada na geladeira (V_4). As reações intradérmicas foram feitas na mesma ocasião, nos 25 pacientes, com as seguintes diluições dos antígenos: 1:1.000, 1:10.000 e 1:100.000.

Grupo C: 17 meninos, com 10 a 15 anos de idade, e que haviam reagido, previamente, à injeção intradérmica de antígeno de verme adulto a 1:1.000, com pápulas de 1,4 a 1,8 cm². Neste grupo foram empregadas três partidas de antígeno de verme adulto: partida V_{15} , de preparação recente; partida V_{14} , conservada 4 meses na geladeira e partida V_4 , preparada há 2 anos e 5 meses e conservada na geladeira. Os antígenos foram empregados na diluição de 1:1.000.

Grupo D: 15 pacientes não selecionados, do sexo masculino, com 15 a 18 anos de idade. Foram empregadas neste grupo as seguintes partidas de antígeno de verme adulto: V_{12} , de preparação recente, a partir de esquistossomos recentemente dessecados; V_{11} , de preparação recente, mas com esquistossomos dessecados há 1 ano e conservados à temperatura ambiente em ampola fechada sob vácuo; V_4 , preparada há 1 ano e 6 meses e conservada na geladeira. Os antígenos foram usados a 1:1.000.

Grupo E: 25 pacientes adultos, do sexo masculino, receberam injeção intradérmica de antígeno de cercária (partida C_4) e, 2 anos e 6 meses depois, a reação intradérmica foi repetida nos mesmos pacientes, com o mesmo antígeno. Durante este período o antígeno foi conservado na geladeira. Concentração do antígeno, 1:1.000.

Grupo F: 15 pacientes adultos, do sexo masculino, foram injetados, por via intradérmica, com antígeno de verme adulto (partida V_4 , concentração 1:1.000). Dois anos e 6 meses depois, a reação intradérmica foi repetida, com o mesmo antígeno, nos mesmos indivíduos. Durante este período o antígeno foi mantido na geladeira.

Antígenos. — Cercárias e esquistossomos adultos (*S. mansoni*) foram obtidos de acordo com técnicas já descritas (PELLEGRINO & NUNES⁹; PELLEGRINO & SIQUEIRA¹⁰). Os antígenos de cercária e verme adulto foram preparados a partir do material dessecado segundo descrição feita no primeiro trabalho desta série (PELLEGRINO & MEMORIA⁷). Os antígenos foram utilizados na concentração de 1:1.000, em relação ao peso do material dessecado. Nos grupos A e B, diluições de 1:10.000 e de 1:100.000 foram também empregadas. Quando não em uso, os antígenos foram conservados na geladeira (4° a 10°C).

Reação intradérmica. — As reações intradérmicas foram feitas na parte média da face flexora dos antebraços, tendo-se injetado 0,05 ml de cada antígeno com seringa BD de 0,25 ml, munida de agulha adequada. Nos grupos A e B foi feita prévia casualização em relação aos antígenos e locais do antebraço. A leitura dos resultados foi feita após 15 minutos, tendo-se determinado as áreas das pápulas nos decalques tomados em papel absorvente, ligeiramente umedecido, após delimitar com tinta o seu contorno (PELLEGRINO & MACEDO⁶).

Análise estatística. — Nos grupos A e B foi feito o estudo da regressão das áreas das pápulas em relação aos logaritmos das concentrações dos antígenos. A análise de variância foi usada em todos os grupos estudados.

RESULTADOS

No grupo A, a análise estatística revelou que a regressão linear explica totalmente a relação entre as áreas médias das pápulas e os logaritmos das concentrações dos antígenos C_9 , de preparação recente, e C_4 , conservado 8 meses na geladeira. A análise

conjunta revelou que uma única reta explica a relação entre as áreas e as concentrações (Fig. 1), sendo expressa pela equação: $\hat{y} = 3,58 + 0,50 x$. As áreas médias obtidas com os antígenos C_4 e C_9 , nas diversas concentrações, e o erro padrão das médias estão representados no Quadro I.

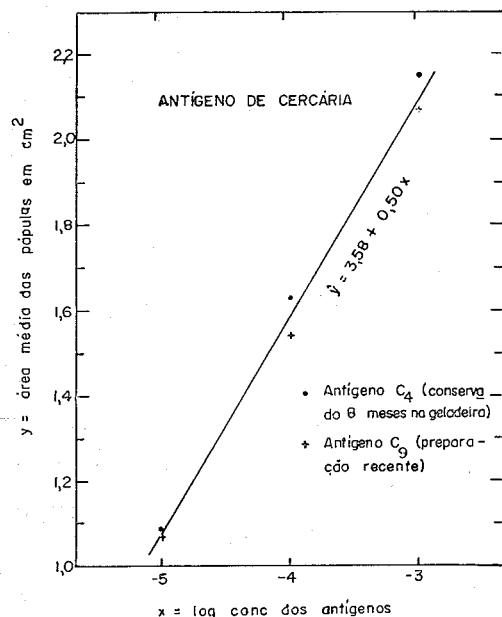


Fig. 1 — Regressão linear conjunta das áreas médias das pápulas em relação aos logaritmos das concentrações de duas partidas de antígeno de cercária: C_9 , preparada recentemente, e C_4 , conservada 8 meses na geladeira.

No grupo B foram obtidos resultados semelhantes ao grupo A. A análise estatística mostrou que uma única reta (Fig. 2) explica a relação entre as áreas e as concentrações dos antígenos V_9 (preparação recente) e V_4 (conservado na geladeira por 8 meses). A equação correspondente a esta reta é a seguinte: $\hat{y} = 3,37 + 0,44 x$. As áreas médias obtidas para as diferentes concentrações dos antígenos V_4 e V_9 , bem como o erro padrão das médias, estão expressos no Quadro I.

Nos grupos C e D não houve diferença estatisticamente significativa entre as médias obtidas (Quadro I).

No grupo de 25 adultos não selecionados nos quais a reação intradérmica foi repetida 2 anos e 6 meses depois, com a mesma

partida de antígeno de cercária (C_4), a análise estatística mostrou que a diferença entre as áreas médias obtidas nas duas ocasiões não foi estatisticamente significativa (Grupo E, Quadro I). O mesmo foi verificado no Grupo F, utilizando-se antígeno de verme adulto.

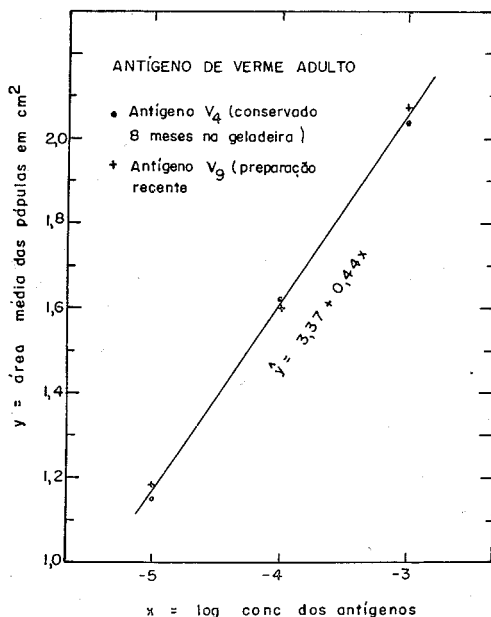


Fig. 2 — Regressão linear conjunta das áreas médias das pápulas em relação aos logaritmos das concentrações de duas partidas de antígeno de verme adulto: V_9 , preparada recentemente, e V_4 , conservada 8 meses na geladeira.

DISCUSSÃO

Mesmo utilizando-nos de um critério acurado e objetivo para interpretar os resultados fornecidos pela reação intradérmica, não conseguimos evidenciar diminuição da atividade de antígenos de cercária e verme adulto (*S. mansoni*), conservados na geladeira por períodos até 2 anos e 6 meses (tempo máximo de observação). Ficam, portanto, confirmadas as observações sobre a estabilidade de antígenos usados para o diagnóstico da esquistossomose pela reação intradérmica, já citadas na introdução deste trabalho. Mostramos também que se pode conservar o material dessecado, à temperatura ambiente, em ampola fechada sob vácuo e que o antígeno pode ser preparado quando se tornar necessário (partida V_{11} , Grupo D).

QUADRO I

Reação intradérmica na esquistossomose. Área média das pápulas (cm²) e erro padrão das médias obtidos em diversos grupos de pacientes com esquistossomose.

Grupos de pacientes	Antígenos			Área média das pápulas (cm ²) nas diluições de			Erro padrão da média
	Extraído de:	Partida	Observações	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	
A	Cercária	C 9	Preparação recente	2,02	1,54	1,07	± 0,04
	Cercária	C 4	Conservada 8 meses na geladeira	2,15	1,63	1,09	± 0,07
B	Verme adulto	V 9	Preparação recente	2,07	1,60	1,18	± 0,03
	Verme adulto	V 4	Conservada 8 meses na geladeira	2,03	1,62	1,15	± 0,03
C	Verme adulto	V 15	Preparação recente	1,58	± 0,06
	Verme adulto	V 14	Conservada 4 meses na geladeira	1,55	0,06
	Verme adulto	V 4	Conservada 29 meses na geladeira	1,68	± 0,06
D	Verme adulto	V 12	Preparação recente	1,65	± 0,05
	Verme adulto	V 11	Vermes dessecados há 12 meses	1,51	± 0,05
	Verme adulto	V 4	Conservada 18 meses na geladeira	1,69	± 0,05
E	Cercária	C 4	—	2,16	± 0,05
	Cercária	C 4	Reações repetidas 30 meses após	2,12	± 0,05
F	Verme adulto	V 4	—	1,82	± 0,06
	Verme adulto	V 4	Reações repetidas 30 meses após	1,82	± 0,06

Um exame atento do Quadro I mostra que resultados muito semelhantes foram obtidos com os antígenos de cercária e verme adulto (Grupos A e B), confirmando observações por nós descritas em relação a estes dois antígenos (PELLEGRINO & MEMORIA⁷). No Grupo D, constituído por pacientes de 15 a 18 anos, não selecionados, as áreas médias observadas foram nitidamente inferiores àquelas verificadas nos Grupos A, B, E e F, integrados por adultos não selecionados. A influência da idade sobre os resultados fornecidos pela reação intradérmica, praticada em pacientes com esquistossomose mansoni já foi referida em trabalho anterior (PELLEGRINO, MEMORIA & MACEDO⁸).

SUMMARY

The intradermal test in schistosomiasis mansoni. II. Observations on the stability of cercarial and adult worm antigens.

Six groups of patients with active schistosomiasis mansoni were intradermally injected with different batches of cercarial and adult worm antigens of *S. mansoni*. Antigens stored in the refrigerator (4° to 10°C) for periods from 4 months to 2½ years were compared with freshly prepared antigens. The results of the intradermal tests were assessed by measuring the wheal areas 15 minutes after the injection of the antigens. No decrease of the activity of the antigens was detected even after 2½ years of storage. It was concluded that the allergenic material in *S. mansoni* extracts, able to elicit cutaneous response in infected patients is very stable.

REFERÊNCIAS

1. BLAIR, D. M. & ROSS, W. F. — Observations on the use of cercarial antigen in the diagnosis of schistosomiasis. Ann. trop. Med. & Parasitol. 42:46-51, 1948.
2. COUTINHO, J. O. — Contribuição ao estudo da esquistossomose mansônica no Estado da Bahia, Brasil. Arq. Hig. & Saúde públ., São Paulo 16:3-40, 1951.
3. LURIE, H. I. & DE MEILLON, B. — Skin tests for schistosomiasis. South African med. J. 25:321-324, 1951.
4. MARTINS, A. V. — Diagnóstico de laboratório da esquistossomose mansoni. Belo Horizonte, 1949. Tese Fac. Med. Univ. Minas Gerais.
5. MAYER, M. & PIFANO, F. — El diagnostico de la schistosomiasis por intradermorreacciones con un antígeno preparado de vermes adultos de *Schistosoma mansoni*. Rev. Sanid. Asist. Social 10:3-44, 1945.
6. PELLEGRINO, J. & MACEDO, D. G. — Novo critério de leitura da reação intradérmica na esquistossomose. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. 8:499-509, 1956.
7. PELLEGRINO, J. & MEMORIA, J. M. P. — A reação intradérmica na esquistossomose mansoni. I. Ensaio comparativos com antígenos de cercária, verme adulto, ovo e miracídio. Rev. Inst. Med. trop. São Paulo 2: 171-176, 1960.
8. PELLEGRINO, J.; MEMORIA, J. M. P. & MACEDO, D. G. — Quantitative aspects of the intradermic test with cercarial antigen in schistosomiasis. J. Parasitol. 43:304-307, 1957.
9. PELLEGRINO, J. & NUNES, R. M. B. — Técnica de obtenção de cercárias dessecadas de *Schistosoma mansoni* para o preparo de antígenos. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. 8:397-404, 1956.
10. PELLEGRINO, J. & SIQUEIRA, A. F. — Técnica de perfusão para colheita de *Schistosoma mansoni* em cobaias experimentalmente infestadas. Rev. brasil. Malariol. & Doenças trop. 8:589-597, 1956.
11. PESIGAN, T. P.; PUTONG, P. B.; GARCIA, E. G. & MILLAR, C. A. — Intradermal test for schistosomiasis japonica. Preliminary report. J. Philippine med. Assoc. 27:212-219, 1951.
12. PRATT, C. K. & OLIVER-GONZALEZ, J. — Intradermal reactions to fresh and stored antigens prepared from cercariae of *Schistosoma mansoni*. Puerto Rico J. publ. Health & trop. Med. 22:254-256, 1947.

Recebido para publicação em 6 junho 1960.

