

## A REAÇÃO PERIOVULAR COM IMUNOFLORESCÊNCIA NO DIAGNÓSTICO DA ESQUISTOSSOMOSE MANSÔNICA

J. PELLEGRINO (1) e Rômulo Teixeira de MELLO (2)

### RESUMO

A reação periovular com imunofluorescência (método indireto) foi praticada com o soro de 187 indivíduos procedentes de Medina (Minas Gerais) com exame de fezes positivo para *S. mansoni*. A formação de precipitados fluorescentes (reações positivas) foi observada em 185 casos (98,9%). A mesma reação foi feita em 102 amostras de soro colhidas em Porto Alegre (Rio Grande do Sul), onde a esquistossomose não é endêmica. Nestes casos, todos com reação de fixação do complemento negativa, a reação periovular resultou também negativa. Foi salientado o valor do método de imunofluorescência para facilitar a leitura da reação e aumentar a sua sensibilidade e especificidade em relação ao teste convencional.

### INTRODUÇÃO

Em 1954 OLIVER GONZALEZ<sup>2</sup> mostrou que, quando ovos de *Schistosoma mansoni* eram incubados a 37°C com soro de pacientes com esquistossomose, formavam-se precipitados em torno dos ovos com miracídio vivo, precipitados estes que tomavam a forma de glóbulos de tamanho variável ou constituíam longas cadeias como se fossem "segmentos de tênia". Este novo método sorológico, que recebeu o nome de reação periovular, tem sido exaustivamente investigado, tanto como método diagnóstico como para controle de cura e levantamento epidemiológico.

Em 1962 foi chamada a atenção (PELLEGRINO & ANDRADE<sup>4</sup>) para o fato de que mesmo em soro de indivíduos sem esquistossomose havia, com certa frequência, o aparecimento de pequenas formações em "bolha", geralmente isoladas, em número reduzido de ovos. Este achado prejudica grandemente a interpretação da reação, uma vez que tais "bolhas" podem ser vistas também em ovos de *S. mansoni* incubados com soros

de indivíduos com esquistossomose. É oportuno salientar que dúvidas surgem quando há apenas formação de "bolhas" e que na maioria dos casos positivos há formação de longas cadeias em torno dos ovos.

RIVERA DE SALA & col.<sup>6</sup> aplicaram, pela primeira vez, a técnica de imunofluorescência na reação periovular. Segundo RIFAAT & col.<sup>5</sup> a imunofluorescência, aplicada à reação periovular, aumenta a sua sensibilidade.

Neste trabalho são apresentados os resultados obtidos com a técnica de imunofluorescência indireta praticada com soros de pacientes com esquistossomose mansônica e de indivíduos residentes em zonas não-endêmica.

### MATERIAL E MÉTODOS

*Pacientes com esquistossomose e controles*  
— A reação periovular com imunofluores-

(1) Grupo Inter-Departamental de Estudos sobre Esquistossomose, Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Contribuição n.º 39 do Grupo Inter-Departamental de Estudos sobre Esquistossomose (GIDE), Belo Horizonte, Brasil

(2) Bolsistas do CNPq

Este trabalho foi realizado com o auxílio do Conselho Nacional de Pesquisas (Miniplan) Endereço para separatas: Caixa Postal 1404, 30000 Belo Horizonte, Brasil

cência foi feita em 187 amostras de soro de indivíduos moradores em Medina, de diversas faixas etárias. Em todos os casos o exame de fezes foi positivo para *S. mansoni*. Como controle a reação foi praticada em 102 amostras de soro, tendo o material sido colhido em crianças (7-15 anos) residentes em Porto Alegre.

*Obtenção de ovos de S. mansoni* — A técnica de obtenção de ovos de *S. mansoni* para a realização da reação periovular acha-se descrita em trabalho anterior (PELLEGRINO & ANDRADE<sup>4</sup>).

*Técnica da reação* — A reação periovular com imunofluorescência foi feita em duas etapas. Na primeira colocou-se 0,1 ml de soro, previamente inativado a 56°C durante 30 minutos, e 0,05 ml de suspensão de ovos de *S. mansoni* em solução salina a 1,4% contendo 100 u de penicilina/ml. A preparação era recoberta com lamínula, untada nos

bordos com vaselina, e incubada a 37°C durante 24 horas. Na segunda etapa os ovos eram transferidos para tubos de hemólise sendo lavados 3 vezes com salina tamponada (tampão fosfato pH 7,5) para remover excesso de anticorpo. Era então adicionada anti-gama-globulina humana, produzida em coelho, marcada com isotiocianato de fluoresceína, e incubada de 2 a 4 horas a 37°C. Os ovos eram então examinados em microscópio de imunofluorescência (Zeiss HBO-200).

*Leitura da reação* — Os precipitados formados em torno dos ovos destacavam-se facilmente pela sua fluorescência amarelo-esverdeada, particularmente as reações em cadeia (Fig. 1). As reações em "bolha" ora apresentavam fluorescência intensa, ora esta era apenas visível. Foram consideradas positivas as reações com formação de cadeia "segmento de tênia" e as reações em "bolha", mesmo isoladas, mas com intensa fluorescência.

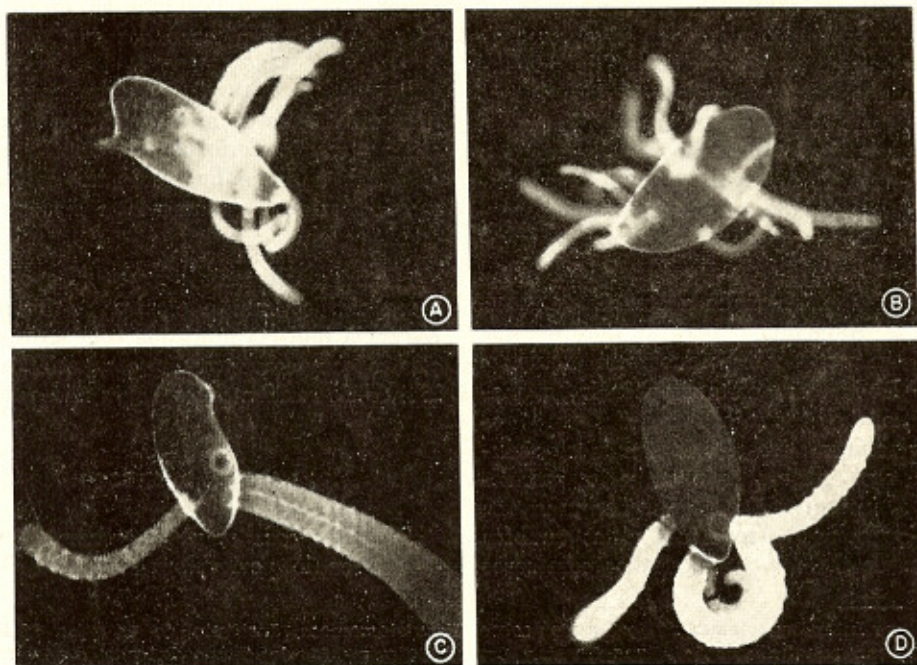


Fig. 1 — A a D — Reação periovular com imunofluorescência. Reações em "cadeia" (segmentos de tênia) típicas. Notar o grande tamanho do precipitado, em relação ao ovo (*Schistosoma mansoni*).

## RESULTADOS

Das 187 reações praticadas em moradores de Medina, todos com exame de fezes positivo, 185 resultaram positivas (98,9%). Na maioria dos casos houve reação em cadeia ou formação de “bolhas” múltiplas, com forte fluorescência, circundando o ovo. Em apenas dois casos (meninos de 8 e 11 anos) a reação foi negativa.

Nas reações realizadas em material colhido em Porto Alegre (102 amostras), observou-se a formação de “bolhas” isoladas com fluorescência fraca em 6 casos. De acordo com o critério adotado estas reações foram consideradas como negativas. Nas 96 amostras restantes a reação foi completamente negativa.

## DISCUSSÃO

Depois da descrição da reação periovular como meio diagnóstico da esquistossomose, este teste sorológico tem sido investigado: a) como método diagnóstico propriamente dito; b) como controle de cura; e c) como meio de levantamento epidemiológico em condições de campo.

A maioria dos Autores considera a reação periovular altamente sensível e específica (RODRIGUEZ-MOLINA, OLIVER-GONZALEZ & RIVERA DE SALA<sup>7, 8</sup>; RIFAAT & col.<sup>5</sup>; SHOEB & col.<sup>9</sup>).

Como controle de cura a reação periovular foi investigada por OLIVER-GONZALEZ, RAMOS & COKER<sup>8</sup> em indivíduos com esquistossomose tratados com fuadina. De 15 casos a reação tornou-se negativa em 13, 6 a 9 meses após o tratamento. Estes dados foram confirmados por SHOEB & col.<sup>9</sup> e RIFAAT & col.<sup>5</sup>.

LEWERT & YOGORE<sup>1</sup> descreveram uma técnica simples pela qual a reação periovular pode ser realizada em condições de campo com sangue colhido por punção digital. Como material antigênico usaram ovos liofilizados de *S. japonicum*.

Algumas dificuldades que a reação periovular pode apresentar, como, por exemplo, os casos em que há formação de “bolhas” isoladas, podem ser sanadas pela aplicação da imunofluorescência. De outro lado, a reação torna-se mais sensível e específica.

RIFAAT & col.<sup>5</sup>, comparando a reação periovular feita pela técnica convencional e pela imunofluorescência, encontraram percentuais de positividade de 92% e 98%, respectivamente. Nossos dados mostram que, com a imunofluorescência, a reação periovular tornou-se muito sensível (98,9% de resultados positivos em casos parasitologicamente comprovados) e altamente específica (100% negativa em indivíduos de zona não endêmica). Deve ser ressaltado que no grupo residente em Porto Alegre (102 casos), em 6 foi notada a formação de “bolhas” isoladas com fraca fluorescência. Como já foi dito anteriormente, estas reações foram consideradas como negativas. Este critério resolve a questão levantada por PELLEGRINO & ANDRADE<sup>4</sup> quanto à interpretação das formações em “bolhas” isoladas na reação periovular.

## SUMMARY

### *The circumoval precipitin test with immunofluorescence in the diagnosis of schistosomiasis*

The circumoval precipitin test with immunofluorescence (indirect method) was performed with the sera from 187 individuals whose fecal examinations were positive for *S. mansoni*. Fluorescent precipitates (positive reactions) were observed in 185 cases (98.9%). The same reaction was performed in 102 serum samples collected in Porto Alegre, a non-endemic area for schistosomiasis. In those samples, in which complement fixation tests were negative, the circumoval reactions were also negative. The value of the immunofluorescence technique over the conventional method to facilitate the reading of the reaction and increase its sensitivity and specificity was emphasized.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. LEWERT, R.M. & YOGORE JR., M.G. — A field circumoval precipitin (FCOP) test for schistosomiasis japonica. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63:343-348, 1969.
2. OLIVER-GONZALEZ, J. — Anti-egg precipitins in the serum of humans infected with *Schistosoma mansoni*. *J. Infect. Dis.* 95:86-91, 1954.

3. OLIVER-GONZALEZ, J.; RAMOS, F.L. & COKER, C.M. — Serological reactions against egg antigens as an aid in the evaluation of therapy in schistosomiasis. *Amer. J. Trop. Med. & Hyg.* 4:908-912, 1955.
4. PELLEGRINO, J. & ANDRADE, F.O. — A reação periovular no diagnóstico da esquistossomose mansônica. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 4:163-169, 1962.
5. RIFAAT, M.A.; ISMAIL, I.; EL MAHALLAWY, M.N.; AWWAAD, S. & ESSAWY, M. — A comparative study of some immunological tests for schistosomiasis before and after treatment. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 63:338-342, 1969.
6. RIVERA DE SALA, A.; MENENDEZ-CORRADA, R. & RODRIGUEZ-MOLINA, R. — Detection of circumoval precipitins by fluorescent antibody technic. *Proc. Soc. Exper. Biol. & Med.* 111:212-215, 1962.
7. RODRIGUEZ-MOLINA, R.; OLIVER-GONZALEZ, J. & RIVERA DE SALA, A. — The circumoval precipitin test in *Schistosoma mansoni*. A study of 300 patients. *J. Amer. Med. Ass.* 82:1001-1004, 1962.
8. RODRIGUEZ-MOLINA, R.; OLIVER-GONZALEZ, J. & RIVERA DE SALA, A. — Circumoval precipitin test in schistosomiasis mansoni. A study of 400 patients. *Bol. Assoc. Med. Puerto Rico* 58:159-165, 1966.
9. SHOEB, S.M.; BASMY, K.; HASEEB, N.M.; RIFAAT, M.A. & KHALIL, H.M. — The value of circumoval precipitin test (COPT) in the assessment of cure from bilharziasis and in the evaluation of antibilharzial chemotherapy. *J. Egypt. Med. Ass.* 50:29-38, 1967.

Recebido para publicação em 8/5/1974.