

## ESTUDIOS SOBRE LA INMUNIDAD A LA BILHARZIASIS MANSONI: EVALUACION DE LA PRUEBA CIRCUNOVAL DE PRECIPITINA\*

RAFAEL RODRIGUEZ MOLINA,<sup>a</sup> JOSE OLIVER GONZALEZ,<sup>b</sup> Y DIANA G. SERRANO<sup>c</sup>

En sueros humanos infectados con *S. mansoni* se han encontrado anticuerpos a los huevos de este parásito.<sup>1</sup> Al incubar los huevos en suero a la temperatura de 37°C. se forman precipitinas alrededor de su membrana. La actividad de anticuerpos séricos obtenida de casos crónicos de bilharziasis mansoni, es evidentemente mayor que la de sueros de infecciones recientes. Se considera que este factor es de suma importancia para el diagnóstico y pronóstico de la bilharziasis mansoni clínica. Parece que, en Puerto Rico, la inmensa mayoría de estas infecciones se adquieren durante la infancia o la adolescencia; por consiguiente, la reacción circunoval de precipitina puede indicar la presencia de infección cuando fracasen otros métodos ortodoxos de diagnóstico. La experiencia ha demostrado que el examen de heces y la biopsia rectal para descubrir huevos producen en muchos casos resultados equívocos. En otras palabras, los criterios de que se dispone actualmente para determinar la eficacia de una droga en el tratamiento de la bilharziasis mansoni son inadecuados. Por consiguiente, se consideró que la aplicación de las pruebas de precipitina circunoval en un gran grupo de pacientes de la enfermedad—independientemente de que hubieran sido tratados o no—, tendría dos propósitos:

1) Se podría evaluar si la reacción de precipitina circunoval es una prueba segura de diagnóstico;

2) Esta prueba se podría emplear para evaluar la eficacia del tratamiento, además de otros criterios actualmente en uso, tales como el mejoramiento de las manifestaciones clínicas de la enfermedad o la presencia de huevos, vivos o muertos, en las heces y en el tejido extraído de una de las válvulas rectales.

El presente informe se refiere a la evaluación de la reacción circunoval en 46 casos de bilharziasis mansoni. En todos ellos se observaron huevos vivos o muertos en las heces o en especímenes de biopsia de tejido rectal al efectuar la prueba.

Los pacientes eran ex-combatientes portorriqueños de diversas edades y se sabía que habían padecido infección de *S. mansoni*. La mayoría de ellos habían estado en el "San Patricio United States Veterans Administration Hospital", de San Juan, Puerto Rico, en una época u otra, por enfermedades distintas de la bilharziasis, y el diagnóstico se había formulado a base de exámenes fecales corrientes. La infección de *S. mansoni* se consideró como un hallazgo incidental, no relacionado con la principal enfermedad que motivó su hospitalización. Un reducido número de pacientes (no más de diez) presentaban manifestaciones clínicas, tales como dolores abdominales asociados a heces sanguinolentas y tenesmo. Hubo también varios casos de bilharziasis visceral, con hepatosplenomegalia y afección de la función hepática, probada químicamente, acompañadas de anemia, leucopenia y trombocitopenia. Algunos casos presentaron pruebas de hipertensión portal, tales como una historia clínica de hematemesis y várices en el esófago demostrables por el examen de rayos X.

Para obtener los sueros, se extrajeron de 8

\* Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 18, No. 5-6.

<sup>a</sup> Subdirector, Servicios Profesionales de Investigaciones, "San Patricio US Veterans Administration Hospital", San Juan, Puerto Rico. Profesor Clínico de Medicina, Escuela de Medicina, Universidad de Puerto Rico.

<sup>b</sup> Profesor de Parasitología, Escuela de Medicina, Universidad de Puerto Rico.

<sup>c</sup> Técnica de investigaciones, "San Patricio US Veterans Administration Hospital", San Juan, Puerto Rico.

<sup>1</sup> Oliver González, J.; Bauman, P. M., y Benenson, A. S., *Am. Jour. Trop. Med. & Hyg.*, 4:443, 1955.

a 10 ml. de sangre venosa de las venas cubitales y se dejó coagular.

#### *Materiales y equipo*

1) Hígados de 2 a 4 ratones o de lirones infectados con *S. mansoni* 8 a 10 semanas antes.

2) "Osterizer" o batidora eléctrica (lavada con agua destilada).

3) Solución salina al 1,7%, a la temperatura ambiente.

4) Sueros de animales o de humanos infectados, inactivados durante 30 minutos a la temperatura de 56°C. Antes de utilizarlos, se requiere otra inactivación de diez minutos si la prueba se hiciera dos horas después de inactivados.

5) Dos tamices (malla de 50 y 100) que se ajusten a los vasos de ensayo (250 ó 500 ml.).

6) Cinco tubos de cultivo para enjuagues.

7) Portaobjetos y cubreobjetos de vidrio.

8) Vaselina.

9) Pipetas capilares, con tetinas de goma.

#### *Procedimiento*

1) Después de aplastar un pedazo de hígado entre dos portaobjetos y examinarlo para ver si contiene huevos, homogénéizase los hígados durante 3 minutos en una batidora eléctrica, utilizando una solución salina al 1,7% (1-2 pulgadas de solución salina en el fondo del vaso de la licuadora). Esta solución se emplea para evitar que el miracidio salga del huevo.

2) Pásense a un vaso de ensayo la mezcla homogénéizada y el enjuague del vaso de la batidora hecho con más solución salina, después de pasados por ambos tamices (el más grueso en la parte superior).

3) Déjese sedimentar durante 15 minutos a la temperatura ambiente. Mientras tanto, colóquese una hilera de cinco tubos de cultivo en un soporte.

4) Con la pipeta capilar recójase el sedimento del fondo del vaso de ensayo y viértase en el primer tubo (se debe recoger sedimento suficiente para llenar el primer tubo).

5) Déjese asentar el sedimento en el tubo durante tres minutos y luego trasládese el sobrenadante al segundo tubo.

6) Añádase solución salina fresca al primer tubo y déjese también sedimentar durante tres minutos. Trasládese el sobrenadante al tercer tubo.

7) Agréguese nuevamente solución salina al primer tubo y repítase la operación.

8) Utilícese el sedimento del primer tubo como antígeno para la prueba (determinando antes la concentración).

9) Colóquese una gota de suero y una gota de suspensión de huevos en el portaobjetos y cúbrase con un cubreobjetos bordeado de vaselina.

10) Incúbese durante toda la noche a la temperatura de 37°C. y léase la prueba bajo el microscopio.

11) Obsérvese la reacción alrededor de los huevos vivos únicamente (proyecciones hialinas de forma digital, a veces tabicadas), cuidando distinguir los verdaderos precipitados de los pseudoprecipitados. Hágase el recuento de todos los huevos vivos y de los que están recubiertos de precipitado, anotando la intensidad de la precipitación.

12) Regístrense los resultados bajo los encabezamientos siguientes:

Nombre del paciente o identificación del animal

Fecha de la prueba

Suero de control positivo

Número de huevos en el portaobjetos

Número de huevos positivos

Intensidad de la reacción (fuerte, moderada, débil)

Observaciones

*Resultados:* Se obtuvo reacción positiva en 43 de los 46 casos (93,4%). La prueba se repitió en los tres casos en que se obtuvieron resultados negativos, y las reacciones fueron de nuevo negativas. Se sabía que los tres pacientes que presentaron reacción negativa habían padecido de bilharziasis durante varios años y habían recibido repetidas dosis de estibofeno (Fuadin). En dos de ellos se encontraron huevos muertos en las heces y en el tejido rectal, mientras que en el tercer

paciente se encontraron huevos vivos en las heces y en el tejido rectal. No se puede ofrecer, al presente, una explicación de la prueba circunoval negativa.

Se espera que, en un futuro próximo, se lleven a cabo pruebas circunovales en mayor

número de pacientes afectados o no de bilharziasis. En esta labor se prestará también atención a la posible utilidad de las pruebas como criterio adicional de evaluación de los resultados del tratamiento en infecciones humanas y experimentales de *S. mansoni*.