

ESTUDIOS INMUNOLOGICOS DE LAS PARASITOSIS Y MICOSIS

Dr. Ramón F. Lazo B.,

Facultad de Ciencias Médicas, Universidad de Guayaquil.

Una de las ramas de las ciencias biomédicas que más ha avanzado es la Inmunología. Este avance nos ha permitido aclarar algunos conceptos relacionados especialmente con las enfermedades parasitarias y micóticas, obteniendo una nueva visión interpretativa de procesos disímiles entre sí.

En el plano experimental, nos ha permitido también disponer de sofisticados procedimientos para realizar el estudio de la inmunidad, particularmente, a nivel celular.

ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LAS PARASITOSIS

El enfoque inmunológico de las parasitosis, en continuo crecimiento, ha permitido conocer la composición antigénica de numerosos parásitos; ha establecido características generales de la respuesta inmunológica del ser humano parasitado y, ha puesto de ma-

nifiesto varios factores inmunológicos que intervienen en la regulación de la relación del parásito con su huésped.

En virtud de las graves consecuencias de los problemas de Salud Pública que generan estas parasitosis, han trabajado incesantemente parasitólogos e inmunólogos, observando notables progresos en la Inmunología de las enfermedades parasitarias.

De esta manera se ha generado un Capítulo especial, "La Inmunología Parasitaria", el mismo que ha desarrollado una metodología que amplía la capacidad diagnóstica ante casos individuales, posibilitando el estudio inmunoepidemiológico de poblaciones.

(*) Relato presentado en el Simposio: Inmunología, Bioingeniería y Transplantes, desarrollado en el Primer Congreso Nacional de Ciencias. Quito.

AVANCES EN EL CONOCIMIENTO DE LA RESPUESTA INMUNOLOGICA

Sobre esta materia las investigaciones son numerosas, algunas de ellas, están orientadas a escudriñar cómo los parásitos provocan respuestas inmunes en sus huéspedes a los cuales parecen estar adaptados; de esta manera aseguran su supervivencia y transmisión a nuevos huéspedes.

Por otra parte, se ha dado mayor importancia al estudio de las variaciones antigénicas, buscando el mecanismo que las originan y cómo operan en diferentes parásitos.

El estudio inmunológico ha sido y es la preocupación de varios investigadores; así tenemos que en 1930, Taliaferro publica un libro, "La Inmunología de Infecciones Parasitarias". En 1941, Culbertson's escribe "Inmunidad contra parásitos animales". La Sociedad Británica de Inmunología, organiza en 1963 un Simposio sobre "Inmunidad para Protozoarios".

Posteriormente, en 1965, la Organización Mundial de la Salud emite informes sobre la Inmunología de las Enfermedades Parasitarias y en 1968 dan a conocer informes técnicos sobre la Inmunología de la Malaria".

En 1974 se realiza en Londres un Simposio sobre "Parásitos en el huésped inmunizado: Mecanismos de supervivencia". Se revisaron conceptos actualizados sobre el origen de las inmunoglobulinas, utilizando una variedad de métodos. Se llegó a la conclusión de que muchos de los anticuerpos formados en respuesta a la infección

parasitaria no protegen al huésped. Los parásitos sensibilizan al huésped y puede continuar su supervivencia por largos períodos como ocurre con el *Toxoplasma gondii*.

En 1978, en Caracas se realiza el Primer Curso Internacional sobre **Inmunología Parasitaria**, se da a conocer los progresos recientes en este campo, estableciendo la importancia de la Inmunología en el conocimiento epidemiológico de las enfermedades parasitarias. Se hace conocer una variada información sobre los mecanismos de que se dispone en la respuesta inmunológica mediada por células, llegando a la actualización de los métodos que evidencian la respuesta inmunológica y que corresponde al Capítulo de Inmunodiagnóstico.

Surge entonces el concepto de "espectro" en enfermedades provocadas por parásitos intracelulares, obteniendo la explicación científica a las variadas manifestaciones clínicas y evolutivas de dichas patologías; aclarando incógnitas en algunas de ellas, como ocurre en la enfermedad de Chagas, leishmaniasis, toxoplasmosis y malaria.

En 1979, en Buenos Aires, nuevamente se da cita el mundo científico en el V Congreso Latinoamericano de Parasitología, para exponer sus experiencias en cuanto a evolución de la Inmunología de las enfermedades parasitarias, que gravitan seriamente en la población a nivel mundial. Las reuniones y los debates en el curso intensivo pre-Congreso sobre toxoplasmosis fueron de trascendencia; se analizó exhaustivamente la Inmunología de esta

parasitosis, determinándose cambios radicales de criterios establecidos anteriormente, como en Tocoginecología se establece que la toxoplasmosis preexistente a la concepción no representa ningún riesgo para el fruto.

INMUNODIAGNOSTICO

El número de métodos inmunoserológicos aplicados al diagnóstico de las enfermedades parasitarias es elevado. En síntesis sólo mencionaremos los más sobresalientes:

1º) REACCIONES DONDE INTERVIENE EL COMPLEMENTO:

a) Fijación de Complemento (FC). Rutinariamente se utiliza en la enfermedad de Chagas. Kagan lo ha evaluado en amibiasis, leishmaniasis, toxoplasmosis, hidatidosis, fasciolosis, paragonimiasis y triquinosis.

b) Inmunocoaglutininas.— Es la más usada en tripanosomiasis africana.

c) Oponización (1974).— Se la utiliza en la investigación de tripanosomiasis, amibiasis y malaria.

2º) REACCIONES DE AGLUTINACION:

a) Hemoaglutinación pasiva.— Es la más comúnmente empleada en Parasitología para la investigación de la toxoplasmosis, larva migrans visceral, amibiasis, malaria, enfermedad de Chagas, oncocercosis y cisticercosis.

b) Floculación.— Latex-bentonita (FB) Kagan 1980. El CDC la utiliza para triquinosis, hidatidosis.

3º) REACCIONES DE INMUNO-FLUORESCENCIA (IF):

a) Inmunofluorescencia.— Es el método de referencia para malaria, tripanosomiasis africana, enfermedad de Chagas, giardiasis y esquistosomiasis, toxoplasmosis, leishmaniasis y otras.

b) Pruebas Inmunofluorométricas.— Permite el fraccionamiento, purificación y solución del antígeno, corrige la fluorescencia inespecífica. La lectura se realiza con un fluorómetro. Se emplea en toxoplasmosis, amibiasis, malaria, tripanosomiasis, filariasis, hidatidosis, triquinosis y esquistosomiasis.

4º) REACCION DE INMUNOPRECIPITACION:

a) Inmunodifusión (doble difusión en agar). Evaluada por Kagan en amibiasis, malaria, toxoplasmosis, larva migratoria visceral.

b) Inmunoelectroforesis.— Se han identificado algunos parásitos: E. granuloso, fasciola hepática, oncocerca vólvulos, paragónimus, shistosoma, T. cruzi, etc.

c) Contrainmunoelectroforesis.— Se ha utilizado en el estudio de la malaria, esquistosomiasis, kalaazar, cisticercosis y amibiasis.

5º) REACCIONES DE INMUNOANALISIS EN FASE SOLIDA:

a) Radio inmunoanálisis (RIA).— El antisuero indicador contiene marcadores radio-activos.

b) Inmunoanálisis enzimático (ELISA).— Cuando se acopla una enzima al antisuero. Este método ha revolucionado el diagnóstico serológico de la toxocariasis (L.M.V.). Actualmente tiene una amplia aplicación en las enfermedades parasitarias, particularmente en la investigación de cestodes, hidatidosis, cisticercosis, teniasis, distomatosis, esquistosomiasis. En Nemátodos: filarías. En Protozoarios: amibiasis y toxoplasmosis.

c) Inmunoanálisis en capa fina (TIA).— Cuando no se usa antisuero y el complejo antígeno-antisuero es visualizado por medio del vapor de agua. Evaluado para el diagnóstico de esquistosomiasis y amibiasis (Wilson 1980).

PRUEBAS INTRADERMICAS: Se han utilizado las siguientes:

a) Las que revelan reacciones tipo anafilácticas mediadas por anticuerpos (hipersensibilidad inmediata), frecuentemente usada en el estudio de las helmintiasis.

b) Las de lectura retardada (mediada por células), empleadas en el diagnóstico de enfermedades originadas por protozoarios: leishmaniasis, toxoplasmosis.

Los métodos de Inmunodiagnóstico fueron evaluados I. Kagan del CDC de Atlanta, para ser utilizados como métodos de rutina en las enfermedades parasitarias. Algunos métodos están en proceso de investigación.

PROGRESOS ALCANZADOS EN EL ECUADOR

A pesar de que notables investigadores y estudiosos ecuatorianos han contribuido al estudio inmunológico de las enfermedades parasitarias y micóticas hasta 1971, no encontramos en el índice de la "Bibliografía Médica Ecuatoriana" trabajos específicos bajo el Capítulo de Inmunología; se encuentran incluidos estos estudios de inmunidad en el capítulo correspondiente a cada patología.

La **Enfermedad de Chagas** es una de las enfermedades parasitarias a la que se le ha dado mayor atención en nuestro medio. En 1950, J. D. Rodríguez publica "Inmunidad en la enfermedad de Chagas", posteriormente (1958) aborda nuevamente el tema. La Reacción de Fijación de Complemento (FC), desde el inicio de la década del 50 se convierte en el instrumento de diagnóstico en la enfermedad de Chagas. El mayor porcentaje de positividad alcanzado con FC (en un lapso de 10 años hasta 1958), el 15% proceden de Guayaquil. En 1979 persisten cifras altas (24.24%) de RFC. J. D. Rodríguez (1967) investiga autoinmunidad en la cardiopatía chagásica, tratando de demostrar la presencia de auto-anticuerpos. A la Fijación de Complemento se han incorporado nuevos métodos: Hemoaglutinación indirecta, Latex-aglutinación.

Sobre enfermedad de Chagas existen más de 100 datos bibliográficos en el país, lo que ha sido recopilado por el conocido médico-historiador doctor Ju-

lio Alvarez Crespo y en su obra publicada en 1984 con gran espíritu crítico, analiza los criterios vertidos y deja la inquietud para que las futuras generaciones continúen.

La **leishmaniasis cutánea o mucocutánea** ha sido reportada desde 1910 (A. Valenzuela), manteniéndose la información por constataciones en diferentes áreas del país, siendo considerada como enfermedad parasitaria endémica en el litoral, oriente y zonas subtropicales de las provincias de Pichincha, Bolívar y Azuay. Como medio de diagnóstico indirecto, sólo se ha utilizado la reacción de Montenegro, pero no ha sido empleada para estudios epidemiológicos. Se ha utilizado como antígeno BAAR, con la Reacción de Fijación de Complemento, para precisar el diagnóstico de leishmaniasis visceral. En ocasiones hemos acudido al Center for Diseases Control (CDC) de Atlanta para poder explicar la causa de una leishmaniasis cutánea generalizada, con 308 úlceras. Recientemente, gracias a la participación del investigador japonés Y. Hashiguchi, se ha implementado en el Instituto Nacional de Higiene, el estudio de la leishmaniasis en el campo experimental, permitiendo un avance en el conocimiento de esta patología.

La **toxoplasmosis** es otra de las patologías que han sido estudiadas en el campo inmunológico. Los trabajos realizados al respecto, permanecieron inéditos desde 1943 hasta que el Profesor Julio Alvarez Crespo los incorpora en su obra *Historia de la Medicina Tropi-*

cal Ecuatoriana (1984). La primera cepa de toxoplasma fue obtenida de una ardilla (A. Macchiavello, 1943); posteriormente en 1944 reporta dos casos de encefalomiелitis congénitas, con estas cepas realiza estudios de inmunidad en animales de laboratorio y pruebas de protección en conejos.

En 1954 J. D. Rodríguez, realiza experiencias con una cepa de toxoplasma de origen aviario. En 1957 realiza estudios de Inmunidad en cobayos inoculados con toxoplasma muertos, obteniendo sueros hiperinmunes que sirvan de patrón positivo en sus pruebas serológicas con resultados muy satisfactorios. Esta fue incorporada como prueba de rutina en el Instituto Nacional de Higiene. En 1972 descartaron el uso de esta prueba y la reemplazaron por la Hemoaglutinación indirecta.

En 1983, R. Lazo realiza el estudio epidemiológico de toxoplasmosis con alumnos del III Año de Medicina y reúne 100 sueros de humanos y 100 de gatos. Con la colaboración del Prof. J. Frenkel se realiza la primera encuesta en el país, señalando que el 79% de los estudiantes eran positivos y el 63% de los gatos también.

La **amibiasis** es otra protozoonosis que requiere mayor atención por la frecuencia de casos graves; en un lapso de 6 meses se registraron 30 casos de necrosis aguda del hígado que fueron tratados con un nuevo fármaco. Estos fueron positivos a la HAI. En nuestro medio se practicaban pruebas de Latex y de IFI en laboratorios particulares.

Hace dos años aproximadamente se ha implementado métodos serológicos como pruebas de rutina en el recién creado Departamento de Inmunología de Enfermedades Tropicales del Instituto Nacional de Higiene. Desde entonces se realizan con mucha eficiencia las siguientes pruebas: La IFI, aplicada al estudio de la toxoplasmosis y cisticercosis; HAI, aplicada también a estas dos patologías; la Contrainmuno-electroforesis, aplicada a la cisticercosis, amibiasis, hidatidosis y toxocariasis. El método de ELISA se usa en toxoplasmosis, pero sólo en casos especiales.

En Larva Migratoria Visceral por *Toxacara* utilizamos el método de Inmunodifusión. En 1967 con J. D. Rodríguez realizamos una investigación en niños menores de 5 años que presentaban eosinofilia por sobre 25%, el suero de ellos fue sometido a extractos de *Toxacara* y *Ascaris*. En un suero se diagnosticó LMV. Esta experiencia fue presentada en la "Mesa Redonda" Zoonosis por Helminthos en animales domésticos.

En 1980, con la colaboración del CDC de Atlanta revisamos otras Helminthiasis, el estudio serológico demostró Filariasis por *Wuchereria Bancrofti* y *Dirofilaria*.

Filariasis de Bancrofti, en una paciente con filariasis y sospecha clínica de filariasis se estudió la serología en el CDC; ellos reportaron HAI para Filariasis Positivo 1:512 y Reacción de Bentonita-floculación: Positivo 1:10.

Oncocercosis.— Habiéndose descubierto 11 focos de oncocercosis en la provincia de Esmeraldas, un grupo de investigadores de la Unidad de Inmunología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Central presentó una valiosa contribución en el VII Congreso Latinoamericano de Parasitología con el tema "Seroimmunología de la Oncocercosis en el Ecuador". Hicieron el reconocimiento inmunológico de diversas fracciones antigénicas, dándose importancia a productos uterinos de *O. volvulus*.

Dirofilariasis.— Existiendo constataciones frecuentes de *Dirofilariasis* en perros, cuya observación fue presentada en Argentina en 1979, revisamos un grupo familiar que tenía contacto con un perro parasitado. 2 de 7 personas tuvieron títulos significativos para infección filariásica.— HAI 1:256. BF 1:10.

Angiostrongiliasis abdominal.— Es una patología nueva descrita por primera vez en nuestro país; el diagnóstico se realiza fundamentalmente por método serológico de Latex-aglutinación. Disponemos del antígeno correspondiente que nos ha proporcionado el descubridor de este parásito.

Los métodos serológicos son de gran utilidad en el diagnóstico de las parasitosis por Trematodes y Cestodes.

Paragonimiasis.— Además de las pruebas intradérmicas que se ha utilizado para diagnóstico epidemiológico en trabajo colaborativo con Yokogawa y col., Rumba y col., se utilizó como

antígeno *Paragonimus peruvians*. De acuerdo a los especialistas en Taxonomía, el *P. peruvianus*, *P. mexicanos* y el *P. ecuadoriensis* es una misma especie. Se realiza también RFC, IEF y doble difusión.

Hidatidosis.— En 1983 reportamos con C. Morán V. el primer caso con diagnóstico clínico prequirúrgico de Hidatidosis hepática poliquística de *E. Vogeli*. El diagnóstico inmunológico de Hemoaglutinación Indirecta orientó la investigación. Por la existencia de nuevos casos en el país es necesario proyectar un estudio epidemiológico con pruebas de HAI.

Cisticercosis.— Es un problema de salud pública en el país; considerándose que esta zoonosis afecta en mayores proporciones el Sur del Callejón Interandino. En el Seminario de Cisticercosis desarrollado en Loja se conoció la realidad del país frente al problema Teniasis - Cisticercosis. Reportamos algunos resultados de IEF en Cisticercosis humana, lo que indica la importancia de los métodos serológicos para precisar el diagnóstico. En el Seminario de Cisticercosis recomendaron las técnicas que se deben emplear: 1º) Hemoaglutinación indirecta en suero y LCR. 2º) Aglutinación directa en suero y LCR. 3º) IFE. 4º) IFI y 5º) ELISA.

Por la trascendencia e importancia que se ha dado a este Capítulo, es precisamente que en el año 1974 se invitó al Profesor Irving Kagan, Director de la División de Parasitología del CDC de Atlanta, para dictar el **Curso de Inmu-**

nología de las Enfermedades Parasitarias, en el Curso de Post-Grado de Patología Clínica de la Escuela de Graduados de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad de Guayaquil, con duración de más de 30 horas de clases teórico-prácticas. El Prof. Kagan presentó un trabajo de investigación "Sero epidemiología de los Indios Cayapas, Colorados y Aucas del Ecuador".

Por el mismo motivo y con el afán de motivar al Cuerpo Médico y actualizar el estudio inmunológico, con nuevos conceptos que ofrecen soluciones más adecuadas para combatir las grandes endemias parasitarias que afectan a Latinoamérica, establecimos en el VII Congreso Latinoamericano de Parasitología como tema oficial: "Las Enfermedades Parasitarias como Problema de Salud Pública". Al respecto el Prof. Amador Neghme en su Conferencia Magistral "Las enfermedades infecciosas y parasitarias en el mundo subdesarrollado" cita datos de prevalencia de algunas parasitosis en América Latina (sobre ciento treinta y seis millones de habitantes), "se destaca la amibiasis con 27.2 millones de individuos infectados, tiene un porcentaje estimativo de 20%; la uncinariasis con 40.8 millones tiene un 30% de infección; la ascariasis con 54.4 millones tiene un porcentaje de 40%; la toxoplasmosis con 40.8 millones de infestados tiene un 30%; la enfermedad de Chagas con 20.4 millones tiene un porcentaje estimativo de un 15%". Estas cifras, verdaderamente, constituyen un reto para la clase médica.

ESTUDIO INMUNOLOGICO DE LAS MICOSIS

Al igual que en las enfermedades parasitarias, en las micosis, particularmente, en las sistémicas, en el transcurso de las últimas décadas hemos observado un fenómeno que involucra a la Medicina Clínica y Experimental, me refiero a los adelantos realizados para el conocimiento del sistema inmune.

A pesar de que las enfermedades por hongos datan de siglos pasados, como la Aspergilosis visceral descrita por Virchow en 1856 con el nombre de Pneumonomicosis, su estudio fue relegado frente al apogeo de las enfermedades bacterianas. Es en 1916 que se realizan los primeros estudios serológicos de la entonces llamada blastomicosis suramericana.

En 1927, Fonseca y colaboradores da a conocer los primeros antígenos de *P. brasiliensis* para realizar pruebas cutáneas. A partir de la década del 40 que realizan numerosas investigaciones entre otras, Lacaz y colaboradores describen tres tipos de antígenos: Paracoccidiodina I, II, y III para pruebas cutáneas.

Posteriormente se describen fenómenos inmunológicos relacionados con la histoplasmosis, coccidioidomicosis y tuberculosis, llegando a conclusiones definidas en el aspecto inmunológico de las enfermedades pulmonares con el conocimiento de una serie de fenómenos de íntima relación entre sí.

En 1948, Salvín fijó el complemento con un filtrado de cultivo de *H. capsulatum* de fase micelial (histoplasmi-

na) en presencia de antisueros homólogos de conejos hiperinmunizados. Años después (1953) encontramos valiosas investigaciones como las de Mackinnon y colaboradores; Fava Netto y colaboradores (1961); Restrepo y colaboradores (1967); Yarzabal y col. (1972); Conti Díaz y col. (1973).

En 1962 se reporta los resultados de Encuestas serológicas para histoplasmosis en 81 Sanatorios de los Estados Unidos, utilizando la Fijación de Complemento.

A pesar de que la Técnica de Precipitación por doble difusión en gel de agar fue reportada por Ochterlony en 1948, es diez años después (1958), que Douglas Heinert aplicó el método en el diagnóstico de la histoplasmosis, el mismo que fue evaluado en el CDC de Atlanta en 1963.

En 1968, Seeliger en el Simposio de Micosis Sistémicas realizado en Londres, reporta la aplicación de algunas técnicas inmunológicas en el diagnóstico de Micosis Profundas.

Cabe mencionar que en 1962, R. Lazo introduce en el Ecuador el Test de Precipitación por doble difusión en gel de agar, en el estudio de la histoplasmosis y en 1968 aplica también esta técnica en el estudio de la Paracoccidiodomicosis. En 1972, publica en las Memorias del Primer Simposio Panamericano de Paracoccidiodomicosis (Sc. Pub. N° 254, PAHO/WHO) "Correlación serológica de la inmunodifusión en las Micosis Sistémicas"; estos estudios ratifican el fundamento de sensibilidad y especificidad de este método.

Esta prueba es considerada como un procedimiento de rutina en el Departamento de Micología del Instituto Nacional de Higiene desde 1962, practicada de manera continua con modificaciones hasta la presente.

Gracias a la experiencia obtenida con esta metodología hemos realizado una Encuesta Epidemiológica en la Cuenca del Río Guayas, con el objeto de establecer la prevalencia de la histoplasmosis y paracoccidioidomicosis, patologías que constituyen un Problema de Salud Pública en Ecuador.

PRUEBAS INTRADERMICAS

En micología se han empleado para detectar la hipersensibilidad a los antígenos fúngicos. A pesar de sus limitaciones es un instrumento de valor en la epidemiología.

En 1969, Levine y colaboradores demuestran un antígeno de la fase parasitaria, obtenida *in vitro*, de *Coccidioides immitis* (esferulina), más sensible que la coccidioidina, para las pruebas intradérmicas.

Se ha obtenido también excelentes reactivos de la fase levaduriforme de *H. capsulatum* y de *P. brasiliensis*, ya sea a partir de células rotas o por extracción prolongada con solución salina. Se ha obtenido actualmente purificación de antígenos sin perder su sensibilidad.

Nuestras experiencias demuestran el valor de la intradermoreacción en determinados casos.

Las reacciones cutáneas son de extraordinario valor en el estudio de la respuesta inmunitaria mediada por células, permitiendo determinar la hipersensibilidad retardada que se presenta en las formas clínicas inmunológicas benignas o la depresión de la hipersensibilidad retardada que se encuentran en los cuadros clínicos graves que tienden a la diseminación.