

Una nueva variante técnica de la prueba de aglutinación del látex para el diagnóstico de la hidatidosis humana

J.A.Guisantes* / N.G.A. Picardo**

RESUMEN

Se describe una nueva variante técnica de la prueba de aglutinación del látex para el diagnóstico de la hidatidosis humana, adaptada al empleo de partículas de látex poliestireno de $0,81 \mu$ de diámetro y antígeno estandarizado mediante análisis inmunolectroforético.

Se estudiaron 51 sueros de hidatidosis confirmadas quirúrgicamente y 90 sueros control de enfermos no hidatídicos y donantes sanos.

La sensibilidad del método fue de 86,2% y la inespecificidad global de 1,1%. Un caso de teniasis fue positivo.

Se plantean diversas consideraciones respecto a la interpretación de los resultados en serología hidatídica.

Introducción

Los primeros investigadores que emplearon partículas de látex como soporte antigénico fueron Singer y Plotz en 1956, que las aplicaron al diagnóstico serológico de la artritis reumatoide¹.

Desde entonces, la prueba de aglutinación de partículas de látex (AL) es ampliamente conocida y ha sido utilizada en el diagnóstico de

diversas enfermedades —amibiasis, triquinosis e histoplasmosis por citar algunas— sensibilizando las partículas en cada caso con el antígeno correspondiente. Su aplicación al diagnóstico de la hidatidosis se debe a Fischman^{2,3}.

Esta prueba ha tenido buena aceptación por su rapidez, especificidad y sensibilidad siendo varios los trabajos publicados sobre su empleo^{2,11}. Sin embargo, muchos parasitólogos no la han adoptado debido a que existen ciertas dificultades en la preparación de las partículas de látex sensibilizadas con antígeno hidatídico. En efecto, no todas las marcas de látex poliestireno son útiles y el revestimiento de la partícula por el antígeno requiere probar diversas concentraciones antigénicas y otras condiciones de la prueba hasta hallar las adecuadas, y aún así en ciertos casos no se consigue una adherencia estable del antígeno a la partícula inerte de látex.

Es objeto del presente trabajo presentar una nueva variante al método de AL actualmente recomendado que utiliza antígeno estandarizado mediante análisis inmunolectroforético y partículas de látex de $0,22 \mu$ de diámetro¹². Estas partículas son difíciles de conseguir en nuestro medio, por lo que nos vimos en la necesidad de modificar la técnica para poder emplearla en el diagnóstico serológico de la hidatidosis humana. Hicimos varias pruebas con partículas de látex de $0,81 \mu$ de diámetro —de fácil obtención en nuestro medio— y hemos desarrollado una variante metodológica que describiremos a continuación junto a los resultados obtenidos con ella.

Se han valorado la sensibilidad y

especificidad del método frente a sueros de hidatidosis y sueros control, respectivamente. Como prueba de referencia para valorar la especificidad de la AL se empleó la inmunolectroforesis (IEF) basando el criterio de positividad de esta última en la observación del arco "5" de Capron y col.¹³.

Material y métodos

Sueros

Se estudiaron los siguientes sueros:

— 51 sueros de pacientes de hidatidosis quirúrgicamente confirmadas.

— 30 sueros de pacientes con diversas enfermedades infecciosas y parasitarias que comprendían sueros de: Oxiuriasis (1), fiebre tifoidea (2), teniasis (3), amibiasis (4), giardiasis (5), tuberculosis (5), brucelosis (5) y sífilis (5).

— 30 sueros de pacientes con enfermedades no infecciosas ni parasitarias, pero capaces de dar reacciones cruzadas frente a antígenos hidatídicos¹⁴. Este grupo estaba formado por sueros de pacientes con: mielomas (2), carcinoma pulmonar (5), cirrosis hepáticas (5), collagenopatías (8), y neoplasmas hepáticos primarios y secundarios (10).

— 30 sueros de donantes sanos.

Antígeno

Se utilizó líquido hidatídico procedente de quistes hepáticos bovinos. Una vez extraído de los quistes el líquido hidatídico fue centrifuga-

* Servicio de Microbiología. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

** Departamento de Medicina Interna. Clínica Universitaria. Facultad de Medicina. Universidad de Navarra. Pamplona.

do, dializado y liofilizado ¹². Posteriormente fue estudiado mediante análisis inmunolectroforético para comprobar en él la presencia de la fracción 5 de Capron y col. ¹³ —específica de *Echinococcus sp.*— junto a otras fracciones parasitarias.

Para la sensibilización de las partículas de látex, el antígeno se usó a una concentración de 2 mg peso seco/ml de tampón glicina pH 8,2. Esta concentración óptima se determinó después de diversos ensayos frente a un grupo conocido de sueros hidatídicos y de donantes sanos ¹².

Sensibilización de las partículas de látex

Se utilizaron partículas de látex poliestireno de 0,81 μ de diámetro promedio (*). A 0,6 ml de la suspensión comercial de látex se le añaden 3 ml de tampón glicina pH 8,2 agitando para conseguir una suspensión homogénea. A esta suspensión se le agrega gota a gota 1 ml de la solución antigénica a la concentración óptima previamente determinada, agitando continuamente. Posteriormente se incubó 30 minutos a 37° en baño "maría" y 24 horas a 4° C. Después de esta incubación, las partículas sensibilizadas de látex están listas para ser utilizadas. Es necesario preparar también una suspensión control de partículas de látex no sensibilizadas. Para esto, a 0,6 ml de la suspensión comercial de látex se le añaden 4 ml de tampón glicina pH 8,2, obteniendo así la misma concentración final de partículas que en el caso del látex sensibilizado. Esta suspensión se incubó simultáneamente con la anterior.

Ejecución de la prueba

Se empleó la técnica descrita por Williams y Prezioso ⁶ usando placas de vidrio tipo Boerner (**). Se coloca una gota del suero inactivado a una dilución de 1:5 en tampón glicina y se le añade una gota de la suspensión de látex sensibilizado. Se mezcla con un palillo y después se agita 8 minutos por rotación a 120 rpm. Simultáneamente con el suero problema se debe estudiar un suero positivo y uno negativo conocidos.

* Bacto-Latex, Difco Laboratories, Detroit, Michigan, USA.

** Arthur H. Thomas Co., Philadelphia, Pennsylvania, USA.

El criterio de positividad para la prueba es la presencia de aglutinación evidente, observable a simple vista (fig. 1).

Todos los sueros positivos deben ser estudiados posteriormente con las partículas no sensibilizadas para despistar así la posibilidad de aglutinación inespecífica.



Fig. 1.—Prueba de aglutinación del látex. La fila superior de sueros corresponde a reacciones positivas con aglutinación clara y la fila inferior a reacciones negativas.

Inmunolectroforesis

Se empleó la técnica descrita por Guisantes y col. ¹⁵, basando el criterio de positividad en la observación del arco "5" de Capron y col. ¹³, específico de *Echinococcus sp.*

Resultados

En la tabla I están reseñados los resultados obtenidos con la AL en los 51 casos de hidatidosis. Como se observa, mediante este método se detectaron anticuerpos circulantes

Tabla I

| Localización del quiste | N.º de casos | AL (+) | AL (-) |
|-------------------------|--------------|--------|--------|
| Hepática | 43 | 37 | 6 |
| Pulmonar | 7 | 7 | 0 |
| Diafragmática | 1 | 0 | 1 |
| Total | 51 | 44 | 7 |

Resultados de la prueba de aglutinación del látex (AL) según la localización de la hidatidosis, en 51 casos de hidatidosis confirmados quirúrgicamente.

contra líquido hidatídico en 44 de los 51 sueros, lo cual da una tasa de sensibilidad de 86,2 %. Treinta y siete de los 43 casos hepáticos fueron positivos (86,04 %).

Uno de los tres sueros estudiados provenientes de personas parasitadas por *Taenia saginata* fue positivo en la AL, lo cual da una tasa de ines-

pecificidad de 3,3 % para el grupo de sueros de enfermedades infecciosas y parasitarias. Para el total de los 90 sueros no hidatídicos estudiados, la tasa de inespecificidad resultó ser de 1,1 %.

Ninguno de los sueros estudiados aglutinó las partículas de látex no sensibilizadas.

La correlación entre la AL y la IEF fue buena, tal como se observa en la tabla II. No hubo ningún suero positivo en IEF y negativo en AL. Por el contrario, hubo un suero positivo en AL y negativo en IEF.

Ninguno de los 90 sueros no hidatídicos fue positivo en la IEF.

Tabla II

| Número de sueros | | | |
|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| AL (+) IEF (+) | AL (+) IEF (-) | AL (-) IEF (+) | AL (-) IEF (-) |
| 43 | 1 | 0 | 7 |

Correlación de los resultados obtenidos con la prueba de aglutinación del látex (AL) y la inmunolectroforesis (IEF) en 51 sueros de hidatidosis confirmadas quirúrgicamente. El criterio de positividad en la IEF fue la presencia del arco "5" de Capron y cols.

Discusión

Los resultados obtenidos con las partículas de látex de $0,81 \mu$ de diámetro sensibilizadas según el método propuesto revelan que son apropiadas para su empleo en el diagnóstico de la hidatidosis.

Es conocido que la sensibilidad de un método de diagnóstico serológico de la hidatidosis está en relación con la localización y estado de la hidátide^{8,10,16,17,18}. Si bien en nuestro estudio la sensibilidad fue mayor para los casos de localización pulmonar —lo cual no es lo habitual— el bajo número de casos estudiados con respecto a los de localización hepática no permite sacar conclusiones valederas. Cabe recordar, por lo tanto, que los resultados que se obtengan tanto con éste como con cualquier otro método de diagnóstico serológico, variarán en función de la reactividad de los sueros incluidos en el estudio, lo cual a su vez está en relación con la localización y estado físico de la larva hidátide.

Es conocida la existencia de

comunidades antigénicas entre los mosaicos antigénicos de *Echinococcus granulosus* y *Taenia saginata*¹⁹. Ello explica que uno de los tres casos de teniasis estudiados fueran reactivos en la AL. Este hecho debe tenerse siempre en cuenta a la hora de interpretar los resultados y alcanza su mayor valor en aquellos países en los cuales es mayor la incidencia de parasitosis capaces de reaccionar en forma cruzada con los antígenos hidatídicos. Los tres casos de teniasis incluidos en este estudio fueron diagnosticados mediante examen coproparasitario en nuestro Servicio de Microbiología de la Clínica Universitaria de Navarra y correspondían a enfermos procedentes de Navarra, Guipúzcoa y Burgos, respectivamente.

Estos hallazgos jerarquizan el valor de la IEF basada en la identificación del arco "5" de Capron y col. En efecto, tanto en éste como en múltiples estudios anteriores, esta banda de precipitación sólo se ha identificado en el suero de pacientes parasitados por larvas del género *Echinococcus*.

Decimos género *Echinococcus*, y no *Echinococcus granulosus*, dado que recientemente dos grupos diferentes de investigadores han observado el arco "5" en sueros de enfermos parasitados por *Echinococcus multilocularis*^{20,21}.

Teniendo en cuenta esa posibilidad, la IEF sigue conservando su valor de prueba de referencia en el diagnóstico de la hidatidosis^{8,9,10,11,12,16}.

Como conclusión final diremos que el método de AL estudiado nos ha dado buenos resultados en sensibilidad y especificidad, lo cual unido a la sencillez y rapidez del método —y a lo económico en antígeno que resulta— lo hacen muy apropiado para introducirlo en nuestros hospitales como método de diagnóstico inmunológico de la hidatidosis. Los casos positivos al igual que con otros métodos no absolutamente específicos (hemaglutinación indirecta, electrosinéresis, etc.) deberán evaluarse teniendo en cuenta cada caso clínico, y confirmarse mediante IEF buscando la presencia del arco "5" de Capron y col^{8,13}.

Bibliografía

1. Singer JM, Plotz CM. *The latex fixation test application to the serologic diagnosis of rheumatoid arthritis*. Am J Med. 21, 888, 1956.
2. Fischman A. *Flocculation tests in hydatid disease*. J Clin Path. 13, 72, 1960.
3. Fischman A. *A rapid latex test for hydatid disease*. New Zealand Med J. 59, 485, 1960.
4. Szyfres B, Kagan IG. *A modified slide latex screening test for hydatid disease*. J Parasit. 49, 69, 1963.
5. González-Castro J. *Importancia de las pruebas de bentonita, látex y hemaglutinación indirecta en las campañas sanitarias contra la hidatidosis*. Rev Iber Parasit. 28, 553, 1968.
6. Williams JF, Prezioso U. *Latex agglutination test for hydatid disease using Böerner slides*. J Parasit. 56, 1.253, 1970.
7. Castagnari L, Idini F. *La reazione di agglutinazione del lattice su vetrino nella diagnosi dell'idatidosi*. Boll Ist Sieroter. Milan. 47, 447, 1968.
8. Capron A, Yarzabal LA, Vernes A, Fruit J. *Le diagnostic immunologique de l'échinococose humaine. (Bilan personnel à propos de 400 observations)*. Path Biol. 18, 357, 1970.
9. Quilice M, Assadourian Y, Ranque PH. *Le diagnostic immunologique de l'hydatidose. Etude de la valeur comparée de cinq techniques sérologiques*. Med Trop. 31, 207, 1971.
10. Guisantes JA, Varela-Díaz VM. *Las pruebas de aglutinación del látex y doble difusión en gel en el inmunodiagnóstico de la hidatidosis humana*. Bol Chile Parasit. 130, 54, 1975.
11. Varela-Díaz VM, Coltorti EA, Prezioso U, López Lemes MH, Guisantes JA, Yarzabal LA. *Evaluation of three immunodiagnostic tests for human hydatid disease*. Am J Trop Med Hyg. 24, 312, 1975.
12. Varela-Díaz VM, Coltorti EA. *Hidatidosis humana. Técnicas para el diagnóstico inmunológico*. Monog Cient Técn. N.º 7, Centro Panamericano de Zoonosis, OPS/OMS, Buenos Aires. 1974.
13. Capron A, Vernes A, Biguet J. *Le diagnostic immunoelectrophorétique de l'hydatidose*. En "Le kyste hydatique du foie". J Lyonnaises d'Hydatidologie. p. 27-40. Simep Ed. Lyon. 1967.
14. Kagan IG. *A review of serological tests for the diagnosis of hydatid disease*. Bull Wld Hlth Org. 39, 25, 1968.
15. Guisantes JA, Yarzabal LA, Varela-Díaz VM, Ricardes MI, Coltorti EA. *Standardization of the immunoelectrophoresis test with whole and purified hydatid cyst fluid antigens for the diagnosis of human hydatidosis*. Rev Inst Med Trop São Paulo. 17, 69, 1975.
16. Yarzabal LA, Capron A. *Aportes de la inmunoelectroforesis al diagnóstico inmunológico de la hidatidosis humana*. Tórax. 20, 168, 1971.
17. Torres JM, Guisantes JA, Alvarez I, Yarzabal LA. *The contribution of electrosyneresis to immunologic diagnosis of hydatidosis*. Bull Pan Am Hlth Org. 7, 41, 1973.
18. Yarzabal LA, Leiton J, López-Lemes MH. *The diagnosis of pulmonary human hydatidosis by the immunoelectrophoresis test*. Am J Trop Med Hyg. 23, 662, 1974.
19. Biguet J, Capron A, Tran Van Ky PH, D'Haussy R. *Etude immunoelectrophorétique comparée des antigènes de divers helminthes*. C R Acad Sci (Paris). 254, 3.600, 1962.
20. Yarzabal LA, Bout DT, Naquira FR, Capron A. *Further observations on the specificity of antigen 5 of "Echinococcus granulosus"*. J Parasit. 63, 495, 1977.
21. Varela-Díaz VM, Ecker J, Rausch RL, Coltorti EA, Hess V. *Detection of "Echinococcus granulosus" diagnostic arc 5 in sera from patients with surgically confirmed "E. multilocularis" infection*. Z Parasitenk. 53, 183, 1977.

A NEW VARIANT OF THE LATEX AGGLUTINATION TEST FOR THE DIAGNOSIS OF HUMAN HYDATID DISEASE

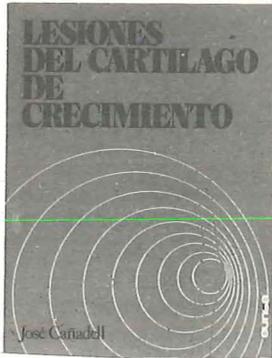
Summary

A new variant of the latex agglutination test using latex particles of $0,81 \mu$ diameter is described.

Hidatid cyst fluid antigen standardized by immunoelectrophoretic analysis was used.

Fifty-one human sera from surgically confirmed hydatidosis and ninety control sera from non-hydatid diseases and healthy donors were studied.

The method showed a sensibility of 86,2 % and a global inespecificity of 1,1 %. A human case of teniasis by *Taenia saginata* was positive. General considerations about the interpretation of results in human hydatid disease serology are made.



COLECCION CIENCIAS MEDICAS LIBROS DE MEDICINA

ATLAS DE HISTOPATOLOGIA

R.C. Curran

1979. ISBN 84-313-0613-0.
96 págs. 3.400 ptas.

FUNDAMENTOS DE QUIMICA ORGANICA

(Para médicos y biólogos)

Esteban Santiago y Félix M. Goñi

1977. ISBN 84-313-0238-0.
312 págs. 1.000 ptas.

LESIONES DEL CARTILAGO DE CRECIMIENTO

José Cañadell y cols.

1976. 264 págs. 900 ptas.

QUIMICA FARMACEUTICA EN PROBLEMAS

Antonio Monge

1977. ISBN 84-313-0481-2.
336 págs. 1.400 ptas.

EMBRIOLOGIA (Humana)

Luis María Gonzalo y José Ullán

1976. ISBN 84-313-0061-2.
216 págs. 1800 ptas.

FISIOLOGIA CLINICA CARDIO-RESPIRATORIA

Diego Martínez Caro

1974. ISBN 84-313-0347-6.
136 págs. 107 gráficos 500 ptas.

TECNICAS DE MICROCIROGIA

José M.ª Serra Renom y José Cañadell

1979. ISBN 84-313-0582-7.
100 págs. 550 ptas.

ATLAS DE PATOLOGIA MACROSCOPICA

R.C. Curran y E. L. Jones

1978. ISBN 84-313-0511-8.
148 págs. 3.200 ptas.

CARDIOLOGIA

Ayres & Gregory

1977. ISBN 84-313-0501-0.
704 págs. 3.000 ptas.

DE PROXIMA APARICION

FUNDAMENTOS DE ENDOCRINOLOGIA CLINICA

Hall y cols.

FUNDAMENTOS DE MICROBIOLOGIA

Alice Lorraine Smith



EUNSA

EDICIONES UNIVERSIDAD DE NAVARRA, S.A.
Pl. de los Sauces, 1 y 2 - Apdo. 396 - Tel. (948) 256850*
BARAÑAIN - PAMPLONA (España)