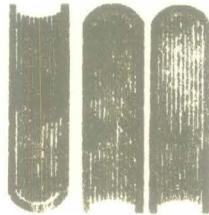


DICME  
2500-

3 NOV. 1901

# UNIVERSIDAD DE MONTERREY

DIVISION DE CIENCIAS NATURALES Y EXACTAS



UNIVERSIDAD  
DE MONTERREY

*Clasif.*

*040.54*

*E 77 r*

*1981*

*C. 1*

*Título:*

RELACION ENTRE EOSINOFILIA Y  
PARASITOSIS EN UNA POBLACION  
INFANTIL.

REPORTE DEL PROGRAMA DE EVALUACION FINAL

PRESENTADO POR:

*Autor:* MIREYA DEL CARMEN ESPINOSA ALANIS  
ALEJANDRA AIDA YOUNG CERECEDO

EN OPCION AL TITULO DE

LIC. EN QUIMICA CON ESPECIALIDAD EN  
ANALISIS CLINICOS

*No. Bo.  
Laminas de base 6.*

*folio* 801314

MONTERREY, N.L.

MAYO DE 1981

BIBLIOTECA  
UNIVERSIDAD DE MONTERREY

A NUESTROS PADRES CON AMOR, por todo el apoyo que nos  
brindaron durante el transcurso de la carrera.

A NUESTROS HERMANOS, con cariño.

A NUESTROS COMPAÑEROS Y AMIGOS, por su amistad y con-  
fianza.

A NUESTROS MAESTROS, con admiración por todas sus en-  
señanzas y consejos.

A nuestra asesora la Srita. Q.F.B. Laura Elvira García T.  
por la ayuda brindada para la realización de este trabajo.

## INDICE

	Página
Introducción.....	1
Material y Métodos.....	17
Resultados.....	24
Discusión y Conclusiones.....	34
Resumen.....	38
Bibliografía.....	39

## INTRODUCCION

Una respuesta inmune específica se lleva a cabo por medio de dos mecanismos efectores: 1) intervención de un producto celular de los tejidos linfoides, que se llama anticuerpo (inmunidad humoral) y 2) intervención de linfocitos sensibilizados específicamente (inmunidad de origen celular). (1,21,26).

Los anticuerpos reaccionan con la configuración que dió lugar a su producción (inmunógeno o antígeno), son proteínas que comparten muchas similitudes antigénicas estructurales y biológicas, pero al mismo tiempo presentan importantes diferencias en cuanto a composición primaria de ácidos amino, lo que hace que su función y actividad biológicas, sean sumamente específicas. Constan de 4 cadenas polipeptí

dicas unidas por enlaces disulfuro. Dos de estas cadenas son pequeñas, con peso molecular de 22,000 y se llaman cadenas ligeras. Las otras 2, con un peso molecular de 55,000, constituyen las cadenas pesadas. Cada molécula de inmunoglobulina posee 2 cadenas pesadas idénticas y 2 cadenas ligeras idénticas también.

En una clase dada de inmunoglobulinas, las cadenas pesadas corresponden a un tipo químico especial; estas cadenas son responsables de las diferencias antigénicas que se observan de una clase a otra. También es en estas cadenas donde residen las diferencias biológicas que separan las distintas clases.

Existen 5 variedades de cadenas pesadas designadas como  $\gamma$ ,  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\delta$  y  $\epsilon$  y corresponden a las inmunoglobulinas IgG, IgA, IgM, IgD e IgE.

A las cadenas ligeras pertenecen los tipos llamados kappa y lambda. Cada tipo de cadena ligera puede estar unido a cualquier variedad de cadena pesada, o en otras palabras, en cada una de las 5 clases de inmunoglobulinas pueden encontrarse ambos tipos de cadenas ligeras. (1,21,26).

Algunas enzimas proteolíticas como la papaína, pueden descomponer la molécula de inmunoglobulina en 3 fracciones: a) 2 fracciones son idénticas y pueden reaccionar con antígenos homólogos, pero no presentar aglutinación o precipitación, éstas son las fracciones Fab, b) el fragmento

Fc (fracción cristalizable) consiste de la porción C terminal de ambas cadenas.

La inmunoglobulina G humana comprende cerca de un 75% de las inmunoglobulinas del suero normal. Cuatro distintas subclases de esta inmunoglobulina son conocidas y su porcentaje de composición es: 66% para IgG<sub>1</sub>, 23% para IgG<sub>2</sub>, 7% para IgG<sub>3</sub> y 4% para IgG<sub>4</sub>. La homología estructural de estas 4 clases de IgG es muy alta, aproximándose a un 90%. Esta inmunoglobulina tiene la propiedad de atravesar placenta de la circulación materna a la fetal; tiene actividad antibacterial, antiviral y antitóxica in vivo, es moderadamente efectiva en reacciones de fijación de complemento (principalmente IgG<sub>1</sub> e IgG<sub>3</sub>) por la vía clásica; la IgG<sub>2</sub> es citofílica, esto significa que su región Fc se puede combinar con macrófagos, los cuales pueden entonces reaccionar con el antígeno contra el cual el anticuerpo fue formado. Su tiempo de vida media es de 23 días. (1,2, 3, 21).

La IgA es la inmunoglobulina sérica que ocupa el segundo lugar en cuanto a abundancia, es la que predomina en las secreciones como son las lágrimas, fluido nasal, fluido bronquial, secreciones gastrointestinales, bilis, orina, leche y calostro en su forma de IgA secretoria. Esta importante inmunoglobulina secretoria es producida en gran

cantidad por los tejidos linfoides que revisten el tubo digestivo y las vías respiratorias y genitourinarias. En las secreciones está combinada con una proteína llamada componente secretor (CS) cuyo peso molecular es de 70,000 y el cual está unido a la cadena de la molécula a través de enlaces disulfuro.

El componente secretor es producido por las células epiteliales no linfoides; el sitio tisular donde la combinación de éste con la IgA ocurre es dentro de las células epiteliales de la superficie de la mucosa o en los espacios extracelulares que rodean a estas células. Esta combinación aumenta grandemente la estabilidad química de la inmunoglobulina A en presencia de agentes desnaturalizantes. De esta manera provee una función protectora en el medio ambiente externo.

Las moléculas de IgA no activan el complemento por la vía clásica, pero pueden hacerlo a través del sistema de la properdina. Aunque la IgA no atraviesa placenta, contribuye a las defensas inmunitarias del recién nacido por su alta concentración en el calostro. Su promedio de vida media es de 5 a 6 días. (1,2,3,21).

La inmunoglobulina M existe como un pentámero en su forma original. Cinco subunidades monoméricas 7S están covalentemente unidas por medio de enlaces disulfuro en un pentámero 19S. Son las inmunoglobulinas de mayor tamaño, lo que

explica su predominancia en el espacio intravascular. Estas macromoléculas son también muy activas respecto a aglutinación de partículas antigénicas, como bacterias y glóbulos rojos, y fijan muy eficazmente el complemento. Esta clase de inmunoglobulina es la primera en aparecer en una respuesta inmune primaria. Cuando un antígeno extraño penetra a un huésped por primera vez, se inician casi simultáneamente las síntesis de anticuerpos IgM e IgG; pero el nivel de anticuerpos IgM alcanza un máximo en pocos días, para luego disminuir más rápidamente que los anticuerpos IgG. (1,26).

La inmunoglobulina D se encuentra unida a la membrana de los linfocitos B; constituye 1/500 de la concentración de inmunoglobulinas en suero total. Su coeficiente de sedimentación es de 7S, su peso molecular es de 170,000 a 180,000 y contiene cerca del 12% de carbohidratos. Su función biológica permanece aún bajo intensa investigación. (1,2,3,26).

La inmunoglobulina E ha sido reconocida por su propiedad de mediadora en reacciones de hipersensibilidad inmediata. El tipo de reacción más rápido que se conoce es la anafilaxia. Se caracteriza por una respuesta fulminante que se presenta en pocos minutos, y puede ser, sistémica (generalizada) o local (cutánea).

La IgE no parece diferir significativamente de las otras in

munoglobulinas en peso molecular, composición de aminoácidos, contenido de carbohidratos y movilidad electroforética. A pesar de que en un tiempo se pensó que las reaginas eran anticuerpos univalentes, después se encontró que pueden aglutinar eritrocitos unidos a alergenos homologos; una comparación de IgE e IgG en el mismo suero demostró igual actividad de hemaglutinación. La IgE es por lo tanto bivalente. La molécula consiste de las 4 cadenas usuales, las cadenas pesadas poseen su determinante antigénico  $\epsilon$ . La IgE difiere de la IgG y la IgM en su incapacidad para fijar el complemento. La piel y los tejidos respiratorios son los más sensibilizados por dicha inmunoglobulina, sus propiedades de fijación a la piel residen en el fragmento Fc, ya que su supresión por digestión enzimática o su alteración por calentamiento le hacen perder su actividad biológica, por ejemplo, la anafilaxia cutánea. Una vez que se ha fijado a las células blanco de la piel, el antígeno puede combinarse con los fragmentos Fab. Esto significa liberación de mediadores por las células. Además de esta capacidad de fijación in vivo, estos anticuerpos pueden unirse a células cebadas y basófilos aislados in vitro. Como las células cebadas son reservas importantes de mediadores con gran actividad farmacológica, por ejemplo histamina, se comprueba entonces que los anticuerpos IgE se unían a estas células in vivo. (1,21,26).

Las reagentas IgE pueden ser detectadas in vivo por pruebas directas en la piel y por la prueba de Praunitz-Kustner (P-K), que consiste en inyectar en la piel de un receptor normal suero de un individuo positivo; 24 horas más tarde se inyecta en el mismo foco cutáneo el antígeno específico. Si el suero contenía reagina, se observa una reacción de hipersensibilidad inmediata.(1,21,26).

El peso de la inmunoglobulina E es de 190,000; el contenido de carbohidratos es de 12%; el coeficiente de sedimentación de 7S y su tiempo de vida media es de 2 días. Una importante propiedad aprovechada en su estudio es su termolabilidad, calentando el anticuerpo a 56°C durante 2 a 4 horas se altera el fragmento Fc de la molécula perdiendo así su capacidad para fijarse a receptores de células mediadoras. La concentración en suero de individuos normales de esta inmunoglobulina es de 0.006 - 0.1 mg/ml, lo que equivale a 30 - 500 unidades internacionales por ml. (1,2,3,4, 21).

Algunas situaciones clínicas donde los niveles de IgE pueden ser importantes para diagnóstico son: a) Rinitis alérgica, asma alérgica, dermatitis atópica; se encuentran niveles moderadamente elevados (4,21), b) Síndrome de Wiskott Aldrich; se presentan niveles elevados en estos pacientes que exhiben eccema, c) Síndrome de hipergamaglobulinemia E, d) Algunas infecciones parasitarias producen niveles eleva

dos de IgE, e) Concentraciones elevadas se han asociado con eosinofilia, principalmente en enfermedades alérgicas y parasitosis. (4,5,7,12,13).

Las respuestas inmunológicas del huésped a la infección por el parásito dependen esencialmente de los mismos principios que gobiernan las respuestas a otros agentes infecciosos, pero incluyen interacciones de huésped-parásito más complejas.

El desarrollo lento del campo de la inmunoparasitología suele atribuirse sobre todo a varios factores. En primer lugar, por los ciclos vitales complejos de los parásitos y su especificidad de huésped, ha resultado difícil cultivarlos *in vitro*, de manera que la disponibilidad de materiales antigénicos para análisis ha sido limitada. En segundo lugar, la complejidad de sus ciclos de desarrollo. En tercer lugar, no se ha logrado éxito para obtener cepas atenuadas que permitieran la vacunación con los métodos utilizados normalmente en otros campos de la microbiología. El actual renacimiento en los campos de la inmunología y la inmunopatología ha estimulado el interés por el papel que desempeñan los factores inmunológicos en los sistemas huésped-parásito, y estos agentes han pasado a ser modelos útiles para el estudio de respuestas inmunológicas, por ejemplo, la producción de IgE.

Los parásitos que afectan al hombre se agrupan como protozoarios y helmintos, que además de sus diferencias morfológicas presentan otras características que establecen el grado y el tipo de respuestas patológicas e inmunológicas. (26,27).

En las infecciones debidas a helmintos son en las que se han encontrado niveles elevados de IgE, sin embargo la literatura nos reporta niveles elevados también en infecciones por protozoarios. Tal es el caso de la amibiasis intestinal, donde se han encontrado valores de concentración de esta inmunoglobulina de 480 - 19,000 UI/ml. (6,7).

Los helmintos se pueden agrupar en función de los lugares que ocupan: 1) intestino, 2) intestino y tejidos y 3) tejidos.

Las tenias adultas y los oxiuros sólo viven en el intestino. En su relación con el huésped, no se han podido demostrar respuestas humorales, ni de origen celular en el caso de las primeras, no así, en el caso de los oxiuros donde se han encontrado valores de 500 - 3700 UI/ml de concentración de IgE. (3).

El segundo grupo de helmintos se caracteriza por ciclos vitales más complejos, en los cuales los parásitos adultos viven en tubo digestivo, y los tejidos son invadidos por larvas migratorias. Estas variedades de infecciones parasitarias corresponden a Ascaris lumbricoides, uncina

rias y Trichinella spiralis. El cuadro clínico puede ser silencioso, con eosinofilia, infiltración pulmonar y gran hipergamaglobulinemia. A diferencia de Ascaris lumbricoides y uncinarias, Trichinella spiralis se desarrolla en la mucosa del intestino. En una semana los gusanos hembras vierten a la circulación larvas inmaduras que recorren todo el organismo e invaden los músculos estriados; en el intestino aparece una reacción inflamatoria aguda, acompañándose de producción de anticuerpos humorales y de inmunoglobulina E. (27,29).

En el tercer grupo se encuentran, Schistosoma mansoni, S. haematobium y S. japonicum. Cuando sus cercarias han atravesado la piel, pasan primero al pulmón y finalmente a las venas pélvicas o mesentéricas. En las vénulas van madurando hasta gusanos adultos, y la hembra deposita huevos, de los cuales algunos llegan al hígado, donde dan lugar a una respuesta celular intensísima, característica de la infección. Esta fase temprana aguda de la esquistosomiasis se caracteriza por intensa actividad reticuloendotelial, formación de anticuerpos contra tejidos somáticos de los parásitos y contra sus productos metabólicos. (5,8,26,27).

En el caso de los protozoarios parásitos del intestino, la falta de respuesta inmune puede deberse a falta de invasión tisular. Pero cuando ésta sucede, como en el caso de Enta-

moeba histolytica, son estimuladas varias respuestas inmunes específicas, y es cuando se producen anticuerpos humorales. (6,7,26).

Un aspecto que no se observa en las infecciones por protozoarios, pero sí en las debidas a helmintos es una gran sensibilización cutánea por anticuerpos de tipo reagina (IgE).

En general, se puede afirmar que existen cifras altas de inmunoglobulinas E en los sueros de los habitantes de regiones donde las enfermedades parasitarias son endémicas. Se postuló que las inmunoglobulinas E podrían constituir un mecanismo de defensa local primario, produciendo aumento de permeabilidad vascular y permitiendo la llegada al foco crítico de componentes activos del sistema de defensa celular y humoral del huésped.

Muchas infecciones parasitarias muestran respuestas de hipersensibilidad, como por ejemplo, en niños infectados por Ascaris lumbricoides se caracterizan clínicamente por urticaria, erupciones, asma y otras manifestaciones alérgicas. Se aprovecha para el diagnóstico el hallazgo común de eosinofilia, ya que es una condición de muchos casos clínicos, particularmente de reacciones de tipo de hipersensibilidad inmediata e infecciones por helmintos. En este último caso existe evidencia que soporta el concepto de que los eosinófilos y las células cebadas actúan junto con el complemento y proveen un mecanismo altamente efectivo para la muer-

te de dichos parásitos. (10,12,13).

Los eosinófilos representan de 1 a 3% en los leucocitos de la sangre circulante. Valores superiores a un 10% son considerados como eosinofilia. (5).

Algunas de las causas de eosinofilia son: parasitosis, padecimientos alérgicos, dermatosis, padecimientos infecciosos y sus convalecencias, enfermedades del colágeno, neoplasias malignas, trastornos endocrinos, procesos osteoclásticos, post-esplenectomía, post-radiaciones, administración de medicamentos, Síndrome de Löffler y eosinofilia tropical.

Ciertos helmintos producen el cuadro conocido como larva migratoria visceral, el cual consiste en que sus larvas logran invadir las vísceras extraintestinales de huéspedes no naturales, o en condiciones inadecuadas las de los huéspedes naturales, lo que tiene por resultado el ataque de las larvas por células fagocitarias, que las aíslan en lesiones granulomatosas típicas. Siendo durante esta situación cuando se produce eosinofilia.

Los parásitos que principalmente causan este cuadro son: Ascaris lumbricoides, Ancylostoma duodenale, Necator americanus, Toxocara canis y I. cati. (27).

En el caso de Trichinella spiralis se puede presentar eosinofilia hasta de un 80%. (19,20,29).

Se han reportado también que incrementos de eosinófilos se

pueden desarrollar después del tratamiento de infecciones debidas a Schistosoma mansoni y Wuchereria bancrofti. (17,18).

La razón por la cual se presenta eosinofilia en algunas parasitosis, se debe a la liberación de antígenos por parte del parásito, algunos de los cuales interactúan con anticuerpos unidos a células cebadas lo que ocasiona su degranulación, liberándose varias sustancias vasoactivas como histamina, serotonina, sustancia de reacción lenta de la anafilaxia (SRL-A) y factores quimiotácticos para eosinófilos. Estos últimos junto con la histamina tienen la capacidad de elevar la población de eosinófilos. (11).

El papel del eosinófilo en la defensa del huésped contra las infecciones por parásitos no ha sido completamente dilucidado, sin embargo existen evidencias de que estas células modulan las reacciones de hipersensibilidad imediata producidas por la liberación de antígenos del parásito. Por otra parte, los eosinófilos liberan superóxidos que pueden dañar al parásito directamente o a través de la producción de radicales hidroxilo y  $O_2$ . (13).

Para la determinación de la concentración de la inmunoglobulina E se emplean varios procedimientos como son radioinmunoensayo, inmunodifusión radial e inmunoelectroforesis. Dentro de este último se incluye la técnica de Laurell, la

cual se basa en la reactividad de la proteína a determinar con un antisuero específico.

En los métodos inmunolectroforéticos cuantitativos se lleva a cabo una migración electroforética de antígenos dentro de un gel que contiene anticuerpos.

Si se seleccionan las condiciones de la electroforesis, la mayor parte de las moléculas de anticuerpos no se moverán en el gel, pero sí las moléculas de antígenos. Entre estas condiciones se encuentran la viscosidad del medio, el voltaje del campo eléctrico, el pH y otros factores.

En general, solamente aquellas proteínas que tienen una gran velocidad de migración electroforética anódica pueden cuantificarse por estas técnicas. Las velocidades de migración anódica pueden aumentarse para muchas proteínas por acetilación, formilación o carbamilación. Estos procedimientos reducen el valor del pK para todas las proteínas, de manera que aumentan su carga neta negativa a un pH de 8.6. (22,23).

Al inicio de la electroforesis, las moléculas de antígenos migrarán dentro del gel que contiene los anticuerpos; como el número de moléculas de antígenos excede al número de moléculas de anticuerpos, se formarán pequeños inmunocomplejos solubles. Estos complejos continúan la migración con una velocidad baja en el gel, y a medida que se efectúa la electroforesis se forman más y más pequeños complejos, has

ta que suficientes anticuerpos se han unido para que la pre cipitación pueda ocurrir. (25).

La técnica de Laurell (electroinmunoensayo) es un método simple, rápido y reproducible para la estimación de la concentración de una sola proteína en una mezcla de proteínas. Fue descrita primeramente por Laurell en 1966 e involucra la electroforesis de proteínas dentro de la agarosa que con tiene el antisuero monoespecífico requerido.

Una vez que se efectúa la electroforesis de la muestra en u na sola dirección, se toma la altura de los picos formados desde los orificios de tamaño constante; esta altura será directamente proporcional a la concentración de la proteína específica bajo investigación.

Se obtiene un precipitado en forma de cohete debido a que el número de anticuerpos es menor que el de los antígenos cuando éstos inician la migración desde los orificios al interior de la agarosa; los inmunocomplejos formados migran hacia el ánodo y aumentan continuamente durante la electrofore sis hasta alcanzar el punto de equivalencia para la precipi tación. Al principio se forma el precipitado en la parte inferior y posteriormente hacia arriba formando el cohete.

Para mayor exactitud de los valores encontrados se utiliza como referencia una curva de calibración hecha con estándares de concentración conocida. (24,28).

Por todo lo expuesto anteriormente, este trabajo tiene como objetivo determinar la concentración de la inmunoglobulina E en suero de niños parasitados, así como su porcentaje de eosinófilos.

Para obtener estos datos se realizaron coproparasitoscópicos seriados por la técnica de centrifugación-flotación de Faust y recuentos diferenciales para determinar el porcentaje de eosinófilos.

## MATERIAL Y METODOS

Para la realización de este trabajo, fueron recolectadas un total de 110 muestras fecales procedentes de niños de 4 a 6 años del Centro de Convivencia y Desarrollo Infantil del municipio de Garza García, N.L.

Las muestras para su examen coproparasitológico seriado, fueron procesadas en el Laboratorio de Análisis Servicio Social Labastida-UdeM, de Enero a Abril de 1981.

A los niños cuyo coproparasitológico resultó positivo, se les tomó una muestra sanguínea con el objeto de determinar el porcentaje de eosinófilos y su relación con la parasitosis en cuestión.

Se intentó cuantificar la inmunoglobulina E por inmunoelec

troforesis de acuerdo a una modificación de la técnica de Laurell (Electroinmunoensayo) para llegar a establecer una relación entre parasitosis, eosinofilia y concentración de dicha inmunoglobulina.

## METODOS

### I. Examen Coproparasitoscópico.

Técnica centrifugación - flotación con sulfato de cinc de Faust.

- a) Se prepara una suspensión fecal, con una parte de la muestra de heces, aproximadamente en 10 partes de agua. Se centrifuga por 10 minutos a 2,500 rpm, se de canta el sobrenadante.
- b) Se agrega nuevamente agua rompiendo el sedimento por agitación. Se centrifuga y se decanta el sobrenadante.
- c) Se agrega el sulfato de cinc (R-1), rompiendo el sedimento. Se centrifuga.
- d) Con asa bacteriológica se toman 2 muestras de la película superficial, se colocan en un portaobjetos lim pio, se añade una gota de lugol (R-2), se coloca un cubreobjetos y se lleva a cabo el examen microscópico.

### II. Recuento Diferencial.

- a) Se prepara un frotis sanguíneo. Se deja secar.
- b) Se fija con metanol durante 2 minutos. Se seca.
- c) Se sumerge el frotis en la solución de eosina\* por 30 segundos. Se lava con agua y se deja secar.
- d) Se sumerge el frotis en la solución de azul de metileno\* por 30 segundos. Se lava con agua y se deja secar.
- e) Se observa el frotis al microscopio.

### III. Inmunolectroforesis.

#### 1. Carbamilación.

Se mezclan volúmenes iguales de suero problema o estándares de concentración conocida con solución preparada recientemente de cianato de potasio 2 M (R-6). Se deja reaccionar a temperatura ambiente durante 24 horas.

#### 2. Preparación de las placas.

- a) Colocar 8 ml de la agarosa conteniendo el anti-suero monoespecífico\*\* al 4% (R-10) sobre las placas de vidrio de 10 x 5 cm colocadas sobre una plataforma horizontal.
- b) Esperar 15 minutos para que solidifiquen.
- c) Colocar las placas en la plantilla y hacer los orificios de 2.5 mm de diámetro con el perfora-

\* SIGMA, Hemocolorante rápido.

\*\* Behringwerke A G.

dor del gel a 2 cm de uno de los extremos de las placas. La distancia entre el centro de un orificio y el centro del siguiente debe ser de 8 mm.

d) Aplicar 5  $\mu$ l de la muestra y los estándares en los orificios.

### 3. Electroforesis.

a) Colocar las placas en la cámara de electroforesis y disponer los contactos, hechos con papel filtro Whatman No. 1, de manera que se establezca unión con la solución buffer pH 8.6 (R-4).

b) Conectar el sistema enfriador ( $10^{\circ}\text{C} \pm 2$ ).

c) Efectuar la electroforesis aplicando un voltaje directo de 280 a 300 V para generar de 8 a 10 volts/cm en el gel, durante 30 minutos.

### 4. Desproteínización.

Después de la electroforesis se colocan las placas en solución de cloruro de sodio 0.1 M (R-9) durante 15 minutos, con el propósito de remover las proteínas no precipitadas.

### 5. Tinción.

La coloración de los inmunoprecipitados se realiza con la solución colorante (R-7) por 10 minutos.

La decoloración de las placas se realiza con la solución decolorante (R-8) por 10 minutos.

#### 6. Análisis cuantitativo.

La medición de la altura de los picos puede efectuarse utilizando una regla; se mide la distancia desde la parte superior del mismo hasta el centro del orificio donde se aplica la muestra.

El cálculo de la concentración de la inmunoglobulina en una muestra no conocida, puede efectuarse por comparación de la altura del pico con una curva de calibración obtenida de las alturas de los picos de los estándares utilizados.

## REACTIVOS

### (R-1). Solución de sulfato de cinc.

Sulfato de cinc..... 333 g  
Agua.....1000 ml

Se disuelve el sulfato de cinc en el agua. Se filtra y se ajusta la densidad a 1.18.

### (R-2). Lugol (solución yodo-yodurada).

Cristales de Iodo..... 5 g  
Ioduro de potasio.....10 g  
Agua destilada.....1000 ml

Se disuelven los reactivos en el agua destilada y se guarda la solución en frasco ámbar.

### (R-3). Metanol.

### (R-4). Buffer barbital.

Barbital de sodio (5,5 dietilbarbiturato de sodio).....41.2 g  
Barbital (ácido dietilbarbitúrico).....8.0 g  
Agua destilada.....10.0 l

Se disuelven los reactivos en el agua destilada. Ajustando el pH a 8.6 con ácido clorhídrico 0.1 N o con hidróxido de sodio 0.1 N.

(R-5). Agarosa al 1%.

Agarosa.....1.0 g  
Buffer barbital.....1000.0 ml

Se disuelve la agarosa en el buffer barbital. Se calienta si es necesario.

(R-6). Cianato de potasio 2M.

Cianato de potasio.....4.05 g  
Agua destilada.....25.00 ml

Se disuelve el cianato de potasio en el agua y se afora a 25 ml.

(R-7). Solución colorante de azul de Kenacid.

Azul de Kenacid.....1.0 g  
Acido acético.....100.0 ml  
Etanol.....450.0 ml  
Agua destilada.....450.0 ml

Se pesa el colorante y se disuelve en el ácido acético, etanol y agua destilada. Se conserva en frasco ámbar con tapón esmerilado.

(R-8). Solución decolorante.

Acido acético.....100.0 ml  
Etanol.....250.0 ml  
Agua destilada.....650.0 ml

Se mezclan estas sustancias y se conserva en frasco ámbar con tapón esmerilado.

## RESULTADOS

De los 110 estudios coproparasitológicos seriados realizados, 66 resultaron positivos con una o más especies de parásitos protozoarios y/o helmintos, lo cual representa un 60% de la población infantil estudiada.

De los niños parasitados a 57 se les tomó una muestra sanguínea y se determinó el porcentaje de eosinófilos. Los resultados son dados en tablas (3,4,5,6 y 7) con el fin de visualizar mejor la relación entre ambos hallazgos.

Las parasitosis que estos niños presentaron fueron, 32 casos (56.14%) de parasitosis simples, donde 15(26.31%) eran debidas a protozoarios y 17(29.83%) a helmintos. El resto de la población, o sea 25(43.86%) presentó parasi-

tosis múltiple, es decir, 2 o más especies distintas. (tablas 1 y 2).

Dentro de las parasitosis simples causadas por protozoarios, se encontró Giardia lamblia en 9 de las muestras, lo que representa un 15.78% del total. Le siguen en frecuencia Entamoeba histolytica y Entamoeba coli observadas en 3 de las muestras y representando cada especie un 5.26%. (tablas 3 y 4).

En las parasitosis simples por helmintos, el más frecuente fue Hymenolepis nana encontrado en 11 muestras, lo que equivale a un 19.30% del total, siguiéndole Ascaris lumbricoides en 5 (8.77%) y por último Trichuris trichiura en una muestra (1.75%). (tablas 5 y 6).

Con respecto a las parasitosis múltiples, las especies encontradas correspondían también a las ya mencionadas.

En este caso, dentro de los protozoarios, G. lamblia fue nuevamente el de mayor frecuencia, encontrándose en 20 de las muestras, de las 25 que presentaron parasitosis múltiple. Le siguieron E. coli en 14 de las muestras y E. histolytica en 8. (tabla 7).

La frecuencia de los helmintos fue: H. nana en 12 muestras y A. lumbricoides en 6. (tabla 7).

Respecto al porcentaje de eosinófilos, éste se encuentra ele

vado en parasitosis causadas por helmintos ya sea simples o múltiples, ya que en general se observa un 10% o más. (tabla 6).

En las parasitosis por protozoarios el porcentaje es relativamente bajo, es decir menor de un 10%, a excepción de 2 casos que presentaron eosinofilia de un 32 y 38% en parasitosis múltiples causadas por E. histolytica, E. coli y G. lamblia. (tabla 7).

Tabla 1

Parasitosis simples		
Protozoarios	Helmintos	Total
15 (26.31%)	17 (29.83%)	32 (56.14%)

Tabla 2

Parasitosis múltiples			
Protozoarios	Helmin- tos	Protozoarios y helmintos	Total
8(14.03%)	0	17(29.83%)	25(43.86%)

Tabla 3

Porcentajes de parasitosis simples  
causadas por protozoarios

Especie	No. de muestras	frecuencia porcentual
1. <u>G. lamblia</u>	9	15.78%
2. <u>E. histolytica</u>	3	5.26%
3. <u>E. coli</u>	3	5.26%
Total	15	26.31%

Tabla 4  
Parasitosis simples causadas por  
protozoarios y su relación con el  
porcentaje de eosinófilos

	Especie	% de eosinófilos
1.	<u>G. lamblia</u>	6
2.	<u>G. lamblia</u>	7
3.	<u>G. lamblia</u>	6
4.	<u>G. lamblia</u>	5
5.	<u>G. lamblia</u>	3
6.	<u>G. lamblia</u>	8
7.	<u>G. lamblia</u>	6
8.	<u>G. lamblia</u>	6
9.	<u>G. lamblia</u>	7
10.	<u>E. histolytica</u>	10
11.	<u>E. histolytica</u>	7
12.	<u>E. histolytica</u>	7
13.	<u>E. coli</u>	7
14.	<u>E. coli</u>	2
15.	E. coli	4

Tabla 5  
 Porcentajes de parasitosis simples  
 causadas por helmintos

Especie	No. de muestras	Frecuencia porcentual
1. <u>H. nana</u>	11	19.30%
2. <u>A. lumbricoides</u>	5	8.77%
3. <u>I. trichiura</u>	1	1.75%
Total	17	29.83%

Tabla 6

Parasitosis simples causadas por  
helminetos y su relación con el  
porcentaje de eosinófilos

	Espezie	% de eosinófilos
1.	<u>H. nana</u>	12
2.	<u>H. nana</u>	11
3.	<u>H. nana</u>	10
4.	<u>H. nana</u>	15
5.	<u>H. nana</u>	8
6.	<u>H. nana</u>	10
7.	<u>H. nana</u>	13
8.	<u>H. nana</u>	12
9.	<u>H. nana</u>	7
10.	<u>H. nana</u>	12
11.	<u>H. nana</u>	7
12.	<u>A. lumbricoides</u>	18
13.	<u>A. lumbricoides</u>	12
14.	<u>A. lumbricoides</u>	10
15.	<u>A. lumbricoides</u>	10
16.	<u>A. lumbricoides</u>	11
17.	<u>T. trichiura</u>	7

Tabla 7

Parasitosis múltiple y su relación con el porcentaje de eosinófilos

	Especies	% de eosinófilos
1.	<u>G. lamblia</u> , <u>E. coli</u>	8
2.	<u>G. lamblia</u> , <u>E. coli</u>	7
3.	<u>G. lamblia</u> , <u>E. histolytica</u>	6
4.	<u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u>	9
5.	<u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u> , <u>G. lamblia</u>	7
6.	<u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u> , <u>G. lamblia</u>	10
7.	<u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u> , <u>G. lamblia</u>	32
8.	<u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u> , <u>G. lamblia</u>	38
9.	<u>H. nana</u> , <u>E. coli</u>	16
10.	<u>H. nana</u> , <u>E. coli</u>	14
11.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u>	9
12.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u>	15
13.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u>	7

Tabla 7  
(continuación)

	Especies	% de eosinófilos
14.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u>	8
15.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u>	10
16.	<u>H. nana</u> , <u>E. histolytica</u>	11
17.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u> , <u>E. coli</u>	10
18.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u> , <u>E. coli</u>	9
19.	<u>H. nana</u> , <u>G. lamblia</u> , <u>E. coli</u>	9
20.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>E. coli</u>	11
21.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>G. lam-</u> <u>blia</u>	9
22.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>G. lam-</u> <u>blia</u>	15
23.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>G. lam-</u> <u>blia</u>	17
24.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>G. lam-</u> <u>blia</u>	9
25.	<u>A. lumbricoides</u> , <u>H. nana</u> <u>E. histolytica</u> , <u>E. coli</u> <u>G. lamblia</u>	15

## DISCUSION Y CONCLUSIONES

El objetivo inicial de este trabajo era establecer una relación entre parasitosis, eosinofilia y concentración de inmunoglobulina E. Sin embargo, debido a las circunstancias que se presentaron no fue posible realizar la cuantificación de dicha inmunoglobulina, por lo que sólo se determinó el porcentaje de eosinófilos en los niños parasitados.

Con el material disponible y utilizando la técnica de Laurell se llevó a cabo la inmunolectroforesis. Sin embargo, no se logró la estandarización del método, ya que durante los ensayos realizados solamente en las muestras problema se observó la formación de inmunoprecipitados en forma de cohete, no así en los estándares de concentración conocida.

Para la cuantificación de inmunoglobulinas, la técnica de Laurell establece el empleo de buffer barbital pH 8.6, agarosa entre 1-1.5% preparada con el buffer, un voltaje directo de 280 V, una corriente por cámara de 40 mA, una fuerza de 8-10 volts/cm en el gel, el empleo de contactos de papel filtro Whatman No. 1 con más de 2 capas y un tiempo de electroforesis de 3 horas.

En el presente trabajo se logró la formación de los inmuno complejos realizando primero la carbamilación de los sueros y estándares sin previa dilución de los mismos.

Se utilizó el buffer barbital pH 8.6 (R-4), agarosa con antisuerdo al 4% (R-10), ya que se trata de una inmunoglobulina de muy poca concentración en suero.

El voltaje directo que se empleó fue de 280 V, lo que permitió generar 8 volts/cm en el gel con un amperaje de 36mA.

Los contactos que se utilizaron para poder cerrar el circuito electroforético se hicieron con 5 capas de papel filtro Whatman No. 1, después de haber probado con papeles Whatman de diferentes números y distintas combinaciones.

Se calentó previamente el aparato (utilizando placas de 10 x 10 cm con agarosa al 1%) durante 30 minutos.

Tomando en cuenta que se realizó la carbamilación, la electroforesis se efectuó por 30 minutos, ya que a menor tiempo

no se observaba la formación de los inmunoprecipitados y a mayor tiempo perdían la forma adecuada de cohete.

En cuanto a los resultados obtenidos entre la relación de parasitosis y porcentaje de eosinófilos, se observó que se presenta eosinofilia principalmente en infecciones debidas a helmintos, ya que esta condición se establece al encontrar un 10% o más de eosinófilos.

En las parasitosis simples causadas por Giardia lamblia y en un caso de Entamoeba coli se observó un porcentaje de eosinófilos ligeramente mayor a los valores normales pero sin llegar a considerarse eosinofilia.

Tomando en cuenta la literatura, el número de muestras examinadas y los resultados obtenidos, no podemos afirmar que este dato sea significativo de dichas parasitosis.

En infecciones causadas por Entamoeba histolytica, existen reportes que mencionan que el % de eosinófilos depende del grado de invasión tisular. (6,26). En los resultados obtenidos en los 3 casos que presentan esta parasitosis observamos un 10,7 y 7%.

En las parasitosis múltiples causadas por E. histolytica, E. coli y G. lamblia y que presentaron un 32 y 38% de eosinófilos, no es posible concluir que esta eosinofilia se

deba a la infección ya que se desconoce la historia clínica de los pacientes.

Por esta razón, cabe mencionar, que ciertos individuos están predispuestos a la sensibilización natural por diversos antígenos del ambiente; es durante este estado conocido como atopía o alergia cuando generalmente se presenta eosinofilia y cifras elevadas de IgE.

Tomando en cuenta que un 60% de la población infantil estudiada presentó parasitosis, es importante aclarar que se trata de personas de escasos recursos económicos y que, por lo tanto, carecen de los servicios públicos adecuados. Esta situación propicia el contagio de parasitosis, como en el caso de Giardia lamblia, donde un solo quiste puede infectar al individuo, y en el caso de Hymenolepis nana, cuyos huevos son infectivos inmediatamente después de eliminarse en heces. Tal vez esta sea la razón por la cual estas parasitosis resultaron ser las de mayor frecuencia en este estudio.

Dada la relación que existe entre algunas parasitosis con el aumento de inmunoglobulina E y el % de eosinófilos, esperamos que el presente trabajo sirva como base para estudios posteriores que beneficien al hombre.

## RESUMEN

Se realizaron 110 exámenes coproparasitológicos seriados a niños del Centro de Desarrollo y Convivencia Infantil del municipio de Garza García, N. L.

A 57 de los 60 niños que resultaron parasitados se les determinó el porcentaje de eosinófilos. Con estos datos se estableció una relación entre eosinofilia y parasitosis, observándose que se presenta eosinofilia principalmente en parasitosis debidas a helmintos.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Carpenter, P.L. 1975. Immunology and serology. 3rd. ed. Ed. W.B. Saunders Company, U.S.A.
2. Hopper, J.E. and Cera, L. 1978. The structure of human immunoglobulins. Anal. Clin. Lab. Sci. 8:201-208.
3. Zegers, B.J.M. et al. 1975. Serum immunoglobulins in healthy children and adults. Levels of the five classes, expressed in international units per millilitre. Clin. Chim. Acta. 65:319-329.
4. Witting, H.J. et al. 1980. Age-related serum immunoglobulin E levels in healthy subjects and patients with allergic disease. J. Allergy Clin. Immunol. 66:305-313.

5. Cohen, R.P. and Jones, T.C. 1979. Eosinophilia, elevated immunoglobulin E level and chronic enteritis due to intestinal helminthiasis. Am. J. Med. 67:909-911.
6. Dasgupta, A. 1974. Immunoglobulin in health and disease. III. Immunoglobulins in the sera of patients with amoebiasis. Clin. Exp. Immunol. 86:163-168.
7. Trapani, I.L. 1969. Environment, infection, and immunoglobulin synthesis. Federation proceedings. 28:1104-1106.
8. Capron, A., Dessaint, J.P. and Capron, M. 1980. Immunoregulation of parasite infections. J. Allergy Clin. Immunol. 66:91-96.
9. Gleich, G.J. 1977. The eosinophil: structure and biochemical composition. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26:126-133.
10. Kay, A.B. 1979. The role of the eosinophil. J. Allergy Clin. Immunol. 64:90-104.
11. Clark, R.A.F. et al. 1977. Histamine modulation of eosinophil migration. J. Immunol. 118:137-145.
12. David, J.R. 1977. The role of eosinophils in immunity to parasites: An introduction. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26:123-125.
13. Goetzl, E.J. and Austen, K.F. 1977. Cellular character

ristics of the eosinophil compatible with a dual role in host defense in parasitic infections. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26:142-150.

14. Colley, D.G. 1973. Eosinophils and immune mechanisms. I. Eosinophil stimulation promoter (ESP): A lymphokine induced by specific antigen or phytohemagglutinin. J. Immunol. 110:1419-1423.
15. Greene, B.M. and Colley, D.G. 1974. Eosinophils and immune mechanisms. II. Partial characterization of the lymphokine eosinophil stimulation promoter. J. Immunol. 113:910-016.
16. Greene, B.M. and Colley, D.G. 1975. Eosinophil and immune mechanisms. III. Production of the lymphokine eosinophil stimulation promoter by mouse T lymphocytes. J. Immunol. 116:1078-1083.
17. Ottesen, E.A. et al. 1977. Immunoglobulin and complement receptors on human eosinophils and their role in cellular adherence to schistosomules. Am. J. Trop. Med. Hyg. 26:134-141.
18. Ottensen, E.A. and Welle, P.F. 1979. Eosinophilia following treatment of patients with Schistosomiasis Mansoni and Bancroft's Filariasis. J. Infect. Dis. 139:343-346.

19. Bass, D.A. and Szjeda P. 1979. Mechanisms of killing of newborn larvae of Trichinella spiralis by neutrophils and eosinophils. Killing generators of hydrogen peroxide in vitro. J.Clin. Invest. 64:1558-1564.
20. Wassom, D.L. and Gleich, G.J. 1979. Damage to Trichinella spiralis newborn larvae by eosinophil major basic protein. Am. J. Trop. Med. Hyg. 28:860-863.
21. Rose, N.R. and Friedman H. 1976. Manual of clinical immunology. Ed. Board, U.S.A.
22. Clarke, H.G.M. and Freeman, T. 1968. Quantitative immunoelectrophoresis of human serum proteins. Clin. Sci. 35:403-413.
23. Laurell, C.-B. 1966. Quantitative estimation of proteins by electrophoresis in agarose gel containing antibodies. Ann. Biochem. 15:45-52.
24. Weeke, B. 1970. The serum proteins identified by means of the Laurell crossed electrophoresis. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 25:269-275.
25. Weeke, B. 1968. Carbamylated human immunoglobulins tested by electrophoresis in agarose and antibody containing agarose. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 21:351-354.

26. Bellanti, J.A. 1980. Inmunología II. 2da. ed. Nueva Editorial Interamericana, México.
27. Faust, E.C., Russell, P.F. y Jung, R.C. 1979. Parasitología clínica de Craig y Faust. 3a ed. Ed. Salvat Mexicana de Ediciones, S.A. de C.V., México.
28. Nuño, M. 1978. Electro e inmunolectroforesis. Ed. Internacional Científica, S.A., México.
29. Kim, CH.W. 1974. Trichinellosis. Ed. Intext Educational Publishers, U.S.A.

801314