

SEROLOGIA EN UNA POBLACION CENTROAMERICANA INFECTADA CON TRIPANOSOMA CRUZI T. RANGELY Y LEISHMANIA SSP

Carlota Monroy de Gómez*

1. PRESENTACION.

El presente trabajo es parte de la Tesis de Maestría de la autora, cuya investigación se realizó en el Instituto Karoliska de Suecia, contando con la colaboración de Ilsa Madrid, Lucy Acosta, Elia Guevara y Humberto Cosenza, del Departamento de Microbiología de la Universidad de Honduras y Sporrong Lena y Orn Anders del Departamento de Microbiología del Instituto Karoliska de Suecia.

2. INTRODUCCION.

La Trypanosoniosis Americana afecta aproximadamente a 20 millones de Latinoamericanos. En Guatemala, todo el oriente del país es zona endémica. La enfermedad es transmitida por chinches de varias especies, pero también existe transmisión por transfusión sanguínea a través de la placenta.

La principal secuela de la enfermedad es la Cardiopatía para la cual no hay cura posible. Esta enfermedad es mortal.

El diagnóstico, en la fase aguda o en la fase latente, es muy difícil; además se reportan reacciones cruzadas con otros parásitos y con enfermedades autoinmunes.

En Centroamérica existen varias

enfermedades parasitarias, entre éstas los géneros Trypanosoma y Leishmania, se caracterizan por compartir determinantes antigénicos, lo cual dificulta el diagnóstico serológico. El presente trabajo pretende comparar técnicas serológicas y analizar varios antígenos de Trypanosoma cruzi, utilizando sueros de pacientes chagásicos, de pacientes con Leishmania o con Trypanosoma rangely y un grupo de pacientes con cardiopatía.

3. RESUMEN DE RESULTADOS.

Se reporta el amastigote de T. cruzi como un mejor antígeno en la técnica de inmunofluorescencia indirecta. Usando extracto de epimastigotes en las técnicas de Elisa, se reportan reacciones cruzadas con Leishmania. De los pacientes cardíopatas, el 53% puede considerarse como infectados con T. cruzi. El péptido sintético No. 2 reconoció el 90% de los sueros de pacientes crónicos chagásicos. Usando péptidos sintéticos no se encontró reacciones cruzadas, mientras que usando epimastigotes, las reacciones cruzadas con Leishmania donovani fueron notorias.

4. METODOLOGIA.

En el presente trabajo se compararon diferentes técnicas inmunológicas como la Inmunofluorescencia indirecta (IIF) y el Ensayo inmuno enzimático (ELISA); los antígenos que se

* Guatemalteca, Bióloga egresada de la Universidad de San Carlos de Guatemala con Maestría en microbiología médica (Instituto Karolinska, Suecia) Actualmente es directora de la escuela de Biología (USAC).

usaron en IIF fueron los tres estadios del parásito (epimastigote, trypomastigote y amastigote) y en el ELISA, se usó una glicoproteína específica del amastigote (Ssp4), siete peptidos sintéticos basados en secuencias de proteínas recombinantes y un extracto alcalino del epimastigote de T. cruzi. Los conjugados con isocianato de fluoreceína, con peroxidasa y con Phosphatasa fueron preparados en la sección de inmunología de la UNAH y en Instituto Karolinska de Suecia. Se usó un anticuerpo monoclonal, para la captura de la Ssp4. Para la estandarización de las técnicas se usaron 22 sueros negativos y 19 sueros positivos de T. cruzi, detectadas por medio de Hemocultivo.

5. RESULTADOS.

- 5.1 Reconocimiento de pacientes con Hemocultivo Positivo: Todas las técnicas fallaron en reconocer un suero de pacientes con Hemocultivo positivo y en el ELISA, usando extracto de epimastigote, dejó de reconocer dos sueros positivos (de un paciente agudo).
- 5.2 Reacciones cruzadas con sueros de Leishmania visceral: Ambas técnicas usando epimastigote, dieron reacción cruzada con L. donovani, sin embargo, utilizando Ssp4 o amastigote, no se dió la reacción. Dos sueros, uno de L. mexinana y el otro T. rangeli, fueron reportados como positivos en las cuatro técnicas, indicando una posible doble infección parasitaria.
- 5.3 Sueros de pacientes cardiopatas: El 53% de los sueros presentaron reacción positiva con tres pruebas serológicas y el 64% de los mismos fueron positivos a dos o más pruebas. Esto posiblemente indica que en nuestros países un buen porcentaje de las cardiopatías pueden ser debidas a T. cruzi.
- 5.4 Peptidos Sintéticos: Al utilizar sueros de pacientes cardiopatas, en la fase crónica de la enfermedad, el 90% de éstos reaccionó con el peptido No. 2 y el 62% contra el peptido No. 1. Ambos peptidos

fueron previamente reportados como dominantes en la fase crónica. El peptido SAPA (Sheda Acute Phase Antigen) fue reconocido por 5% de los sueros.

- 5.5 Relaciones entre síntomas clínicos y serología: Los pacientes cardiopatas reconocieron de 0 a 4 peptidos sintéticos diferentes y pacientes en el estado agudo de la enfermedad y pacientes asintomáticos, reconocieron a SAPA. No se nota ningún patrón claro en el reconocimiento en relación a síntomas.

Los pacientes con L. braziliensies y serología positiva a T. cruzi, también reconoció el peptido sintético No. 1.

DISCUSION.

El diagnóstico temprano de la enfermedad de chagas es la esperanza para tratamiento o quimioterapia efectiva, es de urgencia mejorar los antígenos para evitar por un lado las reacciones cruzadas y, por otro lado poder asociar síntomas o fases de la enfermedad con un antígeno en particular.

El amastigote aparentemente es un antígeno que no presenta reacciones cruzadas con otros parásitos, la Ssp4 (Stage specific protein for amastigote) es muy específica, el peptido sintético 2 y el 1 aparentemente reconocen un alto porcentaje de los pacientes crónicos, mientras el peptido SAPA reconoció a pacientes asintomáticos o en estado agudo.

Aún existe mucho trabajo que realizar para mejorar el diagnóstico de la enfermedad, el amastigote y los peptidos sintéticos podrían ayudarnos en esta empresa.

TABLAS

1. **ANALISIS DE CUATRO TECNICAS SEROLOGICAS PARA IDENTIFICAR INFECCIONES POR T. cruzi EN PACIENTES CON CARDIOPATIA**

TECNICA SEROLOGICA				PACIENTES		INTERDACCION INFECCION CON T. cruzi
IIF		ELISA Ssp4		TOTAL	%	
epi	oma	epi	oma			
-	-	-	-	27	23	NO INFECTADOS
-	-	+	-	5	4	
-	+	-	-	<u>10</u>	<u>8.5</u>	
				42	35.5	
-	+	+	-	4	3	POSIBLEMENTE INFECTADOS
-	+	-	+	<u>6</u>	<u>5</u>	
				10	8	
+	+	-	+	1	1	SEGURAMENTE INFECTADOS
+	+	+	-	3	3	
+	+	+	+	<u>62</u>	<u>52.5</u>	
				66	56.5	
+	+	+	+	17	90	PACIENTES CON HEMOCULTIVO POSITIVO
+	+	-	+	1	5	
-	-	-	-	<u>1</u>	<u>5</u>	
				19	100	

2. **ANALISIS DE CUATRO PRUEBAS SEROLOGICAS PARA IDENTIFICACION DE INFECCIONES POR T. cruzi EN PACIENTES CON Leishmania braziliensis (L.b) L. Donovanii (L.d) o con Trypanosoma rangeli (t.r)**

TEST SEROLOGICO				PARASITO AISLADO	INTERPRETACION CON INFECCION CON <u>T. cruzi</u>
IIF		ELISA Ssp4			
epi	ama	epi	Ssp4		
+	+	+	+	L.b	infectado
+	+	+	+	T.r	infectado
+	-	+	-	L.d	Posible infecci3n
+	-	+	-	L.d	Posible infecci3n
-	-	+	-	L.d	Reacci3n cruzada
-	-	+	-	L.d	Reacci3n cruzada

3. REACCION DE 21 SUEROS DE PACIENTES CHAGASICOS EN LA ETAPA CRONICA CON CARDIOPATIA EN UN TEST DE ELISA USANDO PEPTIDOS SINTETICOS

PEPTIDO SINTETICO	1	2	SAPA	10	13	30	36
Sueros que reconocen el peptido	13/21	19/21	1/21	0/21	4/21	3/21	15/21
%	62	90	5	0	19	14	71

BIBLIOGRAFIA

1. Araujo-F. Guptill, D. 1984. Use of antigen preparation of the amastigote stage of Trypanosoma cruzi in the serology of Chagas disease. Am. J. Trop Med. Hyg 33:362-371
2. Andrews N. Einstein M. and Nussenzweig W. 1989. Presence of Antibodies to the major surface glycoprotein of Trypanosoma cruzi amastigotes in sera from Chagasic patients. Am. J. Trop Med Hyg. 40:46-49
3. Kirchhoff L. Gam. A.A. Gusmao, R. Goldsmith R. Rezende, J. and Rassi. A. 1987. Increased Specificity of Serodiagnosis of Chagas disease by detection of Antibody to the 72 and 90 kilodalton glycoprotein of Trypanosoma cruzi. J. Infect Dis 155. 561-564.
4. Wrightsman R. Wilson, L. and Manning J. 1986, Variation in Antigenic determinants specific to the infective stage of Trypanosoma cruzi, Infec and Imm 53:235/239
5. Lemesre., J.L. Afchain, D. Orozco, O., Loyens, M. Breneire, F.S. Desjeux, P., Carlier, Y., Martin, U., Nogueira-Queiroz, J., Le Ray, D. and capron, A. 1986. Specific and sensitive immunological diagnosis of Chagas disease by competitive antibody enzyme immunoassay using Trypanosoma cruzi specific monoclonal antibody, Am., J. Trop. Med Hyg. 35(1):86-93
8. Andrews, N. W. Hong, K. Robbins, E. Nussenzweig, V. 1987 Stage specific surface antigen expressed during the morphogenesis of vertebrate forms of Trypanosoma cruzi Experimental parasitology 64:474-484
9. Pappas, M. McGreevy, P. HajKowski R. Hendricks L. Oster, C. and Hockmeyer, W. 1983. Evaluation of promastigote and amastigote antigens in the indirect fluorescent antibody test for american cutaneous leishmaniasis, Am. J. Trop. Med Hyg. 32:1260-1267
10. Araujo F.G. and Remington, J. 1981. Characterization of stages and strains of Trypanosoma cruzi by analysis of Cell membrane components. J. Imm. 127(3) 855-859
11. Camargo, M. and Rebonato C. 1969. Cross-reactivity in Fluorescence test for Trypanosoma and Leishmania antibodies. A simple inhibition procedure to ensure specific results. Am J. Trop. Med. Hyg. 18(4): 500-505

12. Ibañez, C.F. Affranchino, J.L. and Frasch, A.C.C. 1987. Antigenic determinant of Trypanosoma cruzi defined by cloning of parasite DNA. *Mol. Biochem. Parasitol.* 25:175-184
13. Ibañez, C.F. Affranchino, J.L. Macina, R. et al, 1988. Multiple Trypanosoma cruzi antigens containing tandemly repeated amino acid sequence motifs. *Mol. Biochem Parasitol.* 30:27-34
14. Levin, M. Mesri, E. Benarous, R. Levitus, G. Schjman, A., Levy-Yeyati P., Chiale, P., Ruiz, A. Kahn, A., Rosenbaum, M. Torres H. Segura, E.L. 1989. Identification of Mayor Trypanosoma cruzi antigenic determinants in chronic chagas heart disease *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 4(5):538-546
15. Frasch, A.C.C. 1989, Specific antibody response during the Acute period of Chagas Disease, *Parasitology Today* 5:355
16. Affranchino, J.L. Ibañez, C.F. Luquetti, A.O. Rassi, A. Reyes M. macina, R. Aslund, L. Petterson, U. Frasch, A.C.C. 1989 Identification of Trypanosoma cruzi antigen that is shed during the acute phase of Chagas disease. *Mol. Biochem Parasitol* 34:221-228
17. Leguizamon S. Campella, O. Reyes M. Ibañez, C. Basombrio, M. Rincon, J. Orn, A. Frasch, A.C.C. 1990 SAPA: a main Trypanosoma cruzi cruzi antigen in the murine model of Chagas disease. (In press)
18. Shary D. 1983. Cell surface glycoprotein of Trypanosoma cruzi protective immunity in mice and antibody levels in human chagasic sera. *Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg.* 77(1):126-129
19. Carrasco, J. Sporrang, L. Andrews, N. Frach, C. Orn, A and Cosenza H. The morphogenesis of 4 strain autochthonous of T. cruzi isolates in Honduras and its correlation in the expression of SAPA and SSp4 antigen (in preparation).

DECLARACION CONJUNTA

Marcela Valdeavellano Valle*

Cabá Paal Chaxá
donde se perdió el horizonte
la línea más allá de las montañas
hilito pintado atrás de las cumbres
donde el cielo parece agua
puro reflejo
charquito para tirar los ojos
guijarros
piedras con ansia
Sumal Las Pilas La Pimienta
eternamente encaramadas
desdibujadas tan cerca del olvido
que las lava la niebla
deseñadas
arrumbadas a lo lejos del camino
vidriecitos
cuentas de chachal
Chemal Chichel Tupoj
Namá I lom Tzotzil
Xetupul
caseríos de la sierra
hormigueros chiquitos
sube y baja por la tierra vertical
gentíos encabritados de nubes
granizos
cristales bajados a golpes
como en Santa María Nebaj
donde la genta cayó a goterones
Pedro Martín Chitic vió a su mujer
y a Juana Pascual
desparramadas
pocitas de agua
pitahayas reventadas en el suelo
también en San Juan Cotzal
no alcanzaron los aleros
cuentazos
tronó macizo y parejo

Bartolo Poroj con los brazos abiertos
murió al comenzar el vuelo
Marcelino Pirir Florencia Santiago
Matea Ixcoy y su hija Adelina
Andrés Raymundo y Cecilia Bernal
pushito de sueños tirados
dicen que en San Marcos Cumbá
despintaron los huipiles para pintarlos de
rojo
y vaciaron los elotes l
llovió maíz colorado
Dieguito y tomás Quijivix de San Pedro La
Esperanza
dormidos en un perraje
acuachados
con la frente salpicada
estrella de gracia en medio de los ojos
y en Las Majadas Manzanillo
Clinovillo y Suj
en los parcelamientos en las fincas
y en el municipio de Chiantla
diezmados
cercados hace tiempo
divididos vigilados
como chocoyos en jaula
a gritos
resistiendo
con las alas recortadas
entre los cerros pelados
entre los ranchos ardiendo
las siembras
pedacitos de hambre
la tierra es de quien la trabaja
dijeron
y entonces la deshicieron
recuerdos
de aquel Gaspar de aquel pablo

de promesas fluídas
líquidas
disueltas en abrazos de ultramar
como en el siglo dieciseis
alianzas
indios tlaxcalas e hijos del sol
desollándose
y comiendo juntos
pero en la casa ajena
en el petate de otros
por eso Caab Paal Chaxá
Sumal Las Pilas La Pimienta
Chemal Chichel Tupoj
y las poblaciones de la sierra
estamos en resistencia
Presidente
llevate de aquí tus perros
danos la libertad
torcaza
palomita de monte
devolvemos el hilito pintado atrás de las
cumbres
que regrese el horizonte
donde el cielo parece agua
charquito
para tirar los ojos
para mojar las ansias
Caab Paal Chaxá
Sumal Las Pilas La Pimienta
Chemal Chichel Tupoj
etcétera
Amigos míos
cuál horizonte
contestó
yo me voy a navegar
y se perdió tras la línea más allá de las
montañas.

Guatemalteca, realizó estudios de narrativa en México (Humberto Constantini, 1980-1982), participante en el taller de narrativa (Rodolfo Iraheta 1983). ha publicado poesía en revistas de Guatemala y Costa Rica (1968) y fue galardonada con el Primer Unico de Narrativa Joven (1990). Actualmente prepara su primer libro de cuentos "Quien nace para maceta..." que editará en Santiago de Chile.