



Detección de Anticuerpos Anti-*Trypanosoma rangeli* en Infecciones Humanas



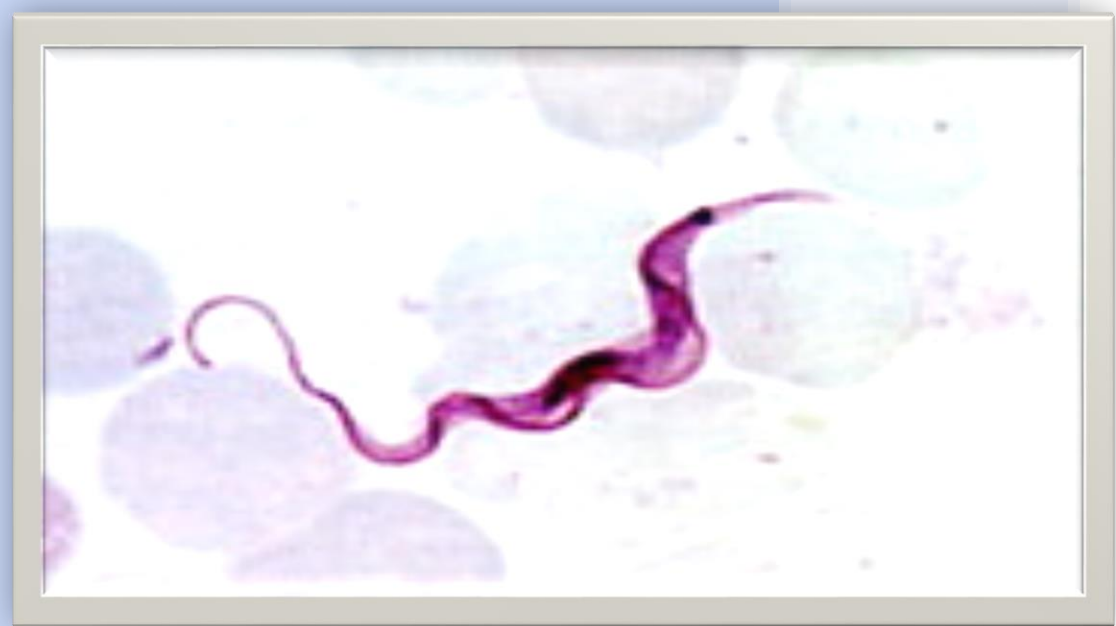
Vanessa Pineda*, Octavio E. Sousa**, Karina Solís*, Pamela Zapateiro*,
José Eduardo Calzada* y Azael Saldaña* **,

*Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES)

**Centro de Investigación y Diagnóstico de Enfermedades Parasitarias (CIDEP).
Facultad de Medicina, Universidad de Panamá

INTRODUCCION

La infección humana con *Trypanosoma rangeli* se conoce en Panamá desde 1957, cerca de veintiséis años después de haberse reportado el primer caso de enfermedad de Chagas en el istmo (Sousa, 1972). Este hemoflagelado es considerado no patógeno para los huéspedes vertebrados, pero de muy alta prevalencia en regiones endémicas para la infección chagásica en Panamá (Sousa y Johnson, 1971; Sousa y Saldaña, 1994; Saldaña y col., 2005). El *T. rangeli* y el *Trypanosoma cruzi*, agente etiológico de la enfermedad de Chagas, comparten características biológicas como vectores, reservorios, áreas endémicas, así como cerca de 60% de componentes antigénicos comunes (Cuba Cuba, 1998; Saldaña y Sousa 1996; Guhl y Vallejo, 2003). En algunas comunidades rurales panameñas la prevalencia de la infección humana con *T. rangeli* es hasta diez veces más frecuente que la encontrada para el *T. cruzi* (Sousa, 1972). Lo anterior tiene profundas implicaciones en el estudio de la enfermedad de Chagas: 1- Puede complicar el diagnóstico inmunológico de la infección chagásica debido a reacciones cruzadas producto de la similitud antigénica entre las dos especies (Saldaña y Sousa 1996) 2- Por otro lado, dado que el insecto vector en Panamá para ambos tripanosomas es el chinche triatomino *Rhodnius pallescens* (Sousa y Johnson, 1973, Calzada y col., 2006) una infección con *T. rangeli* puede considerarse como un marcador de riesgo para adquirir la infección con *T. cruzi*. A pesar de todos estos hechos el diagnóstico inmunológico de la infección humana con *T. rangeli* ha sido sólo parcialmente desarrollado (Guhl y cols., 1987; Ávila y col., 1987; Ávila y Rojas. 1990; Vásquez y col., 1997).



Trypanosoma rangeli (Tripomastigote)

OBJETIVO

- Evaluar la técnica de ELISA (IgG e IgM) utilizando lisados antigénicos de *T. rangeli* o *T. cruzi* y formas epimastigotas fijadas de *T. rangeli* para el diagnóstico de la infección humana con éste parásito.

MATERIALES Y METODOS

Muestras de sueros. Para esta investigación fueron empleados 32 sueros a los cuales se le detectó parasitológicamente la infección por *T. rangeli* mediante la técnica de hemocultivo empleada por Saldaña y col. (2005). A ninguno, de estos pacientes se le demostró la presencia de *T. cruzi*, patologías compatibles con una infección chagásica o anticuerpos anti -*T. cruzi* empleando tres pruebas serológicas. También fueron incluidos 25 sueros con serología positiva comprobada para *T. cruzi* y 25 sueros controles negativos provenientes de áreas endémicas. Todas estas muestras fueron colectadas y caracterizadas en estudios de campo previos realizados en la Sección de Parasitología del Instituto Conmemorativo Gorgas de Estudios de la Salud (ICGES) (Vásquez y col., 2003; Saldaña y col., 2005; Calzada y col., 2007).

Métodos e instrumentos de recolección de datos.

Para evaluar la presencia de anticuerpos anti-*T. rangeli* y anti-*T. cruzi* en los sueros descritos anteriormente se utilizó una prueba de ELISA con epimastigotes sonicados de *T. rangeli* y *T. cruzi* (Saldaña y col., 1995) o epimastigotes enteros fijados con formalina al 2% (Berrizbietia y col., 2004). En todos los sueros se evaluó la presencia de IgG e IgM específicas

RESULTADOS

Los resultados de las pruebas de ELISA con antígenos de *T. rangeli* y *T. cruzi* indican que con ambos lisados se logra la detección de 100% de los sueros chagásicos al evaluar la respuesta inmune tipo IgG (Figura 1, Tabla I). No obstante, este reconocimiento disminuye a 44% si se evalúa la respuesta IgM con antígeno de *T. cruzi* y a 9.1% con antígeno de *T. rangeli*. Con estas mismas preparaciones antigénicas se evaluaron los sueros de pacientes con hemocultivos positivos a *T. rangeli*. En la prueba de ELISA-IgG con antígeno sonicado de *T. cruzi* resultaron positivos el 45% de estos sueros. Con el mismo antígeno, sólo fue posible detectar reacción positiva en 9.1% de los sueros al utilizar el conjugado anti IgM. Los resultados al utilizar el antígeno sonicado homólogo demostró que 9.1% reaccionan cuando se evalúa la respuesta tipo IgG o IgM. La prueba de ELISA-IgG (Figura 2, Tabla I) con formas epimastigotas enteras fijadas con formaldehído de *T. rangeli* logró detectar un 60% de los sueros positivos a *T. cruzi* y un 31.0% de los pacientes positivos a *T. rangeli*. Al evaluarse la respuesta inmune tipo IgM, reaccionaron positivos un total de 72.0% de los sueros chagásicos y un 71.9% de los sueros con hemocultivo positivo para *T. rangeli*.

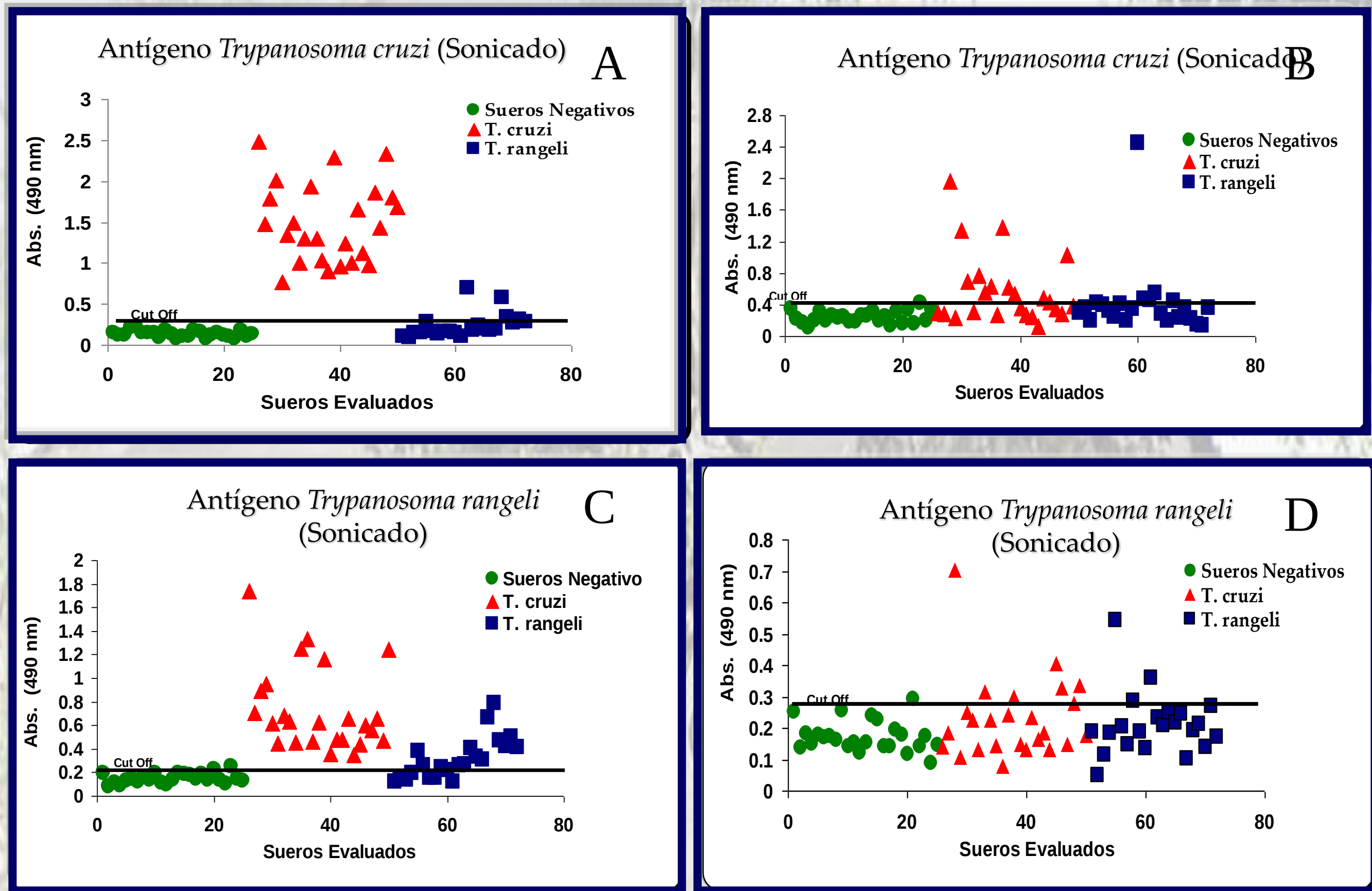


Figura 1. Prueba de ELISA con antígenos sonicados de *Trypanosoma cruzi* (A y B) y *Trypanosoma rangeli* (C y D). Se valoró la respuesta inmune humoral tipo IgG (A y C) y tipo IgM (B y D). Tres grupos de sueros fueron investigados: 1- Sueros negativos procedentes de un área endémica para enfermedad de Chagas (●); 2-Sueros confirmados positivos a la infección chagásica (▲) y 3-Sueros de pacientes con hemocultivos positivos a *T. rangeli* (■).

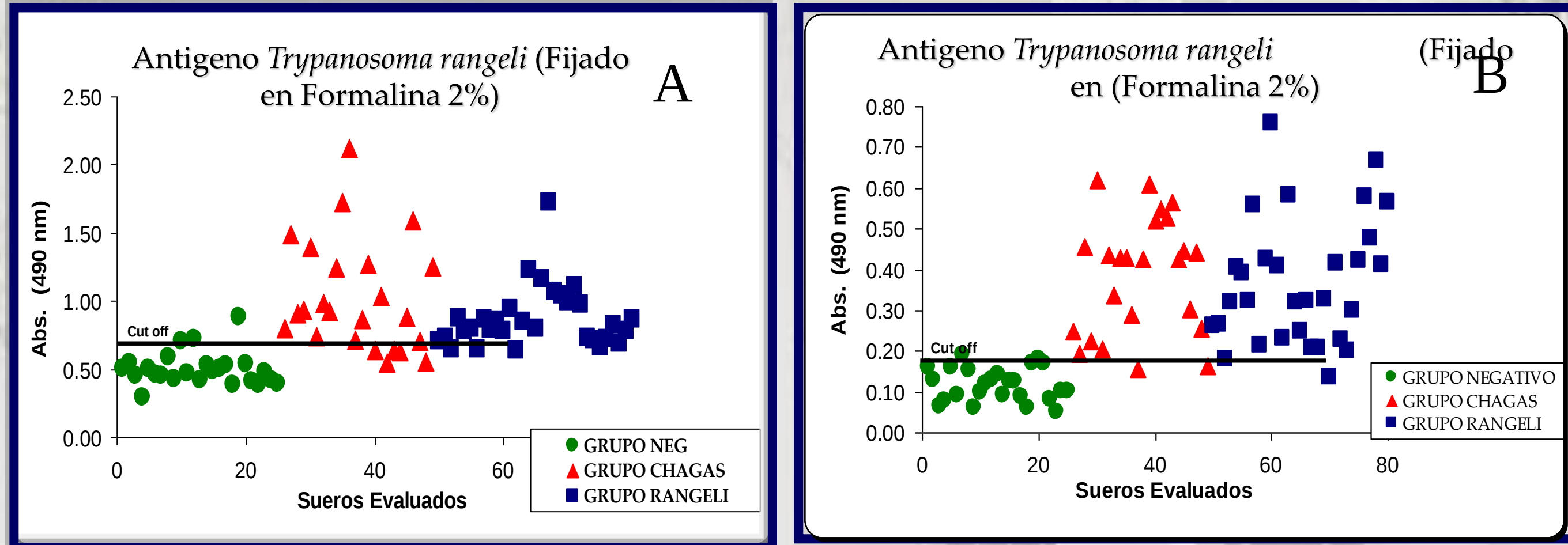


Figura 2. Prueba de ELISA con epimastigotes fijados con formalina al 2% de *Trypanosoma rangeli*. Se valoró la respuesta inmune humoral tipo IgG (A) y tipo IgM (B). Tres grupos de sueros fueron investigados: 1-Sueros negativos procedentes de un área endémica para enfermedad de Chagas (●); 2-Sueros confirmados positivos a la infección chagásica (▲) y 3-Sueros de pacientes con hemocultivos positivos a *T. rangeli* (■).

Tabla I. Evaluación Mediante Pruebas de ELISA de la Respuesta Inmune Humoral Específica en Pacientes Infectados con <i>Trypanosoma rangeli</i> o <i>T. cruzi</i>					
	Sueros ²	IgG ¹		IgM ¹	
		<i>T. cruzi</i>	<i>T. rangeli</i>	<i>T. cruzi</i>	<i>T. rangeli</i>
Antígeno					
<i>T. rangeli</i> Sonicado ³	25/25 (100%)	2/22 (9.1%)	6/25 (24.0%)	2/22 (9.1%)	
<i>T. cruzi</i> Sonicado	25/25 (100%)	10/22 (45.0%)	11/25 (44.0%)	2/22 (9.1%)	
<i>T. rangeli</i> Fijados ⁴	15/25 (60.0%)	10/32 (31.0%)	18/25 (72.0%)	23/32 (71.9%)	

1- Inmunoglobulina evaluada
2- Muestras de sueros analizadas: Pacientes Chagas positivos (*T. cruzi*), Pacientes con hemocultivo positivos a *T. rangeli* (*T. rangeli*)
3- Epimastigotes sonicados
4- Epimastigotes enteros fijados con formalina al 2%

CONCLUSIONES

Los resultados sugieren que las preparaciones antigénicas tradicionales basadas en lisados del parásito son sólo parcialmente reconocidas (12-45%) por los sueros de pacientes infectados con *T. rangeli*. Se demuestra que la técnica de ELISA-IgM utilizando formas epimastigotas enteras fijadas de *T. rangeli* es la mejor alternativa evaluada para el diagnóstico serológico de la infección humana con *T. rangeli*. Con esta prueba fue posible diagnosticar hasta el 70% de los sueros de pacientes con hemocultivo positivo a *T. rangeli*.

Se agradece a la Secretaria Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación (SENACYT) por el apoyo económico recibido. Proyecto FID06-087

