

# EVALUACION DE LA RESPUESTA HUMORAL DE PACIENTES CON LESIONES DIVERSAS ASOCIADAS A LA ENFERMEDAD DE CHAGAS FRENTE A DIFERENTES ANTIGENOS DE T. CRUZI.

Lic. Erika Luna Barrera M. \*  
Dra. Hortencia Miguez \*  
Sra. Clara Camacho \*  
Dra. Mireille Hontebeyrie \*\*  
Dr. Mariano Levin \*\*\*  
Dra. Roxana Carrasco L. \*

## RESUMEN

Con el fin de encontrar mejores antígenos de *T. cruzi*, y posibles marcadores inmunológicos, para el diagnóstico de las diferentes formas clínicas del mal de Chagas, se probaron amastigotes y la fracción microsomal de epimastigotes de *T. cruzi*. Se utilizaron también, clones recombinantes (JL5, JL7, JL8) y un péptido sintético R-13, que compromete 13 residuos C-terminales del recombinante JL5.

La habilidad de los anticuerpos, en sueros de individuos con enfermedad de Chagas crónica para reaccionar con diferentes antígenos, varía de acuerdo al estado clínico del paciente. Los resultados señalan, que los niveles de anticuerpos IgA-anti amastigotes de *T. cruzi*, son significativos para los pacientes con afección digestiva; contrariamente anticuerpos de pacientes con cardiopatía, fueron predominantemente dirigidos contra la fracción microsomal, recombinante JL5 y péptido R-13.

En conclusión, los resultados del presente trabajo, indican que la forma digestiva del mal de Chagas puede ser definida por la respuesta IgA-anti amastigote, mientras que las formas cardíacas son mejor determinadas por las respuestas IgG anti-microsomal o anti-R13.

## PALABRAS CLAVES

Enfermedad de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, diagnóstico serológico, antígenos.

\* Dpto. Parasitología, IBBA

\*\* Co-directora, IBBA

\*\*\* Ingebi, Bs., Argentina

## INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas o Trypanosomiasis Americana, afecta a extensas áreas de Latinoamérica, entre una población total estimada de países endémicos de 360 millones de habitantes, un mínimo de 90 millones de personas (25%), están consideradas en riesgo de infección y, 16 a 18 millones de personas están infectadas (1). En Bolivia, el área endémica abarca aproximadamente el 60% del territorio nacional, involucrando a 7 de los 9 departamentos, donde viven de 45% a 65% de la población, de la cual 3.000.000 están en riesgo de contraer la infección (2).

La transmisión de la enfermedad, se realiza en el momento de la picadura de un insecto de hábitos hematófagos, cuyo mayor representante es el *T. infestans* (flia. reduvidos), más conocido como vinchuca. La enfermedad se desarrolla en dos fases: la fase aguda, se caracteriza por la alta parasitemia, debida a la multiplicación intracelular del parásito, la manifestación más característica de ésta fase, es el signo de Romaña; la fase crónica se caracteriza por la escasez microscópica del parásito en la circulación sanguínea, donde la miocardiopatía y el desarrollo del megaesofago y megacolon (forma digestiva), son las manifestaciones más frecuentes, después de 10 a 20 años de la picadura del insecto. Existen también, personas que se mantienen asintomáticas por el resto de su vida.

La detección de anticuerpos, en sueros de individuos chagásicos, contra componentes del *T. cruzi*, sigue siendo la base para el diagnóstico serológico de la infección crónica de Chagas. En las pruebas serológicas convencionales para determinar anticuerpos específicos, generalmente son usadas las formas epimastigotes del parásito. Por otra parte, se investigaron antígenos que se encuentran en las formas parasitarias del huésped vertebrado (reservorios

domésticos y el hombre), como los tripomastigotes y amastigotes (3), así como fracciones subcelulares purificadas de *T. cruzi*, tales como las microsomales, flagelares, citosol, etc (4,5,6), dichos antígenos mostraron ser mejores para fines diagnósticos de la enfermedad.

En años recientes, el desarrollo del clonado del DNA y las técnicas de expresión bacteriana, han abierto nuevas perspectivas para el mejoramiento del diagnóstico inmunoserológico de la enfermedad. Recientemente, el empleo de péptidos sintéticos, como el R-13, sintetizado a partir de la secuencia aminoacídica del extremo C-terminal del recombinante JL5, mostrando, este péptido, alta especificidad de anticuerpos anti-R13, asociados con sueros de pacientes con cardiomiopatía chagásica crónica y particularmente miocarditis activa (7).

El propósito del presente trabajo, es el de proponer nuevas alternativas en el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas, mediante la estandarización de nuevas técnicas como el Dot Blot y la utilización de diferentes fracciones antigénicas del parásito causante del mal. Por otra parte, analizar la relación entre niveles de anticuerpos, presentes en sueros de pacientes, y el tipo de lesión asociada a la enfermedad (cardíaca, digestiva, mixta).

## MATERIAL Y METODOS

### Sueros Humanos.

Sueros de 68 individuos chagásicos fueron recolectados para el presente trabajo, los que provinieron de diferentes zonas endémicas de Bolivia (Cochabamba, Sucre, Tupiza, Yungas). Dichos sueros, fueron clasificados en cuatro grupos, de acuerdo al estado clínico de los mismos: GRUPO I: individuos con afección digestiva, sin alteraciones en el electrocardiograma (n=38); GRUPO II: individuos con afección digestiva y alteraciones en el electrocardiograma (n=11); GRUPO III: individuos con afección cardíaca severa (n=11); GRUPO IV: individuos sin síntomas clínicos de la enfermedad (n=8) (Tabla I). Se incluyeron además, 30 sueros de individuos con otras parasitosis (leishmaniasis (n=10), toxoplasmosis (n=10), cisticercosis (n=10)), y 30 sueros humanos, correspondientes a 10 individuos afectados con Leishmania y Chagas simultáneamente, 10 individuos con "mega" víceras no chagásica y sueros de 10 individuos con cardiopatía no chagásica.

Todos los sueros, fueron probados inicialmente por técnicas de rutina IFI y ELISA, con anticuerpos IgG. Se consideró un suero positivo para Chagas, cuando el título de anticuerpos para la técnica de IFI, fue mayor a la dilución 1/20 y la densidad óptica medida a 405 nm para la técnica de ELISA, fue mayor a 0.20.

### Preparación de Antígenos.

**Amastigotes de *T. cruzi*.**- Amastigotes intracelulares de *T. cruzi*, fueron obtenidos de bazo e hígado de ratones infectados y purificados por dos gradientes discontinuos de centrifugación, según el método descrito por Abrahamson y col. (8). Los amastigotes, así obtenidos, fueron utilizados en la técnica de IFI, según el procedimiento de Camargo (9).

Los resultados de la técnica de inmunofluorescencia (IFI) se expresaron en la inversa del título de la dilución y se consideraron positivos aquellos sueros cuya fluorescencia estaba por encima de la dilución 1/10.

**Fracción Microsomal.**- La fracción microsomal, fue obtenida a partir de epimastigotes de *T. cruzi*, por lisis de tejidos parasitarios y centrifugaciones diferenciales (4,10,11). Dicha fracción, fue gentilmente donada por el Instituto Nacional de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas "DR MARIO FATALA CHABEN", Bs., Argentina. Posteriormente fue procesada por la técnica de ELISA, utilizando el procedimiento de Voller y col. (12). La concentración óptima para sensibilizar las placas, fue de 5 µg/ml; los sueros se emplearon a una dilución de 1/200 y el conjugado de IgG anti humano, fue empleado a 1/1000. Las densidades ópticas fueron leídas a 450 nm de longitud de onda. Se consideraron positivos los sueros cuyas DO estaban por encima de 2DS (desviaciones standard), del promedio de DO450 leída para el pool de sueros negativos.

**Fagos recombinantes.**- Una expresión, de la biblioteca complementaria al DNA de *T. cruzi* (DNAc), fue construida y estudiada a partir de la cepa Tula-huén 2 de epimastigotes, en el suero de un paciente (JL), con cardiopatía chagásica severa. En el Instituto de Investigaciones de Ingeniería Genética y Biología Molecular (INGEBI), Bs., Argentina, fueron aislados y caracterizados, varios fagos recombinantes lambda-gt11, altamente antigénicos (13), quienes, gentilmente nos donaron tres clones antigénicos: JL5, JL7 y JL8.

Estos clones fueron reconocidos por los anticuerpos de los sueros positivos mediante la técnica de DOT BLOT.

**Péptido sintético R-13.**- Este péptido fue sintetizado por Multi Peptide Systems (St. Diego, California, USA) a partir de la secuencia aminoacídica C-terminal del recombinante JL5 (13), y procesado por la técnica de ELISA.

**Técnica de ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).**- La técnica de ELISA se realizó sensibilizando las placas con el péptido R-13 (200 µg/ml

en PBS leche) durante toda la noche a 4°C. Después se lavó las placas tres veces con PBS Tween y se bloqueó la placa con leche descremada por una hora a medio ambiente. Se la lavó nuevamente y se añadieron los sueros diluidos a 1/200 en PBS leche y se dejó tres horas al medio ambiente. Después se lavó nuevamente la placa y se añadió el conjugado anti-IgG humana peroxidasa en PBS leche, y se incubó por una hora a medio ambiente. Seguidamente se lavó la placa y se añadió el sustrato O.P.D. (Ortophenildiamina 0,5 mg/ml en tampon citrato de sodio pH 5.5 con 0,5  $\mu$ /ml de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%). La reacción enzimática se paró a los 10 minutos con SDS (Dodecyl-Sulfato de Na al 10%), y posteriormente se leyó en un lector Titertek Multiscan, con filtro 490 nm. Las DO. obtenidas para cada suero, se dividió por el promedio de la DO. correspondiente a 4 controles normales colocados en la misma placa. Se consideró positivo aquel suero cuya DO. fue igual o mayor a 3 veces la de los controles normales.

También se realizó la técnica de ELISA, con antígeno total de *T. cruzi*, según el procedimiento descrito (14).

**Técnica de DOT BLOT.-** Los fagos fueron formados colocando los clones sobre los cultivos de *E. coli* cepa Y1090 y transferidos a filtros de nitrocelulosa. Cada uno de éstos filtros de nitrocelulosa donde se hallaban impregnados los diferentes clones JL5, JL7 y JL8 se utilizaron individualmente para cada paciente, colocándolos en contacto con el suero correspondiente diluido 1/100 por el lapso de 1 hora. Seguidamente los filtros fueron incubados con el conjugado anti-IgG humana marcada a la fosfatasa alcalina a la dilución óptima encontrada previamente. Los anticuerpos presentes en los sueros de los pacientes, fueron revelados con el sustrato correspondiente y los resultados se interpretaron de acuerdo a la intensidad de la coloración.

**Análisis estadístico de los datos.-** Para el análisis estadístico de las reactividades obtenidas en cada una de las técnicas empleadas, se utilizó el Test-F, valores de  $p < 0.05$  fueron considerados significativos. Se utilizó un programa estadístico de computación Stat View, Análisis de varianza, (ANOVA).

## RESULTADOS

**Amastigotes.-** En la figura 1, observamos los resultados de la respuesta IgA anti-amastigotes, presentados por sueros de pacientes chagásicos de los diferentes grupos, probados por la técnica de IFI. Las reactividades de pacientes con afección digestiva (GI) y pacientes con patología mixta (cardíaca y digestiva) (GII), fueron significativamente más eleva-

das, que aquellas presentadas por pacientes con cardiopatía chagásica severa (GIII) y pacientes asintomáticos (GIV), mostrando diferencias significativas entre los grupos ( $p=0.0018$ ).

**Fracción Microsomal.-** En la figura 2, se observa la distribución de las densidades ópticas obtenidas por la técnica de ELISA con ésta fracción, en sueros de individuos chagásicos caracterizados en cuatro grupos; incluidos además, dos grupos que corresponden a individuos con cardiopatía no chagásica y megacolon no chagásico. Títulos de anticuerpos presentados por pacientes con cardiopatía chagásica severa (GIII) y asintomáticos (GIV), fueron significativamente más elevados que los presentados por pacientes con afección digestiva (GI). Reactividades por debajo del límite de normalidad (DO450=0.59, líneas horizontales, figura 2), se observan con sueros de pacientes con cardiopatía y megacolon no chagásico.

**Clones Recombinantes.-** La inmunoreacción diferencial por la técnica de Dot Blot, de sueros, contra clones recombinantes (JL5, JL7 y JL8), se muestra en la figura 3. Reactividades altas, intermedias o bajas anti-JL5, fueron detectadas en todos los sueros pertenecientes a los grupos I, II, III y IV. El grupo (GI) presentó diferencias significativas con el clon recombinante JL5 en relación con los grupos (GII) y (GIII). El clon recombinante JL7, reaccionó en forma similar con todos los sueros chagásicos de los mismos grupos, en menor proporción lo hizo el JL8. No presentaron reacción frente a los clones, los sueros de individuos con patologías cardíaca y digestiva no chagásica, tampoco lo hicieron los sueros de pacientes con otras parasitosis.

**Peptido R-13.-** Con éste peptido, fueron probados por la técnica de ELISA, sueros chagásicos pertenecientes a la clasificación de grupos, además de sueros con otras parasitosis y sueros con cardiopatía y afección digestiva no chagásica, cuyos valores fueron muy bajos. EL análisis estadístico entre grupos de sujetos chagásicos, reveló un valor de  $p$  altamente significativo ( $p=0.0001$ ). En la figura 4, podemos observar que las reactividades obtenidas por sueros de individuos con patología mixta (GII) y sueros de individuos con cardiopatía chagásica severa (GIII), fueron significativamente más elevadas, que las obtenidas por sueros de pacientes digestivos (GI) y sueros de pacientes asintomáticos (GIV).

## DISCUSION

Los valores encontrados en nuestro estudio utilizando amastigotes en la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos IgA, presentaron índices de 0,91 y 0,92 para la sensibilidad y especificidad respectivamente, valores que concuer-

dan con los encontrados en un trabajo similar (15). De esta manera confirmamos la relación de los anticuerpos IgA anti-mastigote en la forma digestiva del Mal de Chagas, constituyéndose en buenos marcadores inmunológicos para esta forma del mal, en relación con los otros antígenos empleados en el estudio.

El uso de la fracción microsomal de epimastigotes de *T. cruzi*, en pacientes con afección digestiva (grupo I), fueron significativamente inferiores con respecto a los grupos II (digestivos y cardíacos), III (cardiopatía severa) y IV (asintomáticos). Sin embargo debido a que el límite de negatividad es demasiado elevado, su utilización como técnica de rutina no es aconsejable. Al margen de esto, cabe resaltar la reactividad obtenida por los pacientes asintomáticos (grupo IV), lo cual sugiere en relación a reportes previos (5) que la presencia de anticuerpos esta asociada con la aparición y desarrollo de tejido miocárdico dañado en individuos infectados por *T. cruzi*.

En lo que se refiere a los clones de *T. cruzi*, uno de los objetivos de nuestro trabajo fué demostrar la inmunoreacción diferencial de sueros de pacientes con afección digestiva, además de las otras formas clínicas de la Enfermedad de Chagas, frente a los clones JL7, JL8 y en forma especial frente al JL5.

Se demostró una reactividad anti-JL5, significativamente elevada, del grupo de pacientes con afección cardíaca chagásica severa (grupo III) y pacientes con afección cardíaca y digestiva (grupo II), respecto a pacientes con afección digestiva chagásica (grupo I).

Estos resultados estarían acordes con los encontrados en experiencias anteriores quienes atribuyeron una alta especificidad hacia este clon, de pacientes con cardiopatía chagásica severa (13).

Lo que es importante remarcar, es que los pacientes chagásicos asintomáticos (grupo IV), reaccionaron de forma similar a los pacientes con cardiopatía se-

vera (grupo III), frente al clon JL5; por lo que no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos. Este hecho podría hacer suponer que los pacientes pertenecientes a este grupo, pudieran desarrollar una patología cardíaca en el futuro.

Los clones recombinantes JL7 y JL8, reaccionaron en forma similar respecto a los cuatro grupos clínicos (I, II, III y IV). El clon JL7, mostró ser un buen candidato para la utilización en el serodiagnóstico de infecciones crónicas de Chagas, ya que mostró reactividades más intensas.

Siguiendo nuestro objetivo de encontrar una particularidad inmunológica, en pacientes con diferentes manifestaciones clínicas del Mal de Chagas, especialmente los del tipo digestivo, mediante el uso de antígenos purificados y mejor definidos; se realizaron experiencias de ELISA con el péptido sintético R-13, que corresponde a los 13 aminoácidos de la porción del C-terminal de JL5. Los resultados obtenidos con este péptido, de manera especial, de los pacientes chagásicos con afección digestiva y asintomáticos, se constituirían en datos nuevos que podrán ser sometidos a estudios posteriores.

Los sueros de los pacientes del grupo III (cardiopatía severa) y II (cardiopatía y digestivos), alcanzaron niveles anti-R13 significativamente más elevados, en comparación con los grupos I (digestivos) y IV (asintomáticos), (figura 4). Las reactividades anti-R13, presentes en los grupos con otras parasitosis y megaformaciones digestivas o cardíacas no chagásicas, se encuentran muy por debajo de las reactividades presentadas por los cuatro grupos clínicos chagásicos. Estos resultados, demuestran una alta especificidad del péptido R-13 para la infección chagásica, además de su especificidad para la forma cardíaca.

TABLA I

**LISTA DE PACIENTES CHAGASICOS AGRUPADOS SEGUN LAS FORMAS  
CLINICAS DE LA ENFERMEDAD**

**GRUPO I:** Individuos chagásicos con afección digestiva sin alteraciones en el E.C.G. (38 Pacientes).

NOMBRE	SEXO	EDAD	PROCEDENCIA	E.C.G.	RAD. de ESOF. y/o COLON POR ENEMA.
* VG	M	64	Altiplano	-	+
* NL	M	45	Altiplano	-	+
* EM	M	29	Yungas	-	+
* PR	M	38	Yungas	-	+
DT	F	57	Sta. Cruz	-	+
* CG	F	48	La Paz	-	+
* JN	F	48	Cochabamba	-	+
* RF	M	66	Tupiza	-	+
* SA	M	44	Yungas	-	+
* HF	M	56	La Paz	-	+
* FM	M	40	Yungas	-	+
AL	F	48	Cochabamba	-	+
AM	F	30	Tupiza	-	+
* EO	M	44	Cochabamba	-	+
* EC	F	52	La Paz	-	+
* GJ	M	58	Tupiza	-	+
NP	F	50	Cochabamba	-	+
MU	F	39	Cochabamba	-	+
* LT	M	57	Cochabamba	-	+
WM	M	28	Cochabamba	-	+
* MC	M	56	Tupiza	-	+
* TA	M	56	Potosí	-	+
* JC	F	54	Sucre	-	+
* WG	M	64	Tupiza	-	+
* FG	F	65	Cochabamba	-	+
AL	F	48	Cochabamba	-	+
JCH	M	40	Sucre	-	+
* PJ	M	53	Cochabamba	-	+
ED	M	57	Potosí	-	+
AI	M	32	Potosí	-	+
RG	M	58	Tupiza	-	+
LR	F	39	Sucre	-	+
LB	F	47	Sucre	-	+
CU	F	45	Sucre	-	+
MQ	M	66	Sucre	-	+
GC	M	65	Sucre	-	+
EF	M	51	Sucre	-	+
CS	F	56	Sucre	-	+

**GRUPO II: Individuos chagásicos con afección digestiva y alteraciones en el E.C.G. (11 Pacientes).**

---

* BT	M	72	Potosí	+	+
* AC	M	45	Potosí	+	+
* BC	M	65	Cochabamba	+	+
EK	F	50	Tupiza	+	+
HG	M	59	Sta. Cruz	+	+
SC	M	61	Cochabamba	+	+
* CL	M	60	Cochabamba	+	+
CR	F	58	Tupiza	+	+
* AS	F	65	Potosí	+	+
CL	M	54	Cochabamba	+	+
* CC	F	59	Cochabamba	+	+

---

**GRUPO III: Individuos chagásicos con afección cardíaca severa (11 Pacientes).**

---

MR	F	57	Sucre	+	-
PC	F	62	Sucre	+	-
MW	F	55	Sucre	+	-
NCH	F	35	Sta. Cruz	+	-
HT	M	48	Cochabamba	+	-
EN	F	58	Yungas	+	-
VC	M	63	Potosí	+	-
DR	F	33	Sucre	+	-
NL	F	50	Sucre	+	-
WI	M	60	Cochabamba	+	-
NI	M	52	Cochabamba	+	-

---

**GRUPO IV: Individuos chagásicos sin síntomas de la enfermedad (asintomáticos, 8 Pacientes).**

---

MC	F	45	Tarija	-	-
RP	M	59	Sucre	-	-
AV	F	53	Sucre	-	-
OT	M	26	Sta. Cruz	-	-
AF	F	38	Cochabamba	-	-
NR	F	45	Potosí	-	-
JH	M	46	Sucre	-	-
RF	M	45	Potosí	-	-

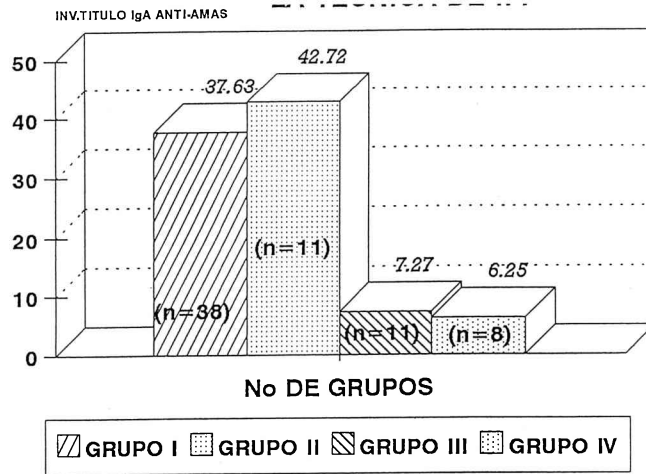
---

Lista de pacientes clasificados por grupos. E.C.G. (Electrocardiograma), E.C.G.(+) (con cardiopatía), E.C.G.(-) (sin cardiopatía), Rad. de esófago (radiografía de esófago), radiografía de esófago y/o colon por enema (+) (megaformaciones digestivas), NR (no realizada).

(\*) (pacientes con antecedentes quirúrgicos de vólvulos intestinales).

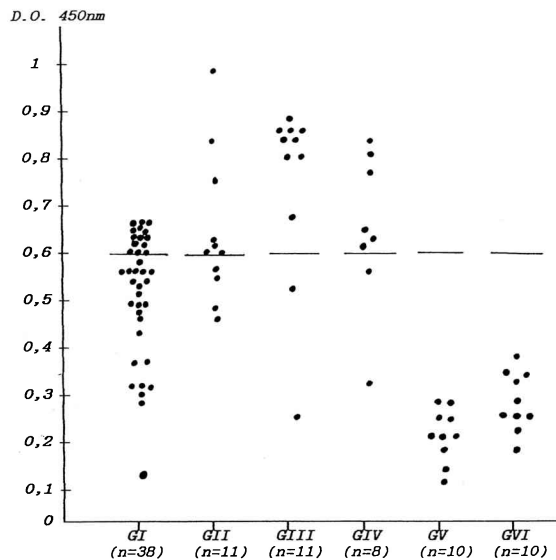
Figura 1

**COMPARACION DE REACTIVIDADES IgA ANTI AMASTIGOTES ENTRE 4 GRUPOS CLINICOS POR LA TECNICA DE IFI**



Comparación de reactividades IgA anti-amstigotes en sueros de pacientes chagasicos digestivos (GI) y pacientes con afección digestiva y cardíaca (GII) frente a pacientes con cardiopatía chagastica serevera (GIII) y asintomáticos (GIV).  
 $p = 0.0018$  (Diferencia significativa de GI y GII con respecto a GIII y GVI)

Figura 2



**REACTIVIDADES DE ANTICUERPOS ANTI-FRACCION MICROSOMAL EN SUEROS DE PACIENTES CHAGASICOS Y NO CHAGASICOS.**

Reactividad medida por test de ELISA usando como antígeno la fracción microsomal de epimastigotes de *T. cruzi*. Los valores de cada suero corresponden a la dilución 1/200, se consideraron positivos los valores mayores o iguales al promedio del pool de sueros negativos mas 2 desviaciones standard (0.59) (lineas horizontales). (GI) Individuos chagásicos con afección digestiva sin alteraciones en el E.C.G. (GII) Individuos chagásicos con afección digestiva y cardíaca. (GIII) Individuos chagásicos con afección cardíaca importante. (GIV) Individuos chagásicos asintomáticos. (GV) Individuos con "mega" formaciones digestivas no chagásica. (GVI) Individuos con cardiopatía no chagásica.  
 $p = 0.0164$  (Diferencia significativa de GI con respecto a GIII y GIV)

Figura 3

**DOT BLOT: INMUNO-REACCION DIFERENCIAL DE CLONES RECOMBINANTES ANTIGENICOS DE TRYPANOSOMA CR**

PAGOI	GRUPO I (n = 38)	GRUPO II (n = 11)	GRUPO III (n = 11)	GRUPO IV (n = 8)	GRUPO V (n = 10)	GRUPO VI (n = 10)	GRUPO VII (n = 10)	GRUPO VIII (n = 10)	GRUPO IX (n = 10)	GRUPO X (n = 10)
Jt511:	11: ++ 27: +	11 ++	1: +++ 8: ++ 2: +	1: +++ 3: ++ 4: +	10.-	10	10.-	1: +++ 1: ++ 6: + 2: -	10.-	10.-
Jt7	36: +++ 2: ++	11: +++	9: +++ 2: ++	6: +++ 2: ++	10.-	10.-	10.-	1: +++ 7: ++ 1: + 1: -	10.-	10.-
Jt8	2: +++ 28: ++ 8: +	2: +++ 7: ++ 2: +	2: +++ 7: ++ 2: +	2: +++ 3: ++ 8: +	10.-	10.-	10.-	1: +++ 3: ++ 2: + 4.-	10.-	10.-
Lambda	38: -	11: -	11: -	8: -	10: -	10: -	10: -	10: -	10: -	10: -

INTENSIDAD DE LA INMUNOREACCION: Fuerte (+++); Moderado (+ +): Debil (+); Negativo (-)

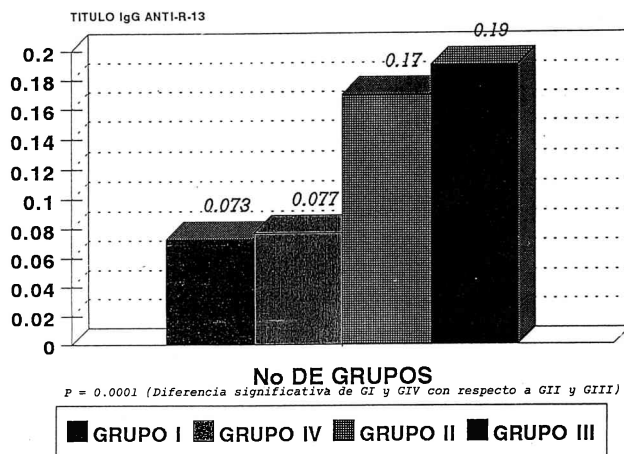
- GRUPO I : PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS TIPO DIGESTIVO SIN ALTERACIONES EN EL E.C.G.
- GRUPO II : PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS TIPO DIGESTIVO CON ALTERACIONES EN EL E.C.G.
- GRUPO III : PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS TIPO DIGESTIVO SIN ALTERACIONES EN EL E.C.G.
- GRUPO IV : PACIENTES ASINTOMATICOS
- GRUPO V : SUJETOS CON MEGACOLON NO CHAGASICOS.
- GRUPO VI : SUJETOS CON CARDIOPATIA NO CHAGASICA
- GRUPO VII : SUJETOS INFECTADOS CON LEISHMANIA.
- GRUPO VIII : SUJETOS INFECTADOS CON LEISHMANIA Y CHAGAS.
- GRUPO IX : SUJETOS INFECTADOS CON TOXOPLASMOSIS.
- GRUPO X : SUJETOS INFECTADOS CONCISTICERCOSIS.

\* P = 0.0001 (Diferencia significativa con el clon recombinante J15 de GI con respecto a GII y GIII)



Figura 4

**COMPARACION ENTRE CUATRO GRUPOS CLINICOS CHAGASICOS POR LA TECNICA DE ELISA R-13**



Comparación de reactividades Anti-R13 presentadas por sueros de pacientes chagásicos digestivos (GI) y asintomáticos (GIV), frente a pacientes con afección digestiva y cardíaca (GII) y pacientes con cardiopatía chagásica severa (GIII). Los valores presentados corresponden a la dil. 1/200 y se expresaron como el valor promedio del título IgG Anti - R13

**AGRADECIMIENTOS.**

Nuestro sincero agradecimiento al DR. ERNESTO DE TITTO del Instituto de Diagnóstico e Investigación de la Enfermedad de Chagas "DR. MARIO FATALA CHABEN", Bs., Argentina, por la donación de la Fracción Miosomal. BIBLIOGRAFIA

**REFERENCIAS**

- 1.- OMS (ORGANIZACION MUNDIAL DE LA SALUD). Control of Chagas' disease. Report of a WHO Expert Committee. Geneva, 1991.
- 2.- MINISTERIO DE PREVISION SOCIAL Y SALUD PUBLICA, REPUBLICA DE BOLIVIA. Programa Nacional de Control de Chagas (PNCCH). Acción integral y sistémica para el logro de una comunidad anti-chagásica, 1991; 10-12.
- 3.- MOTA, E., TODD, C.W., MAGUIRE, J.H., PORTUGAL, D., SANTANA, O., RIBEIRO Filho, R. & SHERLOCK, I.A. Megaesophagus and seroreactivity to Trypanosoma cruzi in a rural community in North-east Brasil. Am. J. Trop. Med. Hyg., 1984; 33: 820-826.
- 4.- DE TITTO, E.H., SEGURA, E.L., BRAUN, M. Cellular immunity in Chagas' disease patients. Lymphoproliferative response to subcellular fractions of Trypanosoma cruzi. Immunol. Letters, 1983; 6: 161-167.
- 5.- DE TITTO, E.H., BRAUN, M., LEZZARI, J.O., SEGURA, E.L. Cell-mediated reactivity against human and Trypanosoma cruzi antigens according to clinical status in Chagas'disease patients. Immunol. Letters, 1985; 9: 249-254.

- 6.- DE TITTO, E.H., MORENO, M., BRAUN, M., SEGURA, E.L. Chagas' disease: humoral response to subcellular fraction of Trypanosoma cruzi in symptomatic and asymptomatic patients. Trop. Med. Parasit., 1987; 38: 2-5.
- 7.- LEVIN, M.J. Molecular mimicry and Chagas' heart disease: high anti-R-13 autoantibody levels are markers of severe Chagas heart complaint. 36th Forum in Immunology. Institut Pasteur/Elsevier, Paris. Res. Immunol., 1991; 142: 157-159.
- 8.- ABRAHAMSON, I.A., KATZIN, A.M., MILDNER, R.V. A method for isolating Trypanosoma cruzi amastigotes from spleen and liver using two-steps discontinuous gradient centrifugation. J. Parasitol., 1983; 69: 437-439.
- 9.- CAMARGO, M.E. Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of American trypanosomiasis technical modification employing preserved culture form of Trypanosoma cruzi in slide test. Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo, 1966; 8:2227-34.
- 10.-SEGURA, E. L., CURA, E. N., PAULONE, I., VASQUEZ, C., CERISOLA, J. A. Antigenic make-up of subcellular fractions of Trypanosoma cruzi. J. Protozool., 1974; 21:571-574.
- 11.-SEGURA, E.L., PAULONE, I., CERISOLA, J.A., GONZALES KAPPA, S.M. Experimental Chagas' disease: Protective activity in relation with subcellular fractions of the parasite. J. Parasitol., 1976; 62: 131-133.
- 12.-VOLLER, A., BILDWELL, D.E. & BARTLETT, A. Enzyme immunoassay in diagnostic medicine: theory and practice. Bull. W.H.O. 1976; 53:55.

- 13.-LEVIN, M.J., MESRI, E., BENAROUS, R., LEVITUS, G., SCHIJMAN, A., LEVY-YEYATI, P., CHIALE, P., RUIZ, A.M., KAHN, A., ROSENBAUM, M., TORRES, H.N. & SEGURA, E.L. Identification of major *Trypanosoma cruzi* antigenic determinants in chronic Chagas' heart disease. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 1989; 41: 530-538.
- 14.-CARRASCO R., BRENIERE F., MIGUEZ H., DESJEUX P., LEMESRE J.L., CARLIER Y. Estudio comparativo de cuatro técnicas serológicas inmunológicas en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Anuario IBBA*. 1983-1984; 51-55.
- 15.-PRIMAVERA, K.S.C., HOSHINO SHIMIZU, S., UMEZAWA, E.S., PERES, B.A., MANIGOT, D.A. & CAMARGO, M.E. Immunoglobulin A antibodies to *Trypanosoma cruzi* antigens in digestive forms of Chagas' disease. *J. Clin. Microbiol.*, 1988, 26: 2101-2104.