

# Aplicación de una nueva reacción para el diagnóstico de enfermedad de Chagas-Mazza

(Reacción de Tripanolisis)

Por los Dres.: STELLA MARIS GONZALEZ CAPPA, JULIO A. BERRETA, SUSANA PALACHI y estudiante AMALIA PANDIELLA

Es motivo de este trabajo la aplicación de una nueva reacción serológica de tipo lítica en pacientes con Machado-Guerreiro positiva.

Esta nueva reacción se fundamenta en la actividad de anticuerpos líticos que se adquieren en el curso de la enfermedad de Chagas.

Las lisinas naturales de los sueros humanos y de distintas especies animales, son eliminadas según la técnica que más abajo se detalla.

La bibliografía que trata la serología de la Tripanosomiasis Americana, refiere dificultad en la diferenciación de las lisinas naturales, provenientes de sueros humanos normales y lisinas adquiridas, existentes en el suero de enfermos chagásicos.<sup>1, 2, 3</sup>

Todo esto hizo pensar que debía descartarse el fenómeno lítico específico, como medio diagnóstico.<sup>4</sup>

En 1965 en un trabajo presentado por uno de nosotros<sup>5</sup> en la Sociedad Argentina de Biología se demostró la posibilidad de eliminar el factor lítico natural (inespecífico) mediante una técnica simple que no afecta la actividad de los anticuerpos líticos adquiridos, lo que permite utilizar el fenómeno lítico como método diagnóstico específico. Dicha técnica es la utilizada en el presente trabajo, con el objeto de adquirir mayor experiencia sobre la aplicación en el ser humano de este nuevo método laboratorial.

## MATERIAL Y METODOS

1º) Se aplicó la técnica en 70 pacientes:

39 fueron diagnosticados chagásicos con motivo de un examen serológico efectuado a dadores de sangre. Ninguno de ellos tenía conocimiento previo de su enfermedad. (Reacción de fijación de complemento).

18 fueron remitidos a nuestro Servicio de Cardiología para su estudio como probables chagásicos.

13 tenían signos de cardiopatía chagásica ya diagnosticada y seguidos en nuestro Servicio.

2º) *Sexo*: De los 70 pacientes: 18 femeninos, 52 masculinos.

3º) *Edad*: La edad osciló entre los 20 y 69 años: femeninos, de 23 a 69 años; masculinos, de 20 a 65 años.

4º) *Procedencia*: Zonas infectadas: 69. Capital Federal y Gran Buenos Aires: 1.

5º) En los que presentaron signos de cardiopatía se observó:

Agrandamiento cardíaco .....	17
B. R. D. ....	7
Insuficiencia cardíaca .....	5

En los que ignoraban su enfermedad se descubrió:

Agrandamiento cardíaco .....	9
Alteraciones E. C. G. ....	5

Inst. de Microbiología y Parasitología Fac. Med. de Bs. Aires.

Director: Prof. Dr. Armando S. Parodi.

Policlínico G. Aráoz Alfaro, Lanús. Servicio de Cardiología.

Jefe: Prof. Dr. Julio A. Berreta.

**TECNICA**

La técnica de la tripanolisis se aplicó de acuerdo al siguiente procedimiento ya descrito por uno de nosotros y colaboradores: a 0,3 ml de suspensión de critidias con una concentración aproximada de  $3$  a  $4 \times 10^7/cm^3$  se agregaron 0,05 de complemento diluído (un 50 % más que la última dilución que presenta lisis espontánea) y 0,15 de suero inactivado 30 minutos a  $65^\circ$  centígrados diluído 1 : 3 (el suero queda con el título final de 1 : 10). Se incubó 30' a  $37^\circ C$ .

Se realizó la lectura observando una gota fresca entre porta y cubre objeto.

La reacción se considera positiva cuando se lee transformación y lisis. Las critidias pierden su flagelo, su movilidad, se redondean tomando aspecto leishmanoide, se granulan y finalmente se lisan (Figuras 1 y 2).

Las critidias usadas en la reacción son de *Trypanosoma cruzi* cepa Tulahuen provenientes de medios de cultivo bifásicos que llevaban 40 a 50 pasajes previos en dichos medios, los que se iniciaron a partir de sangre de ratones infectados. Se usaron solamente aquellos cultivos que no presentaban formas de leishmanias y cuyas critidias tenían buena movilidad.

Como complemento se usó mezcla de sueros normales de cobayos conservada hasta su uso a  $-70^\circ$  y en los cuales se estableció previamente el límite de su poder lítico espontáneo, efectuando diluciones crecientes.

El fundamento de la reacción es el siguiente:

CUADRO 1. — Comparación de la actividad lítica de sueros humanos normales, inactivados a  $56^\circ C$  y  $65^\circ C$  y sueros humanos de enfermos inactivados a  $65^\circ C$ .

A	B	C	D
Suero de cobayo	Suero de cobayo + Suero humano normal $56^\circ$	Suero de cobayo + Suero humano normal $65^\circ$	Suero de cobayo + Suero humano positivo $65^\circ$
1:10 Lisis	Lisis	L	L
1:20 L	L	L	L
1:30 L	L	L	L
1:40 L	L	L	L
1:50 L	L	L	L
1:60 L	L	—	L
1:70 —	L	—	L
1:80 —	L	—	L
1:90 —	L	—	L
1:100 —	L	—	L
1:110 —	L	—	L
1:120 —	L	—	L
1:130 —	Lisis escasa	—	No se hizo
1:140 —	Lisis escasa	—	No se hizo
1:150 —	Lisis escasa	—	No se hizo

- 1º) El suero de cobayo presenta actividad lítica espontánea hasta diluciones de 1/60.
- 2º) El suero humano normal calentado 30 minutos a  $56^\circ$  adicionado al suero de cobayo aumenta la actividad lítica espontánea de éste comprobándose hasta en diluciones de 1/150.
- 3º) El suero humano normal, calentado durante 30 minutos a  $65^\circ$  no aumenta la actividad lítica espon-

tánea del suero de cobayo, la que por lo tanto no es superior a la hallada cuando éste actúa solo.

- 4º) El suero humano positivo calentado a  $65^\circ$  durante 30 minutos aumenta la actividad lítica del suero de cobayo.

En todos los casos se repitieron las reacciones de tripanolisis (R.T.L.) y la reacción de fijación de complemento (R.F.C.), hasta 3 veces para descartar posibles errores de técnica.



Fig. 1. — Microfotografía mostrando las criticidades al empezar la reacción.



Fig. 2. — Microfotografía mostrando las criticidades deformadas y lisadas (reacción positiva).

## RESULTADOS

De los 70 pacientes, 55 presentaron R.T.L. positiva y 54 R.F.C. positiva. En 13 casos fueron negativas ambas reacciones, siendo todos estos enviados desde Hemoterapia por haberse encontrado R.F.C. positiva en los exámenes de rutina efectuados a donadores de sangre. Ninguno de ellos tenía signos de cardiopatía.

En 2 casos la R.F.C. fue positiva y la R.T.L. negativa y en 3 resultó la R.T.L. positiva y la R.F.C. negativa.

## DISCUSION

Los resultados obtenidos confirman la especificidad de la R.T.L., tomando como testigo la R.F.C. ya que todos los sueros que fueron positivos para la R.F.C. también lo fueron para R.T.L., excepto 2 casos. Idénticos fueron los resultados observados en los 13 negativos, ya que los sueros negativos para la R.F.C. también lo fueron para R.T.L.

En los 2 casos de R.F.C. positiva y R.T.L. negativa se explicaría este resultado por la contaminación bacteriana de los sueros, que se dio en estos 2 casos, y que pudo inhibir la R.T.L. El estudio clínico en estos dos pacientes no demostró cardiopatía.

En aquellos 3 casos con R.T.L. positiva y R.F.C. negativa cabría suponer que la diferencia puede obedecer a las siguientes posibilidades:

- a) Mayor sensibilidad de la R.T.L.
- b) Mayor precocidad de la R.T.L.
- c) Menor tenor de anticuerpos circulantes necesarios para obtener la R.T.L. positiva que R.F.C. positiva.

El estudio de estos 3 pacientes demostró: en 2, cardiopatía dudosa; en 1, cardiopatía evidente.

Nuestros resultados muestran un paralelismo casi absoluto entre ambas reacciones, a diferencia de los del trabajo original<sup>5</sup> sobre tripanolisis que obtuvo un 14,66 % de positividad a favor de la R.T.L.

La diferencia del 14,66 % obtenidos en aquel trabajo podría deberse a la procedencia de zona endémica de los sueros, donde hay mayor posibilidad de reinfección e infección reciente.

Nuestro material fue todo de enfermos crónicos, alejados de zona endémica por lo cual es improbable la reinfección. No obstante se obtuvo un 1,71 % de positividad a favor de la R.T.L. que a pesar de no ser estadísticamente significativo, es de tener en cuenta, ya que en los 3 pacientes que configuran este 1,71 % había cardiopatía.

#### RESUMEN

Se describe la técnica y los resultados de una nueva reacción serológica de tipo lítica para el diagnóstico de enfermedad de Chagas, la que se fundamenta en la eliminación de los anticuerpos naturales (inespecíficas) del suero humano conservándose la actividad de los anticuerpos líticos adquiridos, con los que se obtiene una lisis de críditas.

Los resultados obtenidos, muestran una concordancia casi absoluta de la Reacción de Tripanolisis (R.T.L.) con la Reacción de fijación de Complemento (R.F.C.) obteniéndose 1.71% de positividad a favor de la primera.

Se observó también cierta concordancia de la R.T.L. con la clínica, ya que de 3 casos con R.T.L. positiva y R.F.C. negativa, uno mostró cardiopatía verosímilmente chagásica y los 2 restantes cardiopatía dudosa.

En 2 casos con R.T.L. negativa y R.F.C. positiva los estudio realizados no demostraron cardiopatía.

#### SUMMARY

The technique of a new serologic reaction for the Chagas diseases is described. It is based on the elimination of natural antibodies (unspecified) of the human serum, keeping the acquired antibodies in activity, which produce a destruction of críditas.

The results obtained show a near absolute accordance of R.T.L. (Tripanolisis reaction) with R.F.C. (Fixation Complement Reaction) of which 1.7 % is in positive favour for the former.

We have also observed a certain agreement of A.T.L. with the clinical state, is in 3 cases of R.T.L. positive and R.F.C. negative one shows a chaga's Cardiopatya and the other 2 a doubtful cardiopatya.

In 2 cases with negative R.T.L. and positive R.F.C. the observed results did not show Cardiopatya.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Laveran, A.: C. R. Acad. Sci. París, 1902, 134, 735.
2. York, W., Adams, A. R. D., Murgatroyd, F.: Ann. Trop. Med. Parasit. 1930, 24, 115.
3. Muniz, J., Borrielo, A: Rev. Bras. Biol. 1945, 5, 563.
4. Muniz, J. Moraes: Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo 1962, 4, 112.
5. Dres. Yanovsky, J. F.; González Cappa, S. M.; Garavelli, H. J.; Traversa, O. C. y Schuñis, G. A.. Rev. Soc. Arg. Biolg 1965, 41, 166.

#### PRIMER CONGRESO ARGENTINO E INTERNACIONAL DEL MAGNESIO

Tendrá efecto desde el 3 hasta el 8 de septiembre de 1967 en la Academia Nacional de Medicina, Las Heras y Coronel Días, Buenos Aires. Secretario General es el Dr. Alfredo Vidal Freyre, Ayacucho 1427, T. E. 41-1618.

#### POSTERGACION DEL III CONGRESO SUDAMERICANO DE CARDIOLOGIA

Las autoridades del III Congreso Sudamericano de Cardiología y del XXIII Brasileño de Cardiología han informado que se han visto obligadas a postergar los mencionados Congresos, que debían efectuarse entre el 2 y el 8 de julio en San Pablo, hasta el 16 - 22 de julio de 1967.