

## Estudio comparativo entre los antígenos de *Schizotrypanum cruzi* y de *Strigomonas oncopelti* en la reacción de fijación del complemento para enfermedad de Chagas

por

Angeles Berríos\* y Rodrigo Zeledón\*\*

(Recibido para su publicación el 20 de setiembre de 1960)

Varios investigadores han empleado antígenos de diversos tripanosómátidos en la reacción de fijación del complemento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. MUNIZ en 1930 (5) demuestra que un antígeno de *Trypanosoma equiperdum* fijaba el complemento en presencia de sueros de chagásicos. Posteriormente MUNIZ y FREITAS (6) demuestran lo mismo empleando antígenos de *Leishmania brasiliensis* y *T. equinum*.

En el presente trabajo damos a conocer los resultados obtenidos con el uso de un antígeno de *S. oncopelti*, parásito de insectos fitófagos, comparado con el antígeno homólogo en la reacción de fijación del complemento con sueros de presuntos chagásicos. Por ser *S. oncopelti* un organismo relativamente poco exigente, fácilmente cultivable en medios líquidos comunes libres de proteínas, y aún en un medio sintético (8), la posibilidad de que pudiera sustituir como antígeno al preparado a partir de *S. cruzi* nos hizo pensar que su uso introduciría ventajas técnicas en la reacción mencionada.

### MATERIAL Y METODOS

Para las reacciones se siguieron las técnicas cualitativa de KOLMER (4) y cuantitativa de FREITAS (2) ligeramente modificadas. Los detalles han sido dados en una publicación aparte (1). Se seleccionaron 57 sueros por la técnica cualitativa que dieron una fijación con antígeno de *S. cruzi* así: 10 de 4 cruces,

---

\* Departamento de Microbiología, Universidad de Costa Rica.

\*\* Departamento de Parasitología, Universidad de Costa Rica.

31 de 3 cruces y 16 de 2 cruces. De estos sueros 30 (6 de 4 cruces, 22 de 3 cruces y 2 de 2 cruces) se probaron de nuevo para el antígeno homólogo y para el antígeno de *S. oncopelti*. Además, se incluyeron sueros controles de 5 casos de enfermedad de Chagas comprobados parasitológicamente, de 8 casos de leishmaniasis cutánea (6 curados y 2 activos) y 3 sueros de personas aparentemente normales. En la reacción cuantitativa probamos todos los 57 sueros mencionados contra extractos de antígenos de ambos parásitos. Para esta técnica se usaron los mismos controles mencionados arriba.

Para ambas técnicas los antígenos fueron preparados en medio líquido (9). En la prueba cualitativa se empleó 0,2 ml de una suspensión de *S. cruzi* preparada a partir de un volumen de flagelados más 39 volúmenes de solución salina mertiolatada y como antígeno de *S. oncopelti* se usó de 0,2 a 0,4 ml de una suspensión de un volumen de flagelados más 19 volúmenes de solución salina mertiolatada. Para la prueba cuantitativa las cantidades de antígeno usadas en la reacción final fueron: en el caso de *S. cruzi* 0,1 ml de una dilución 1/20 y en el caso de *S. oncopelti* 0,1 ml de una dilución 1/10. Esta cantidad usada del antígeno heterólogo fue la que en presencia de sueros positivos dió una fijación comparable a la dada por el antígeno homólogo.

## RESULTADOS

Con la prueba cualitativa se verificó la intensidad de la reacción de los sueros positivos con el antígeno homólogo, que no dió reacciones cruzadas con los sueros de leishmaniasis excepto en dos de ellos de pacientes con posible tripanosomiasis concomitante (4 cruces). Los casos de enfermedad de Chagas usados como controles dieron todos fuerte fijación (3 y 4 cruces) y los sueros normales mostraron reacción negativa. El antígeno de *S. oncopelti* fue incapaz de fijar el complemento en presencia de ninguno de los sueros mencionados.

Los resultados obtenidos por la técnica cuantitativa para ambos antígenos están expresados en el cuadro 1. En el cuadro 2 se analiza la distribución de los títulos de los sueros positivos con esta técnica. En el cuadro 3 se comparan los títulos de 7 sueros seleccionados por presentar una diferencia mayor de 0,5. Además, varios de los sueros positivos con antígeno homólogo dieron títulos dudosos para el heterólogo y en un único caso se obtuvo un título fuertemente positivo con *S. oncopelti* y dudoso con *S. cruzi* (cuadro 4). En los cuadros 5 y 6 se presentan, también comparativamente, los títulos obtenidos en los casos de tripanosomiasis y de leishmaniasis usados como testigos.

## DISCUSION

Los antígenos heterólogos que hasta ahora habían sido empleados en la reacción de fijación del complemento de tipo Kolmer para enfermedad de Chagas, se habían encontrado tan efectivos como el antígeno homólogo (5, 6). Los estudios aquí expuestos permiten determinar que un antígeno preparado a partir de *S. oncopelti* no es capaz de fijar el complemento en presencia de su-

## CUADRO 1

Resultado de las reacciones por la técnica cuantitativa para ambos antígenos.

Antígeno	Nº de reacciones	Positivas ( $>1,9$ )	Dudosas (1,5 a 1,9)	Negativas
<i>S. cruzi</i>	57	44	11	2
<i>S. oncopelti</i>	57	41	11	5

## CUADRO 2

Distribución de frecuencias de títulos positivos con la técnica cuantitativa para ambos antígenos.

Título	<i>S. cruzi</i>	<i>S. oncopelti</i>
2,00 — 2,49	26	33
2,50 — 2,99	11	6
3,00 — 3,49	5	1
3,50 — 3,99	0	1
4,00 — 4,49	0	0
4,50 — 5,00	2	0

## CUADRO 3

Comparación de casos positivos con ambos antígenos pero con títulos diferentes en más de 0,5. Las cifras expresadas son un promedio de dos determinaciones independientes para cada caso.

<i>S. cruzi</i>	<i>S. oncopelti</i>
2,0	3,4
2,5	2,0
3,0	2,1
3,0	2,5
3,2	2,4
4,7	2,3
4,7	2,4

## CUADRO 4

*Análisis de los casos positivos para un antígeno y dudosos para el otro o viceversa. Las cifras expresadas son un promedio de dos determinaciones independientes para cada caso.*

<i>S. cruzi</i>	<i>S. oncopelti</i>
1,8	3,8
2,4	1,9
2,4	1,9
2,5	1,4
2,7	1,7
2,9	1,9

## CUADRO 5

*Títulos de los casos de tripanosomiasis crónica parasitológicamente comprobada usados como testigos. Las cifras expresadas son un promedio de dos o tres determinaciones independientes para cada caso.*

<i>S. cruzi</i>	<i>S. oncopelti</i>
2,2	2,1
2,4	2,2
2,7	2,5
2,8	2,4
3,0	2,8

## CUADRO 6

*Títulos de casos de leishmaniasis usados como testigos. Las cifras expresadas son un promedio de dos determinaciones independientes para cada caso.*

<i>S. cruzi</i>	<i>S. oncopelti</i>
1,6	1,9
1,4	2,0
1,5	2,0
1,5	2,3
1,4	2,5
1,6	4,1
2,7	4,1
3,0	5,3

ros de chagásicos por una técnica del mismo tipo. En un estudio hecho por MUNIZ y FREITAS (7), en donde expresan haber extraído polisacáridos de diversos tripanosomátidos de invertebrados, incluyendo *Leptomonas oncopelti* (= *S. oncopelti*) y haberlos probado contra diversos antisueros, los autores llegan a la conclusión de que estos antígenos no reaccionan con antisueros contra flagelados de vertebrados en prueba de precipitinas. Por otro lado la reacción es cruzada entre los diversos polisacáridos y antisueros preparados a partir de los parásitos de vertebrados por ellos empleados. Este tipo de reacción, aunque distinto del que nos ocupa, pareciera indicar importantes diferencias antigénicas entre tripanosomátidos de vertebrados y de invertebrados, ahora parcialmente confirmadas con nuestros resultados usando suspensiones de flagelados.

El antígeno de *S. oncopelti* previamente tratado con benceno según la técnica de FREITAS y ALMEIDA (3), sí fue capaz de fijar el complemento en presencia de sueros de chagásicos siguiendo la técnica cuantitativa (2); sin embargo, este antígeno dió títulos en general más bajos que los obtenidos con el antígeno homólogo lo cual hizo que 3 de las reacciones consideradas como positivas con antígeno de *S. cruzi* fueran negativas con antígeno de *S. oncopelti*.

En el caso de los sueros de individuos que habían padecido leishmaniasis cutánea los títulos con antígeno de *S. oncopelti* se muestran más altos que con antígeno de *S. cruzi*; la mayoría de estos casos alcanzaron títulos superiores a 2,0 con el primero y sólo en dos pacientes, en los cuales se sospechó infección chagásica concomitante, la reacción mostró títulos superiores a esa cifra en presencia de antígeno de *S. cruzi*.

Los resultados obtenidos con la reacción cuantitativa nos muestran que, si bien el antígeno de *S. oncopelti* puede fijar el complemento en presencia de sueros de chagásicos no nos permitiría sin embargo diagnosticar un cierto número de ellos. Por otro lado el antígeno se comporta como menos específico para el diagnóstico de enfermedad de Chagas aumentando las falsas reacciones positivas de grupo.

## RESUMEN

Se practica comparativamente la reacción de fijación del complemento con antígenos preparados a partir de formas de cultivo de *S. cruzi* y de *S. oncopelti* por las técnicas cualitativa de KOLMER y cuantitativa de FREITAS ligeramente modificadas. Se emplean 57 sueros positivos (3 y 4 cruces) y dudosos (2 cruces) seleccionados por la técnica de KOLMER con antígeno de *S. cruzi* y como controles se incluyen los sueros de 5 casos comprobados de enfermedad de Chagas, de 8 de leishmaniasis cutánea y 3 de personas normales. El antígeno de *S. oncopelti* se mostró incapaz de fijar el complemento por la técnica cualitativa. Por la técnica de FREITAS el antígeno heterólogo dió reacciones, en general, con títulos más bajos y se mostró menos específico al reaccionar más intensamente que el antígeno de *S. cruzi* en presencia de los sueros de casos de leishmaniasis tegumentaria.

## SUMMARY

Complement fixation test using culture forms of *Schizotrypanum cruzi* and *Strigomonas oncopelti* as the antigens were carried out and compared employing the Kolmer qualitative and the Freitas quantitative techniques, both slightly modified. 57 positive (3 and 4 plus) and doubtful (2 plus) sera were used, selected by the Kolmer technique using *S. cruzi* as the antigen and sera of 5 cases of verified Chagas disease, of 8 cases of cutaneous leishmaniasis, and of 3 normal individuals were employed as the controls. The *S. oncopelti* antigen did not fix complement in the qualitative test. Using the Freitas technique, the heterologous antigen gave, in general, lower titers and was less specific since it reacted more strongly than the *S. cruzi* antigen against sera of cases of cutaneous leishmaniasis.

## AGRADECIMIENTO

Los autores desean dejar constancia de su agradecimiento a la Dra. Helene A. Nathan, de Haskins Laboratories, New York, por haber facilitado la cepa de *S. oncopelti* con que trabajaron.

## BIBLIOGRAFIA

1. BERRÍOS, A.  
1960. Investigaciones sobre enfermedad de Chagas en Costa Rica por la reacción de fijación del complemento. *Rev. Biol. Trop.*, 8(2):203-218.
2. FREITAS, J. L. P. DE  
1951. Reação de fixação do complemento para diagnóstico da moléstia de Chagas pela técnica quantitativa. *Arq. Hig. Saúde Publ.*, 16 (48): 55-94.
3. FREITAS, J. L. P. DE & J. O. ALMEIDA  
1949. Nova técnica de fixação do complemento para moléstia de Chagas. *O Hospital*, 35 (6): 787-800.
4. KOLMER, J. A. & E. R. LYNCH  
1948. Cardioliipin antigens in the Kolmer complement fixation test for syphilis. *J. Ven. Dis. Inform.*, 29: 166-172.
5. MUNIZ, J.  
1930. Del uso del antígeno de Watson (*T. equiperdum*) en la reacción de desviación del complemento en la enfermedad de Chagas. *5ª Reunión Soc. Patol. Reg.*, 2: 897.
6. MUNIZ, J. & G. DE FREITAS  
1944. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. I Estudo comparatorio entre as reações de aglutinação e de fixação do complemento. *Mem. Inst. Osw. Cruz*, 41 (2): 303-333.

## 7. MUNIZ, J. &amp; G. DE FREITAS

1944. Contribuição para o diagnóstico da doença de Chagas pelas reações de imunidade. II Isolamento de polisacarídeos do *S. cruzi* e de outros tripanosomídeos, seu comportamento nas reações de precipitação, de fixação do complemento e de hipersensibilidade. Os test de floculação (sublimado e formol gel). *Rev. Bras. Biol.*, 4 (4): 421-438.

## 8. NEWTON, B. A.

1956. A synthetic growth medium for the trypanosomid flagellate *Strigomonas* (*Herpetomonas*) *oncopelti*. *Nature*. 177: 279-280.

## 9. ZELEDÓN, R.

1959. Differentiation of *Trypanosoma rangeli* and *Schizotrypanum cruzi* in a liquid medium, with notes on the nutrition of hemoflagellates. *J. Parasit.*, 45 (6): 652.