

Después de examinar los conocimientos actuales de la morfología, multiplicación y transmisión del Trypanosoma cruzi, este artículo trata sobre los modelos animales que pueden servir para comprender los mecanismos inmunitarios que actúan en la enfermedad de Chagas. Se estudia la función de los anticuerpos circulantes y de la inmunidad por mediación celular en la protección contra el parásito, junto con la posibilidad de que algunas de las lesiones observadas en los pacientes con esta enfermedad se deban a mecanismos inmunopatológicos. Asimismo se mencionan los métodos de inmunodiagnóstico disponibles y la posibilidad de producir una vacuna para uso humano a la luz de los recientes resultados obtenidos en animales. Por último, se formula una serie de recomendaciones para investigaciones futuras.

Introducción

La enfermedad de Chagas se debe a la infección por el *Trypanosoma (Schizotrypanum) cruzi*, un flagelado del orden de los cinetoplástidos, al que pertenecen también los organismos que causan la enfermedad del sueño africana (*Trypanosoma Trypanozoon brucei* spp.), el kala-azar y la leishmaniasis cutánea (*Leishmania* spp.). Los redúvidos hematófagos o triatomas, son los transmisores principales de *T. cruzi*.

La enfermedad de Chagas se encuentra ampliamente diseminada en Centro y Sudamérica y afecta sobre todo a las poblaciones rurales que habitan en viviendas deficientes. Puesto que las estadísticas de esas poblaciones son limitadas o inexistentes, es difícil determinar la prevalencia exacta de la enfermedad. Sin embargo, no puede dudarse acerca de su importancia, pues por lo común se identifican casos clínicos y defunciones en extensas zonas de Centro y Sudamérica, que llegan hasta la región central de la Argentina.

Se sabe que con frecuencia la enfermedad es mortal y prácticamente incurable; aún no se ha descubierto un agente quimioterapéutico de aplicación general.

Morfología y multiplicación

El *T. cruzi* se halla en tres formas morfológicamente distintas relacionadas con tres medios diferentes en que habita el parásito (figura 1).

Los *amastigotes* no tienen flagelos; son organismos de forma esférica u ovalada de unos 2 μm de diámetro y representan una forma de multiplicación que se encuentra intracelularmente en los mamíferos huéspedes.

Los *epimastigotes* tienen el cinetoplasto situado delante del núcleo y un flagelo y una membrana ondulante corta; son organismos fusiformes de unos 20 μm de longitud y representan una forma de multiplicación que se encuentra en el tubo digestivo del vector y en cultivos.

Los *trypomastigotes*, tienen el cinetoplasto situado detrás del núcleo y un flagelo, así como una membrana ondulante, a lo largo del organismo; miden unos 20 μm de largo y representan una forma infecciosa no multiplicativa. Aparecen en la luz del recto de los redúvidos y son infecciosos para los mamíferos. También se encuentran en el mamífero huésped, donde transmiten la infección de una célula a otra o la inician en el redúvido cuando se ingieren con la sangre.

¹ Este trabajo fue preparado por los signatarios cuyos nombres aparecen al final, pág. 251.

² Publicado en inglés en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 50, No. 5, págs. 459-492, 1974.

FIGURA 1—Diagrama que ilustra las formas morfológicas en el ciclo biológico del *Trypanosoma cruzi*.

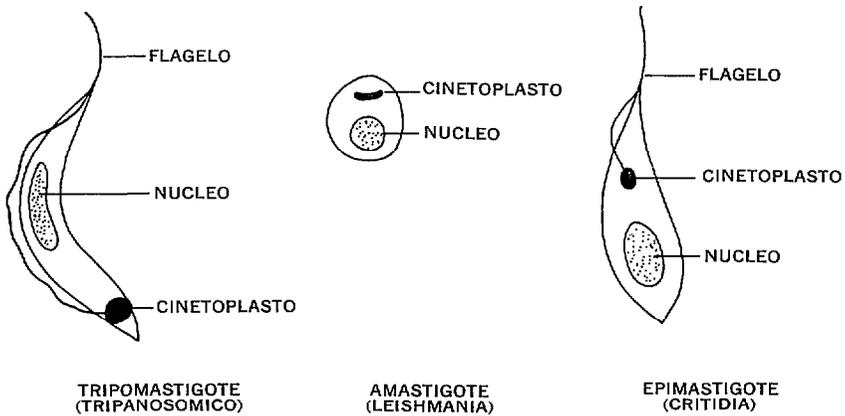
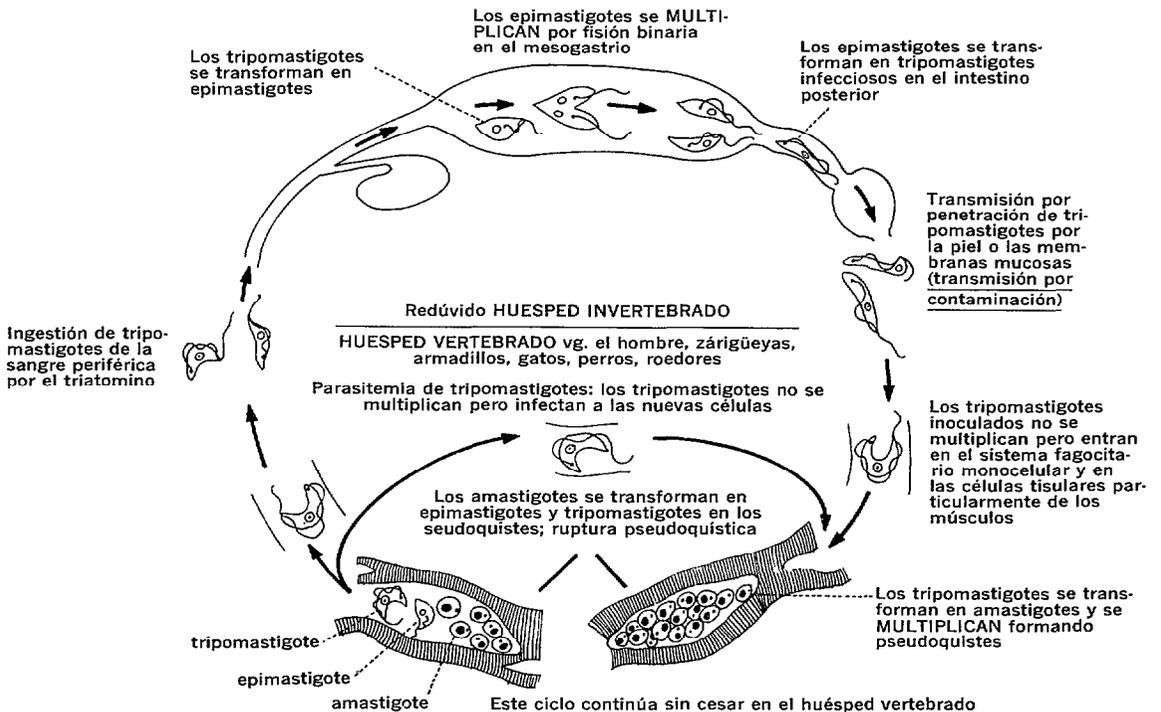


FIGURA 2—Ciclo biológico del *Trypanosoma cruzi*.



Transmisión

Los triatomíneos se infectan al ingerir tripomastigotes (figuras 1 y 2) de la sangre periférica de mamíferos infectados. En la luz del mesogastrio de los insectos, los organismos se multiplican en forma de epimastigotes y, después de un período de 15 a 30 días, su proliferación conduce a la formación de tripomastigotes metacíclicos en el recto del insecto. Estas formas infecciosas se expulsan con las heces del triatomíneo, y los tripomastigotes empiezan la infección en nuevos huéspedes al penetrar por las abrasiones de la piel o por las membranas mucosas. Esta transmisión se denomina "de estación posterior" o "por contaminación", y difiere del mecanismo de transmisión de los tripanosomas de la enfermedad del sueño. En la tripanosomiasis africana las formas infecciosas están asociadas a las partes bucales del insecto vector y se introducen en los nuevos huéspedes por la picadura de ese insecto ("de estación anterior" o transmisión "por inoculación").

Multiplificación en el mamífero huésped

Los tripanosomas infectantes del insecto penetran en las células y se multiplican en forma de amastigotes formando los denominados pseudoquistes, que son células repletas de amastigotes (figura 2). Luego los amastigotes se transforman en tripomastigotes y, al romperse las células, quedan libres para invadir otras células o para ser ingeridos por un insecto.

Curso de la infección y patología de la enfermedad

La enfermedad de Chagas en el hombre y en los animales de experimentación parece presentar cuatro fases distintas.

1. *El período de incubación*, con la proliferación de amastigotes dentro de las células, la transferencia de una célula a otra en forma de tripomastigotes y la introducción precoz de estos en el torrente sanguí-

neo. Esta fase dura de una a tres semanas.

2. *La fase aguda*, a menudo caracterizada por chagoma, fiebre y hepatosplenomegalia. El chagoma es una lesión cutánea nodular en la puerta de entrada. Cuando esta vía de entrada es la conjuntiva, puede producirse una lesión edematosa en el párpado (signo de Romana). Ambas lesiones se caracterizan por un infiltrado casi exclusivamente mononuclear. Esta fase, que dura dos o tres semanas, va acompañada de un aumento pronunciado de organismos "in situ". Los ganglios linfáticos que drenan el lugar se dilatan y muestran lo que se ha dado en llamar inflamación no específica. A menudo la enfermedad aguda va acompañada de una parasitemia franca (tripomastigotes), con la consecuente invasión de las células de numerosos órganos, en las que proliferan. La capacidad del parásito para invadir determinados sistemas orgánicos varía según las cepas; en ambos extremos de este margen de diferencias se encuentran las cepas reticulotrópicas y miotrópicas, las primeras de las cuales suelen ser más virulentas. Al parecer, los parásitos intracelulares no provocan reacciones inflamatorias. Estudios de inmunofluorescencia han demostrado que los constituyentes antigénicos se encuentran dentro de los pseudoquistes, y que su ruptura, con la liberación extracelular de antígenos, va seguida de inflamación. Se produce una infiltración en masa de células mononucleares. Las lesiones graves de este tipo, en el corazón u otro sistema orgánico, pueden causar la muerte. En ciertos órganos como el esófago, el colon y el corazón pueden ocurrir lesiones en ganglios de los plexos autónomos. Se ha descrito la presencia de invasión parasitaria (principalmente de células satélites pero también ganglionares), destrucción e infiltración mononuclear subsiguiente. Rara vez se presenta meningoencefalitis. Esta fase puede durar varios meses.

3. *La forma indeterminada o latente*, en la que no se observa enfermedad clínica

pero sigue una parasitemia baja, al parecer debido a la constante multiplicación intracelular de parásitos en varios órganos. Este período puede durar indefinidamente o convertirse en enfermedad de Chagas crónica. Nunca se ha informado de casos de cura espontánea, con eliminación del parásito.

4. *La enfermedad crónica* por lo general aparece a los 10 años o más después de la infección inicial. Esta fase se caracteriza por miocarditis progresiva o dilatación irreversible de vísceras huecas. La lesión cardíaca presenta infiltración de células mononucleares, destrucción de fibras miocárdicas y fibrosis intersticial, y va acompañada de acumulación perivascular y a veces intersticial de células plasmáticas. Por lo común está afectado el tejido conductor. Es muy difícil demostrar la presencia de parásitos. En el aparato digestivo, la disperistalsis, que puede deberse a la pérdida de células ganglionares autónomas u otros cambios no identificados que afectan a los plexos, produce megasófago y megacolon.

Modelos animales

Se ha afirmado que la enfermedad de Chagas provocada experimentalmente en perros se parece mucho a la afección humana en todas sus fases (12). En animales pequeños de laboratorio el curso de la enfermedad varía en forma considerable según el huésped y las cepas de parásitos que se empleen, la vía de inoculación y el volumen del inóculo. En las cepas de ratones de laboratorio que se emplean por lo común, la infección de tripomastigotes produce una lesión en el punto de inoculación y un estado morbosos agudo comparable con el que se observa en el hombre. Sin embargo, existen diferencias muy pronunciadas en la resistencia de diversas cepas de ratones al *T. cruzi* (24). Las cepas más resistentes quizá constituyan un buen modelo para la enfermedad crónica. El empleo de ratones es de utilidad especial porque se dispone de

información abundante sobre sus sistemas inmunológicos.

Analogía con otras enfermedades humanas

Las características generales de la enfermedad de Chagas muestran una similitud a las de la sífilis, con sus fases primaria, secundaria, latente y terciaria. Pero hasta la fecha esta semejanza no ha proporcionado ninguna luz que pueda usarse en el estudio de la enfermedad de Chagas. En las leishmaniasis, caracterizadas por la proliferación intracelular de amastigotes, puede hallarse una mejor analogía de la fase intracelular de la infección por *T. cruzi*. También podrían compararse la tripanosomiasis africana y la fase de tripomastigotes de la enfermedad de Chagas. Por ejemplo, existe un asombroso parecido entre el aspecto clínico y la histopatología de la lesión inicial en la puerta de entrada: el chagoma en las infecciones por *T. cruzi* y el chancro en las infecciones por *T. rhodesiense*. Otras similitudes entre la tripanosomiasis africana y la americana son las lesiones cardíacas, especialmente la fibrosis y la infiltración con células mononucleares. Sin embargo, no hay que ignorar las diferencias notables que existen entre las dos enfermedades, como los elevados y continuos niveles de IgM en la tripanosomiasis africana (26) frente al aumento temporal en el caso de la enfermedad de Chagas (17, 25). Además, las preferencias por la localización de las lesiones son distintas: el cerebro, durante las fases tardías de la tripanosomiasis africana, en comparación con las vísceras y el corazón en la forma americana. Además, la afección cardíaca aguda de la primera de esas tripanosomiasis difiere de la causada por la enfermedad de Chagas en el sentido de que los parásitos son extracelulares y provocan una reacción inflamatoria violenta. La anemia hemolítica es una complicación común de la enfermedad africana, mientras que en la americana no se ha notificado la presencia de signos manifiestos. No obstante, no

se ha excluido todavía la posibilidad de que ocurran formas subclínicas de anemia en la enfermedad de Chagas. En las infecciones por *T. cruzi* no se han observado la nefritis y los depósitos de inmunocomplejos que se encuentran en infecciones experimentales por tripanosomas del complejo *brucei*.

Diagnóstico

El diagnóstico en la fase aguda de la enfermedad es sencillo ya que, por lo común, se puede demostrar la presencia de tripomastigotes en la sangre periférica mediante la microscopía. En cambio, durante las fases latente y crónica, o sea casi durante el resto de la vida del mamífero huésped infectado, la parasitemia es muy baja y difícil, si no imposible, de demostrar. Se considera que los métodos directos, como el examen microscópico de gota gruesa de sangre, concentración por centrifugación u otros medios, son menos sensibles que los multiplicadores, como el xenodiagnóstico, el cultivo o la inoculación de ratones de laboratorio. El xenodiagnóstico—o sea, la alimentación de triatominos sobre un huésped sospechoso, utilizando insectos criados en el laboratorio y que se sabe que no están infectados, y su examen subsiguiente unas semanas después para determinar la presencia de parásitos en la luz intestinal—se acepta por lo común como el método más sensible, pero es laborioso, lento y algo peligroso para el personal que examina los insectos.

Las pruebas serológicas para determinar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* (22), como la fijación del complemento, la hemaglutinación indirecta y la inmunofluorescencia indirecta, proporciona resultados generalmente comparables. No obstante, es preciso uniformar el material y las técnicas empleadas. Estas pruebas indican una infección anterior pero no la infectiosidad epidemiológica actual de los huéspedes.

Epidemiología

Se ha descrito el ciclo general de transmisión de *T. cruzi* de un huésped vertebrado a otro con la evolución cíclica en triatominos. El factor más importante que predispone a la infección humana es la habitación de viviendas mal construidas, infestadas de triatominos. Estos se albergan en las grietas de las paredes y el techo y salen de noche para nutrirse de los seres humanos y de los animales domésticos que habitan en la casa. Una vivienda muy infestada puede contener hasta varios millares de triatominos, el 70% de los cuales puede estar infectado. En esas circunstancias, la prevalencia de la infección entre los habitantes humanos puede aproximarse al 100%.

También se ha informado de la presencia de *T. cruzi*, o cuando menos de organismos que no pueden distinguirse morfológicamente de este parásito, en numerosas especies de triatominos muchas de las cuales no suelen picar al hombre, y en 92 especies, por lo menos, de animales salvajes (6)—incluidos marsupiales, roedores y primates—muchos de los cuales son selváticos y no están en contacto estrecho con el hombre. Es poco probable que todos estos organismos semejantes al *T. cruzi* representen una sola población en continuación a la que infecta al hombre; seguramente muchos representan ciclos separados de transmisión que no afecta al ser humano. Pero en el estado actual de nuestros conocimientos no podemos diferenciar estos organismos y simplemente tenemos que hacer conjeturas acerca de la importancia relativa de los huéspedes domésticos y salvajes, a base de las pruebas circunstanciales en cuanto a su asociación estrecha con el hombre y al hecho de que, al igual que el ser humano, sirven de huésped a especies de triatominos posiblemente vectores. Así que, para determinar las características epidemiológicas naturales, importantes para la transmisión del *T. cruzi* al hombre, se requieren métodos para caracterizar las poblaciones de

T. cruzi que permitan distinguir, entre los numerosos parásitos presentes en la naturaleza, los ciclos de transmisión en los que interviene el hombre. Al parecer, la mayor parte de la transmisión de *T. cruzi* de importancia epidemiológica inmediata es la de una persona a otra o de un animal domiciliario al hombre, pero para la planificación de programas de control y erradicación se requiere información acerca de los ciclos selváticos que cabe esperar renovarán el ciclo doméstico en el que interviene el hombre.

Recomendaciones

1. Se requieren estudios de la posible función de factores genéticos en la resistencia a la infección por *T. cruzi*, sobre todo la relación de los antígenos de histocompatibilidad HL-A y H2 en el hombre y en los ratones, respectivamente, con las distintas formas de la enfermedad de Chagas.

2. El empleo de cepas de ratón de susceptibilidad genética conocida a la *Leishmania* y la comparación de cepas muy susceptibles al *T. cruzi* (v.g., C3H) o muy resistentes (v.g., C57 negra) podrían proporcionar datos importantes sobre la predisposición.

3. A fin de estudiar debidamente tanto las formas agudas como las crónicas de la enfermedad de Chagas, conviene tener modelos animales de ambas fases de la enfermedad. Debería examinarse en particular la utilidad de los perros y primates como modelos para la enfermedad de Chagas crónica. También es preciso considerar la posible complicación de otras enfermedades comunes acompañadas de afección cardíaca, como la leptospirosis y la dirofilariasis canina.

4. Se necesitan otros estudios sobre la histopatología de los ganglios linfáticos y el bazo.

En las referencias bibliográficas (11, 15, 19, 20) figura más información general sobre los temas mencionados.

La relación huésped-parásito

Variaciones en la patología de la enfermedad de Chagas

Un problema básico que se plantea por lo general en la protozoología es cómo ex-

plicar la gran diversidad de efectos patológicos que puedan estar asociados con la infección de huéspedes vertebrados por organismos de morfología idéntica. El *T. cruzi* en el hombre constituye un buen ejemplo. Las condiciones originadas por la infección varían desde la ausencia de manifestaciones clínicas hasta las formas letales a corto o largo plazo. Es evidente que estas diferencias en el efecto patológico están determinadas no solamente por las diferencias en los dos componentes—el huésped y el parásito—pero también por las numerosas maneras en que las distintas poblaciones de parásitos pueden reaccionar con las poblaciones huéspedes.

Se reconoce de modo general que las características clínicas de la enfermedad de Chagas varían según las zonas de su distribución geográfica. En la Argentina se observan casos agudos con más frecuencia que en ningún otro lugar, y las afecciones intestinales extremas, comunes en el centro del Brasil, son raras en Venezuela. No obstante, se requiere información más precisa y detallada al respecto; convendría establecer un sistema de registro y notificación de casos de la enfermedad de Chagas y llevar a cabo investigaciones epidemiológicas en localidades afectadas, seleccionadas al azar.

Por lo tanto, es importante clasificar los dos componentes (huésped y parásito) y estudiar el parásito, que es el que parece ofrecer ventajas más inmediatas. La caracterización de las poblaciones de organismos probablemente tendría la ventaja de permitir la identificación de ciclos de transmisión selvática importantes para mantener la enfermedad humana.

Factores del parásito

Un factor que puede causar las variaciones en el cuadro clínico de la enfermedad de Chagas en diferentes zonas geográficas es la cepa del parásito de que se trate. Se ha demostrado que el comportamiento de las distintas cepas puede ser muy distinto en

animales de laboratorio en cuanto a características tales como el curso de la infección, el grado de parasitemia, tropismos tisulares, alteraciones histopatológicas y mortalidad. Dichas características, consideradas aisladamente, tienen poco valor; sin embargo, si se agrupan varias de ellas, las peculiaridades de las cepas de *T. cruzi* podrían caracterizarse y servir de base para comparar las cepas de este parásito procedentes de distintas zonas geográficas. Por ejemplo, un estudio de 14 cepas obtenidas de pacientes humanos y dos de vectores infectados, capturados en viviendas de diversos lugares de una región del Brasil, reveló esencialmente el mismo comportamiento en animales de laboratorio. Cepas de *T. cruzi* de Colombia y Perú, que diferían de las brasileñas, permanecieron estables en cuanto a esas características durante varios años de observación en el laboratorio.

Las tentativas de tipificar cepas inmunológicamente han indicado que se pueden clasificar por grupos serológicos (8, 31). Hasta la fecha este agrupamiento no ha mostrado correlación con otros factores, como la patogenicidad, distribución geográfica o epidemiología (10, 31). Trabajos recientes sobre la caracterización de algunos otros protozoos—*Plasmodium* y *Leishmania*—con medios bioquímicos ofrecen buenas perspectivas, y la aplicación de esos métodos podría extenderse al *T. cruzi*.

Factores del huésped

Los factores del huésped se prestan menos a la estandarización y por lo tanto al estudio sistemático, pero es evidente que puede variar la reacción de las diferentes cepas de ratón a la infección por la misma cepa del parásito. En cuanto al huésped humano, se ha sugerido que los factores étnicos (genéticos), nutricionales, sociales y de otra naturaleza quizá sean pertinentes a este respecto.

Estrategia del estudio de las poblaciones parasitarias

En cualquier situación natural, ya sea en el huésped vertebrado o en el insecto vector, es muy posible que la población tripanosómica sea heterogénea y constituya la acumulación de varias y distintas infecciones ocurridas en el pasado. Por eso el procedimiento de introducir en el laboratorio en animales susceptibles o en cultivos (aislamientos), organismos procedentes de estudios realizados en la naturaleza, conlleva el peligro de seleccionar organismos que no sean los que tienen realmente interés patológico. Además, al mantener poblaciones de organismos en el laboratorio en pases seriados, ya sea en animales susceptibles o en cultivos, se corre el riesgo de seleccionar entre las poblaciones aisladas las que se adaptan con más facilidad a las condiciones especiales del laboratorio. Estas posibilidades no pueden impedirse del todo, pero la criopreservación de las poblaciones parasitarias en el pase más temprano posible pueden reducirlas al mínimo (18). La formación de clonas puede evitar la posibilidad de que surjan diferencias en el comportamiento de la "cepa" en distintos estudios debidas a la selección de diferentes componentes de una población heterogénea. Por consiguiente, estos procedimientos deben adoptarse siempre que sea posible.

Al considerar las ventajas de estudiar la clasificación de poblaciones protozoarias, es preciso distinguir entre la caracterización (procedimientos para identificar poblaciones protozoarias) y la taxonomía (interrelaciones de los diversos tipos y especies). En estudios llevados a cabo sobre arbovirus, los procedimientos para identificar poblaciones víricas mostraron una utilidad patológica y epidemiológica más inmediata que la información sobre las interrelaciones de los distintos arbovirus.

El valor relativo de las características disponibles para clasificar las poblaciones protozoarias

Estas características varían según la medida en que se pueda establecer su relación directa con las poblaciones protozoarias objeto de estudio o se presten a influencias extrañas. A continuación se sugiere una clasificación de las características.

Características intrínsecas, relacionadas directamente con el organismo: Morfología por microscopía óptica, por microscopía electrónica; estructura química, densidad flotante ADN, hibridación ADN, configuración isoenzimática; caracterización antigénica por respuesta humoral (serotipificación), respuesta de base celular, protección.

Características extrínsecas, relacionadas con la reacción a otros componentes del organismo: Comportamiento en huéspedes de laboratorio, en insectos vectores y en cultivo, y resultado clínico en el hombre.

Aunque hace intervenir un componente extraño al organismo, la caracterización antigénica se incluye entre los factores intrínsecos puesto que puede considerarse como una forma de reconocer características particulares del organismo. Con respecto a las características extrínsecas, los huéspedes de laboratorio, los vectores y el cultivo se prestan a la estandarización hasta cierto punto, por lo que el comportamiento en esos contextos se considera más significativo que el resultado clínico en el hombre, donde prácticamente no pueden utilizarse parámetros consistentes.

Recomendaciones

1. Es preciso mejorar los métodos para provocar la multiplicación de tripanosomas en el laboratorio, quizá mediante la utilización de animales especialmente susceptibles (como determinadas cepas de ratón o ratones lactantes), diferentes tipos de cultivo o determinadas especies o cepas de triatominos.

2. Varias técnicas de estudio propuestas, como los métodos de caracterización inmunológica y bioquímica de organismos requieren

la acumulación sistemática de material estabilizado de pases iniciales, tratado uniformemente y criopreservado, procedente de situaciones definidas.

3. Deben llevarse a cabo estudios cuantitativos sobre la supervivencia de *T. cruzi* criopreservados para determinar la posibilidad de seleccionar poblaciones.

4. Se necesita establecer métodos para calcular la infecciosidad de los organismos, a fin de cuantificar el riesgo al que está expuesto el hombre en condiciones de campo.

5. Deberían investigarse sistemáticamente la caracterización y la taxonomía del *T. cruzi* en material homogéneo de pases iniciales criopreservado. Se considera que en esta fase la caracterización (es decir, la identificación de determinadas poblaciones) tiene una utilidad más inmediata que la taxonomía (o sea, la agrupación de organismos por tipo y especie).

La reacción inmunitaria a la enfermedad de Chagas

Hay pruebas circunstanciales que sugieren firmemente que muchas de las características de la enfermedad de Chagas deben poseer un elemento inmunológico. Entre estas figura la resistencia adquirida después de la infección por cepas de poca virulencia o después del restablecimiento de las formas agudas de la enfermedad, proliferación de organismos en ausencia de lesiones, seguida de una inflamación repentina parecida a la hipersensibilidad por mediación celular, y daño tisular progresivo en la fase crónica de la enfermedad, asociado a cantidades mínimas de organismos.

Varios hallazgos han establecido la importancia de la reacción inmunitaria en las infecciones por *T. cruzi*. Se ha informado que la inmunosupresión con rayos X, la ciclofosfamida* y los corticosteroides exacerban la infección en los ratones (6). También se ha informado que la timectomía (34, 38) neonatal y el tratamiento con suero antilinfocítico (35) producen tasas más elevadas de parasitemia, una mayor densidad de parásitos tisulares y una tasa de mortalidad más alta. Si bien estos experimentos

* N,N-bis (2-cloroetilo) tetrahydro-2H-1,3,2-oxazafosforina-2-amina 2-óxido.

indican que los mecanismos inmunitarios suprimen la infección, no se ha determinado todavía su naturaleza exacta.

Antígenos

En la actualidad no existen indicaciones de variación antigénica en el *T. cruzi* comparable a la observada en la tripanosomiasis africana y la malaria, aunque este problema no ha sido suficientemente investigado. En estudios serológicos se han encontrado diferencias antigénicas en cepas de *T. cruzi* (8, 31). Se está logrando cierto progreso en el aislamiento y la caracterización de antígenos que estimulan la formación de anticuerpos o la inmunidad por mediación celular, respectivamente (sin que necesariamente sean los mismos), pero no existe todavía ninguna clase de antígeno purificado.

Resistencia específica—inmunidad humoral

Demostración de anticuerpos específicos. En pacientes humanos o animales afectados por la enfermedad de Chagas, así como en algunos individuos que han estado expuestos al *T. cruzi* pero que no han manifestado la enfermedad clínica, se ha observado consistentemente la presencia de anticuerpos a *T. cruzi*. Estos anticuerpos han sido identificados mediante la reacción de fijación del complemento y las técnicas directas e indirectas de inmunofluorescencia y hemaglutinación. El primer anticuerpo que aparece es IgM, que puede detectarse al comienzo de la enfermedad; le sigue IgG, que persiste mientras dura la afección (25, 43). Se ha notificado que, después de la quimioterapia, ambos anticuerpos pueden desaparecer. Pero sigue siendo objeto de controversia la cuestión de si en general se produce un aumento de IgM y de IgG en el suero durante la fase aguda de la enfermedad, así como un aumento de este IgG durante las infecciones crónicas.

Función de los anticuerpos en la protección

En la actualidad no se conoce a ciencia cierta la función de estos anticuerpos en la resistencia. Por ejemplo, se han detectado anticuerpos en la sangre simultáneamente con parasitemia; sin embargo, estudios *in vitro* indican que en condiciones apropiadas el suero inmune, junto con complemento, pueden producir la lisis del *T. cruzi*. Además, la depleción del complemento en ratones da lugar a una enfermedad más grave (33). Es muy significativo que, aunque no coinciden todos los informes, varios investigadores han dado cuenta de una protección específica en animales experimentales tratados con suero inmune al comienzo de la parasitemia. En un estudio reciente, los sueros obtenidos de ratones a las seis semanas de haberse restablecido de una infección aguda por *T. cruzi* parecían eficaces, pero los que se recogieron en una fase más temprana o posterior resultaron menos eficaces. Las diferencias en el título o la especificidad tal vez expliquen las contradicciones en los informes publicados. Se ha informado también de la actividad profiláctica del suero inmune, además de sus efectos terapéuticos (13).

Resistencia a la enfermedad de Chagas por mediación celular

Demostración de inmunidad específica por mediación celular a la enfermedad de Chagas. Hay pruebas de que en casos humanos y animales de la enfermedad de Chagas hay reacciones de hipersensibilidad por mediación celular. Por ejemplo, algunos laboratorios han informado de reacciones cutáneas de tipo retardado a extractos de *T. cruzi* (6), y se han observado (40) manifestaciones *in vitro* tales como la transformación blástica (42) e inhibición de la migración de macrófagos (37).

Función de la inmunidad por mediación celular en la protección. Existe una gran variedad de formas de leishmaniasis hu-

mana, desde las afecciones en que aparentemente no existe inmunidad por mediación celular sino una extensa proliferación de los organismos—kala-azar y leishmaniasis cutánea diseminada (2)—hasta las que se caracterizan por una pronunciada inmunidad por mediación celular, en la que la proliferación parasitaria y la formación de lesiones están muy localizadas (o limitada a una sola lesión)—botón de Oriente y leishmaniasis lupoides (23, 27). Tanto en el hombre como en los animales, con frecuencia se observa una relación recíproca entre la inmunidad por mediación celular, y el anticuerpo humoral, que posiblemente justifica la sospecha de que la presencia de anticuerpos inhibe el desarrollo o la manifestación de inmunidad por mediación celular. No se ha realizado ningún experimento para determinar si estas relaciones rigen también para la fase de amastigote intracelular de la infección por *T. cruzi*, aunque es probable que así ocurra.

Si bien hay indicaciones de la existencia de inmunidad celular en la enfermedad de Chagas, no se ha demostrado que intervenga en la protección. En este sentido se ha observado que la resistencia de ratones y ratas depende de la presencia de los linfocitos derivados del timo, que se requieren para la inmunidad por mediación celular pero que también intervienen como células colaboradoras en la formación de anticuerpos. Además, estudios recientes han indicado que la resistencia en ratas endogámicas puede ser transferida en forma pasiva por células del bazo obtenidas de ratas que sobrevivieron infecciones agudas (9). No se ha determinado todavía si la transferencia celular actúa mediante mecanismos inmunitarios por mediación celular o simplemente es la consecuencia de la transferencia de células productoras de anticuerpos.

Posibles puntos de acción de la inmunidad por mediación celular. Los macrófagos normales poseen la propiedad de matar y degradar a los organismos fagocitados y desempeñan una función importante en la

resistencia no específica. Su importancia en las infecciones por *T. cruzi* se ha reconocido desde hace mucho tiempo (7, 32). Recientemente se ha demostrado que ciertos agentes, como el sílice, que se sabe son de toxicidad específica para los macrófagos, causan en los ratones una exacerbación pronunciada de la enfermedad. En cambio, la estimulación no específica del sistema reticuloendotelial por el dietilestilbestrol o el coadyuvante de Freund completo favorece la resistencia (14).

En la misma forma que en otros sistemas de enfermedades infecciosas, en algunos experimentos con *T. cruzi*, los organismos virulentos se introducen en los macrófagos, donde proliferan e incluso destruyen las células. En el caso de las bacterias, la inmunización específica puede favorecer la resistencia a infecciones por una serie de microorganismos no relacionados (44). Es evidente que en esos sistemas las células linfoides llevan la especificidad para la reacción, y que los macrófagos pueden ser activados por ellas para destruir los organismos. Como ya se ha indicado, no se conoce bien la función que desempeña la inmunidad por mediación celular en la protección contra la enfermedad de Chagas. Macrófagos de ratones inmunizados específica o no específicamente y retados con BCG, muestran una capacidad notablemente intensificada para matar al *T. cruzi* *in vitro*.

Existen por lo menos tres puntos en que puede ocurrir reacción de inmunidad por mediación celular. En el punto de inoculación los organismos infecciosos pueden ser localizados y quizá destruidos o pueden ser eliminados de todo el sistema e inactivados por los macrófagos antes de que lleguen a los diversos tejidos y se multipliquen (habría que añadir que en otras enfermedades, como la lepra, los macrófagos también pueden desempeñar un papel en la propagación de la infección a otros órganos, posibilidad que debe considerarse); por último, la inmunidad puede intervenir en la destrucción de células

somáticas infectadas, como el tejido cardíaco y muscular.

Función de la respuesta inmunitaria en la formación de lesiones

No existen pruebas de que el anticuerpo humoral produzca lesiones celulares líticas o anafilácticas en la enfermedad de Chagas. En cuanto a las lesiones por inmunocomplejos, si bien en teoría existe un exceso de antígeno en la fase temprana de la enfermedad aguda, no se han encontrado las lesiones renales características en una amplia serie de casos de enfermedad de Chagas, en contraste con los notables depósitos de inmunocomplejos comprobados en el riñón y el corazón en tripanosomiasis africana experimental. Es preciso realizar nuevos estudios sobre la posibilidad de que esta clase de depósitos ocurran en el corazón y el riñón durante la fase aguda de la enfermedad de Chagas, y en el corazón durante la fase crónica.

Estudios de leishmaniasis humana y experimental han revelado que se produce infiltración de linfocitos e histiocitos alrededor de las células huésped parasitadas por amastigotes, generalmente con destrucción de las células infectadas, absorción fagocítica de los parásitos y su destrucción intracelular en los macrófagos resultantes (39, 41). En individuos que no poseen inmunidad de base celular no se observan estos cambios. Aunque no existen estudios comparables de la enfermedad de Chagas, cabe suponer que el infiltrado de macrófagos del chagoma y la reacción inflamatoria al antígeno o antígenos parasitarios liberados por la ruptura de pseudoquistes en el corazón y otros órganos durante la fase aguda sean de este tipo. Es menos segura la relación entre este mecanismo y los infiltrados de células plasmáticas ocasionales y la miocarditis inflamatoria y fibrótica de la enfermedad de Chagas. Al parecer, en muchos casos la destrucción de células ganglionares y satélites en los ganglios nerviosos es secundaria a la inflamación.

Posible función de la autoinmunidad en la enfermedad de Chagas

Hay pocas indicaciones de que la autoinmunidad desempeñe una función en la patogenia de la enfermedad de Chagas (14, 16). El reciente descubrimiento de un anticuerpo reactor contra el músculo cardíaco humano y presente en el 95% de los casos de miocarditis crónica (3), es de significado dudoso puesto que este anticuerpo reacciona igualmente a los tripomastigotes, amastigotes y eritrocitos de cobayo. Con cierta frecuencia se producen anticuerpos heterofílicos similares en animales sujetos a daños tisulares primarios de origen no inmunológico, v.g., el infarto de miocardio. Pero se necesitan estudios más completos a este respecto.

Posible función de la no reactividad inmunológica en la enfermedad de Chagas

Se ha sugerido la posibilidad de que la no reactividad inmunológica específica, que afecte al componente de base celular de la reacción inmunitaria, desempeñe una función en algunas formas de leishmaniasis, como la leishmaniasis cutánea difusa (1, 2). Convendría investigar la función de la tolerancia específica o la inhibición de la reacción inmunitaria producida por anticuerpos, en la enfermedad de Chagas. Aunque este mecanismo podría considerarse como un factor contribuyente a la supervivencia intracelular y la proliferación del parásito, especialmente en la fase temprana del proceso, la información disponible apoya la opinión de que existe una respuesta precoz e intensa de base celular.

No se han estudiado en el hombre los posibles efectos supresivos de las lesiones de la enfermedad de Chagas sobre la reactividad inmunológica general. La enfermedad de Chagas aguda en ratones va acompañada de una depleción de linfocitos (41) y una supresión notable de la reacción de células formadoras de placas a los antígenos exógenos (hematíes de carnero). No se ha determinado con claridad el mecanismo de este cambio.

Un problema importante que todavía no ha sido abordado en forma experimental es el de la manifestación de enfermedad crónica grave en cierta proporción de individuos después de un período de inactividad clínica. Se puede especular sobre la posible influencia de cambios (relacionados con la edad, la nutrición, episodios morbosos u otros factores) en el equilibrio entre el número de parásitos, las respuestas humoral y de base celular, y las formas específicas y no específicas de no reactividad. Por ejemplo, podría ocurrir una pérdida progresiva de "tolerancia" o una disminución de la producción de anticuerpos que permitieran un aumento del grado de inmunidad por mediación celular. O podrían también intervenir otros factores, como la autoinmunización o una alteración antigénica del parásito.

Recomendaciones

1. Debe obtenerse confirmación en diferentes animales huésped y con diferentes cepas de *T. cruzi* de que una transferencia pasiva de anticuerpos o células confiere protección, y aclararse los mecanismos con los que se produce la inmunoprotección.

2. Debe determinarse la fase de la infección en la que los anticuerpos o las células son más eficaces cuando se transmiten de manera pasiva y averiguarse si protegen contra la enfermedad crónica así como contra la forma aguda en modelos animales apropiados.

3. Es preciso aislar de los antisueros las distintas clases de inmunoglobulinas y caracterizarlas y determinar su función *in vivo* e *in vitro*.

4. Debe procederse a una búsqueda de anticuerpos protectores en sueros humanos, en condiciones mejor definidas mediante los métodos de neutralización *in vitro*, y a ensayos posteriores de la viabilidad residual mediante la inoculación de animales.

5. También debe estudiarse la posible utilidad de los modelos de protección del ratón para valorar los anticuerpos neutralizantes humanos obtenidos en diferentes fases de la enfermedad.

6. Se debe aclarar si las diferencias entre sueros eficaces y no eficaces dependen de la concentración de anticuerpos, de anticuerpos contra factores determinantes hallados en diferentes fases del parásito, o de anticuerpos pro-

ducidos contra antígenos de membrana o citoplásmicos.

7. Es importante confirmar y ampliar los estudios de la transferencia celular de la resistencia a varias cepas de *T. cruzi* mediante células inmunes en varias especies animales y averiguar los mecanismos mediante el tratamiento de células inmunes con antisuero para determinar si se requieren células T, y mediante el examen del efecto de la depleción de células B mediante el pase por columnas anti-inmunoglobulínicas.

8. Debe determinarse si la reacción de inmunidad de base celular destruye las células tisulares infectadas por amastigotes, si las células T inmunes pueden destruir las células de cultivos tisulares infectadas por *T. cruzi in vitro* y si las células linfoides normales pueden destruir células de cultivo tisular infectadas en presencia o ausencia de anticuerpos de *T. cruzi*.

9. Es preciso aclarar la función que desempeñan los macrófagos en la enfermedad de Chagas, determinándose si existen diferencias en la eficacia de los macrófagos de animales normales en presencia o ausencia de anticuerpos a distintas cepas de *T. cruzi* y si la activación específica o no específica *in vivo* e *in vitro* intensifica significativamente la actividad de macrófagos.

10. Es necesario caracterizar los antígenos que intervienen en la inmunidad humoral y de base celular. Debe determinarse si son específicos para las fases de amastigote, epimastigote o tripomastigote. Los anticuerpos pueden ir dirigidos contra factores determinantes distintos de los que actúan en la hipersensibilidad de tipo retardado. Por ejemplo, se producen fácilmente anticuerpos contra los carbohidratos pero en cambio casi ningún antígeno carbohidrato puede provocar reacciones inmunitarias de base celular. Para la caracterización de antígenos de *T. cruzi* se recomienda el empleo de fracciones celulares así como de organismos suavemente fijados. Estos antígenos caracterizados pueden emplearse, por ejemplo, en pruebas cutáneas y para efectuar ensayos *in vitro* específicos, como la transformación linfocítica y la inhibición de la migración de macrófagos.

11. Debe investigarse la posibilidad de que, bajo la influencia de la reacción inmunitaria, ocurra una variación o modulación antigénica, como se supone en el caso de la tripanosomiasis africana.

12. Se requiere un estudio continuo del estado de inmunidad de base celular de los pacientes en diversas fases de la enfermedad de Chagas mediante pruebas cutáneas e *in vitro*.

13. Debe tratarse de identificar las células en lesiones, v.g., de miocarditis aguda, como linfocitos T o B, macrófagos o células plasmáticas.

14. Se debe investigar la posible presencia de inmunocomplejos en lesiones utilizando la inmunofluorescencia.

15. Debe hacerse una investigación sistemática de la manifestación de anticuerpos humorales o de inmunidad de base celular contra antígenos tisulares significativos en diversas fases de la enfermedad de Chagas, sobre todo en la crónica.

16. Debe determinarse si se presenta anergia a importantes antígenos de *T. cruzi* en cualquier fase de la enfermedad de Chagas.

17. Debe explorarse la función que desempeñan los anticuerpos o las células T supresoras en la posible supresión de la inmunidad de base celular contra el parásito.

Inmunodiagnóstico

Las pruebas serodiagnósticas en la enfermedad de Chagas se vienen empleando sistemáticamente desde 1913. El primer procedimiento que se estableció fue la prueba de fijación del complemento con extracto crudo de *T. cruzi* como antígeno. Se han empleado numerosas modificaciones de esta prueba. Hasta la fecha la mayoría de los datos notificados han sido más bien cualitativos que cuantitativos.

La Organización Panamericana de la Salud ha fomentado actividades encaminadas a estandarizar el procedimiento y está distribuyendo a los laboratorios interesados una mezcla patrón de suero positivo preparada por uno de sus laboratorios colaboradores.*

Posteriormente se introdujeron otros procedimientos serodiagnósticos, como la aglutinación de eritrocitos revestidos de antígeno, la prueba indirecta de anticuerpos fluorescentes, la aglutinación de epimastigotes de *T. cruzi* y la precipitación de extractos de *T. cruzi*. Entre estas pruebas las que han sido objeto de mayor experiencia son la indirecta de anticuerpos fluorescentes y la de aglutinación de eritrocitos revestidos. Al

parecer, estas pruebas son sensibles y resultan positivas en fases más tempranas de la infección que la prueba de fijación del complemento. Por otro lado, esta última parece ser más específica (21).

Las pruebas serológicas se han utilizado para confirmar el diagnóstico en casos sospechosos de enfermedad de Chagas. En general, se ha observado que los pacientes no tratados mantienen la positividad serológica durante toda la vida.

Estas pruebas se han empleado comúnmente para los exámenes en masa en estudios epidemiológicos. Maeckelt, en unos estudios recientes, demostró que la incidencia de pruebas de fijación de complemento positivas en el medio rural de Venezuela era de un promedio de 41%. Si bien la inmensa mayoría de los casos detectados en los exámenes en masa son asintomáticos, la mayoría de los investigadores aceptan las pruebas serodiagnósticas positivas como evidencia de la infección por *T. cruzi*. Esta conclusión parece estar justificada porque en grupos testigo, integrados por individuos aparentemente sanos, que residen en zonas no endémicas, y personas que sufren trastornos distintos de los chagásicos, los resultados positivos son excepcionales (5, 21).

Las únicas reacciones cruzadas bien documentadas obtenidas con antígenos de *T. cruzi* se observaron en pruebas de fijación de complemento con sueros de personas infectadas por *T. rangeli* y *Leishmania*. Merece mencionarse también que en monos infectados experimentalmente con *T. rhodesiense* se obtuvieron pruebas positivas de fijación del complemento utilizando antígeno de *T. cruzi* (37).

Además de los anticuerpos contra antígenos de *T. cruzi*, las personas afectadas por la enfermedad de Chagas manifestaron anticuerpos "heterófilos" aglutinadores de eritrocitos de carnero y rata (29, 30).

Recomendaciones

1. Se recomiendan nuevos estudios comparados sobre la especificidad de las pruebas

* Por mediación del Dr. J.O. Almeida, Director del Departamento de Microbiología e Inmunología, Universidad de São Paulo, Ribeirão Preto, Caixa Postal 301, São Paulo, Brasil.

serológicas de uso actual; se podrían recolectar sueros de diversos lugares del mundo y ensayarlos en laboratorios en que se practican las pruebas serodiagnósticas para la enfermedad de Chagas. Estos trabajos incluirían el estudio de sueros de personas afectadas por diversas enfermedades—inclusive la tuberculosis activa, lepra, sífilis, neoplasia y lupus eritematoso generalizado—así como de sueros de individuos sanos.

2. Se requiere un procedimiento uniforme y sencillo de fácil aplicación en el campo. La técnica introducida hace poco, en la que se utilizan eritrocitos sensibilizados liofilizados (Boné, observaciones inéditas), parece ofrecer buenas perspectivas. También parece útil la aplicación de extractos químicamente caracterizados, en lugar de los crudos.

3. Debería procederse a la titulación de series de sueros de enfermos individuales en pruebas simultáneas, con el fin de investigar si existe una correlación entre el título de anticuerpos y el curso clínico de la enfermedad. En estos estudios deberían incluirse pruebas relativas a los anticuerpos heterófilos que tal vez se forman en respuesta a la liberación de antígenos autólogos alterados. Así, un estudio de esta naturaleza podría aportar algún conocimiento sobre la magnitud de los daños tisulares.

4. Es preciso obtener procedimientos para detectar antígenos solubles de *T. cruzi* en la sangre de enfermos, y quizá en su orina. Deberían utilizarse sueros inmunes de animales o de pacientes humanos como reactivos en procedimientos serológicos, tales como las pruebas de inhibición de la hemaglutinación y precipitación en gel, incluida la inmunoelectroforesis a contra corriente. Si estos procedimientos no resultaran suficientemente sensibles, se podrían explorar varias valoraciones inmunorradiativas.

5. La detección de antígenos puede servir de ayuda para el diagnóstico de casos de la enfermedad de Chagas en los que no se pueda detectar anticuerpos.

6. No se dispone de información sobre la presencia de complejos de antígeno-anticuerpo circulantes en la enfermedad de Chagas; su demostración podría ser muy útil para esclarecer los mecanismos patogénicos.

7. Sería interesante obtener información sobre el nivel de complemento hemolítico total así como de varios componentes del complemento, en vista de los datos sobre deficiencia de C3 en monos infectados por *T. rhodesiense*. Los estudios de la concentración de quinínogeno en las infecciones por *T. cruzi* parecen ser también pertinentes, puesto que en la tri-

panosomiasis africana se observó una disminución de los niveles de quinínogeno.

8. Deberían investigarse varias pruebas para la inmunidad de base celular, por su posible valor diagnóstico.

Vacunación

El hecho de que la infección previa en animales experimentales por cepas avirulentas o virulentas de *T. cruzi* por lo general confiere una protección significativa contra la enfermedad de Chagas aguda (24, 36, 45) sugiere la viabilidad de una vacuna como medio de protección. A continuación se describen los cuatro tipos de vacuna estudiados hasta la fecha.

1. *T. cruzi* "avirulento". Se ha demostrado que en general los parásitos convertidos en avirulentos mediante el cultivo prolongado en el laboratorio resultan eficaces para estimular la protección contra la infección aguda (28). Desafortunadamente, la evaluación del posible empleo de esas vacunas "avirulentas" es limitada debido a la falta de información acerca de la reversión a la virulencia y la producción de infección crónica que podría conducir a cambios patológicos, característicos de la enfermedad de Chagas crónica. Mientras no se disponga de dicha información, no se puede recomendar el empleo de estas cepas "avirulentas" como vacunas en humanos.

2. *T. cruzi* muerto y fracciones subcelulares. Se han realizado muchas tentativas para preparar inmunógenos no infectantes con organismos muertos, inclusive epimastigotes muertos por formol y fenol o epimastigotes desintegrados mediante el tratamiento ultrasónico, métodos mecánicos o por congelación y deshielo. En general, estas preparaciones no han resultado eficaces. Tal vez los procedimientos empleados han sido excesivamente drásticos, dando lugar a la desnaturalización de los antígenos de membrana y proteína. Los resultados obtenidos recientemente con procedimientos más suaves son bastante alentadores. La desintegración de los parásitos por presión en el

aparato de Ribi ha permitido obtener preparaciones antigénicas que reducen la parasitemia y la mortalidad. Asimismo, los organismos muertos por medios químicos moderados, v.g., iones caotrópicos como perclorato 2.5M, también han conferido una protección significativa en el ratón.

3. *T. cruzi irradiado*. Otro procedimiento que ha resultado satisfactorio para una variedad de enfermedades infecciosas es el empleo de organismos de cepas virulentas convertidas en avirulentas mediante la exposición a los rayos gamma o X. Los tripomastigotes de *T. cruzi* irradiados con 150 kr se convirtieron en no patógenos para los ratones susceptibles y en no citopatógenos para los cultivos celulares. Se observó que múltiples inmunizaciones con estos tripomastigotes irradiados conferirían protección en ratones. Hay ciertas indicaciones de que los adyuvantes pueden ser útiles para aumentar el grado de protección.

4. *Otros flagelados cinetoplástidos*. Se ha informado que se produce una protección en ratones después de la inoculación de formas vivas de cultivos de flagelados de plantas.

Aunque estos métodos ofrecen buenas perspectivas, hasta la fecha ninguno ha conferido una protección absoluta en condiciones de desafío con un gran número de parásitos. Es importante que se continúen los estudios de estos métodos o de métodos mejores, y que se amplíen los conocimientos de los mecanismos inmunológicos básicos de protección. También es preciso examinar la cuestión general de la estrategia y metas de la inmunización o vacunación contra el *T. cruzi*. Por ejemplo, cabe esperar que las preparaciones antigénicas eficaces para provocar elevados niveles de anticuerpos para la forma de tripomastigote sean protectoras al evitar que los parásitos salgan del torrente sanguíneo y se introduzcan en los tejidos. No obstante, aún no se ha aclarado bien si, con una dosis infecciosa de millares de parásitos, los anticuerpos puedan ser totalmente eficaces en este proceso o si los propios anticuerpos podrían predisponer a

daños tisulares por inmunocomplejos si la infección se volviera crónica. Por otro lado se desconoce también en qué medida la inmunidad de base celular desempeña una función en la protección; si bien podría localizar los parásitos invasores en el punto de la invasión o posteriormente en las células tisulares evitando la proliferación en gran escala del organismo, también podría ser la causa de algunas de las cardiomiopatías y daños tisulares que acompañan a la enfermedad crónica.

Mientras no se determine mejor el mecanismo inmunitario básico que interviene en la protección y en la patología tisular, no se aclarará si la vacuna "ideal" contra la enfermedad de Chagas debería caracterizarse por: a) producir un aumento tanto del nivel de anticuerpos humorales con poca inmunidad de base celular; b) originar un aumento tanto de la inmunidad de base celular como de anticuerpos; c) incluir un antígeno que persista solo por un tiempo breve para servir de "introducción" inmunológico en las zonas endémicas, o d) contener un antígeno que persista por un período prolongado.

Recomendaciones

1. Se debería evaluar en animales experimentales la eficacia de las vacunas para proteger contra la enfermedad aguda y también para evitar la enfermedad crónica particularmente en perros y monos.

2. Es preciso estudiar el posible aumento de la eficacia de las vacunas actuales mediante la administración simultánea de adyuvantes como el alumbre, vacuna antipertussis, BCG, adyuvante de Freund o levamisol.

3. También deben investigarse los efectos de la exposición repetida al *T. cruzi* en perros o monos vacunados.

4. Asimismo requieren estudio los posibles efectos inmunopatogénicos de la vacunación en animales con infección crónica (es decir, modelos para la infección humana crónica no sospechada).

5. Es preciso elaborar vacunas mejores, incluyendo fracciones subcelulares purificadas de forma específica, v.g., amastigote o tripomastigote, y cepas no patógenas que no se consideren capaces de provocar la enfermedad en el

hombre; v.g., tripanomátidos de las plantas.

6. Debe considerarse si los métodos inmunológicos bastan para conferir protección completa contra la enfermedad de Chagas o si la inmunización para reducir la enfermedad aguda podría ir acompañada de la quimioterapia para aliviar o curar la forma crónica.

7. Para evaluar debidamente la protección conferida por distintos métodos de vacunación, es importante que se establezcan procedimientos para cuantificar el reto parasitario utilizado en función de la infecciosidad, en lugar de simples números de organismos, pues estos dos factores tal vez no estén directamente relacionados.

Recomendaciones generales

1. No debe subestimarse el peligro que implica la manipulación de organismos de *T. cruzi*. Se trata de un organismo que puede ser infeccioso en extremo, tanto en sus formas en la sangre como en cultivos, y puede causar una enfermedad peligrosa para cuyo tratamiento se cuenta solo con agentes quimioterapéuticos insatisfactorios. Algunos trabajos recientes indican que la infección puede propagarse por aerosoles, a través de las mucosas nasales. No obstante, si se toman las precauciones habituales en los laboratorios microbiológicos para estos organismos, el *T. cruzi* puede manipularse sin temor.

2. Sería sumamente útil que se circulara información actualizada sobre la enfermedad de Chagas. Gran parte de los múltiples datos contenidos en las publicaciones son inaccesibles debido a problemas de idioma o de distribución. En Europa y en Estados Unidos se han hecho algunas gestiones encaminadas a producir una bibliografía sobre el tema mediante computadora, lo que serviría de ayuda para la valoración sistemática y obtención de esta información. La preparación de una bibliografía de este tipo merece todo apoyo.

3. Con excesiva frecuencia las cuestiones de la identidad, relación, homogeneidad, etc., del material que se estudia, entorpecen la comparación crítica de los resultados obtenidos en diferentes laboratorios con una

determinada "especie" de *Trypanosoma*. Ya se han indicado los procedimientos para vencer estos obstáculos. Inevitablemente, son muy laboriosas las tentativas para estabilizar los materiales "difíciles" en el laboratorio mediante la formación de clonas, la criopreservación, etc.; sin embargo, a fin de disponer de material definido críticamente para el intercambio entre laboratorios para estudios especiales, es inevitable un esfuerzo especial en este sentido.

4. Solo se podrá confiar en la comparación de los efectos inmunológicos del *T. cruzi*—en forma de organismos íntegros, vivos o muertos o en forma de cualquiera de sus componentes antigénicos—en la medida en que los materiales utilizados en diferentes situaciones, tal vez en distintos laboratorios, sean homogéneos e idénticos. La experimentación debe abarcar toda la variedad de *T. cruzi*, posiblemente implicados en la enfermedad natural.

5. Es necesario establecer y caracterizar otros modelos animales para su empleo en estudios inmunológicos de la enfermedad aguda y crónica.

6. Se requieren más investigaciones básicas acerca de los mecanismos inmunológicos fundamentales que intervienen en la protección contra la infección por *T. cruzi*, sobre todo para determinar la eficacia y el ritmo de acción de los sueros inmunes y esclarecer la función de la inmunidad por mediación celular en la protección.

7. La identificación, aislamiento y caracterización de los antígenos que intervienen en la reacción inmunitaria a la enfermedad de Chagas son indispensables para nuevos estudios inmunológicos. En concreto, hay que tratar por todos los medios de definir los antígenos que distinguen a las diferentes formas de los parásitos y las distintas cepas, así como de determinar los que intervienen en la generación de anticuerpos humorales o en la hipersensibilidad de tipo retardado. Esta información es necesaria también para idear mejores pruebas inmunodiagnósticas.

8. Se debe definir más claramente la

función de los anticuerpos humorales y la inmunidad por mediación celular en la producción de cambios patológicos en las formas crónica y aguda de la enfermedad de Chagas.

9. Para producir una vacuna humana eficaz e inocua se requiere un conocimiento mayor de los mecanismos inmunológicos que intervienen en la protección y en la inmunopatología, tanto después de la infección natural como de la vacunación en animales de experimentación.

Resumen

La enfermedad de Chagas o tripanosomiasis americana se debe a la infección por *Trypanosoma cruzi*. El parásito se transmite principalmente por reduvidos hematófagos, que lo eliminan por las heces y penetra en el organismo humano a través de abrasiones cutáneas o de las mucosas. La enfermedad presenta cuatro fases: a) el período de incubación; b) la fase aguda; c) la fase de latencia, y d) la fase crónica. En la mayoría de los casos la infección por *T. cruzi* no provoca ninguna enfermedad aparente.

A juzgar por la información disponible, los factores inmunológicos desempeñan una importante función en la enfermedad de Chagas. En los individuos que sufren esta afección se pueden detectar, por diversos métodos, anticuerpos contra el parásito. Se ha informado que la administración de anticuerpos pasivos confiere protección al ratón. También existen pruebas de la existencia de una inmunidad por mediación celular que, según ciertas experiencias, contribuiría de manera notable a la protección. Finalmente, se ha sugerido que la explicación de ciertos aspectos patológicos de la enfermedad de Chagas crónica podría hallarse en mecanismos de autoinmunidad. No obstante, se requieren nuevas investigaciones para confirmar esta interesante hipótesis.

El hecho de que en animales experimentales la infección anterior por una cepa virulenta o avirulenta de *T. cruzi* confiera

considerable protección permite esperar que, mediante la vacunación, se pueda llegar a proteger al hombre contra la enfermedad de Chagas. □

Agradecimientos

Se agradece la colaboración del Dr. A. Rowen en la preparación del texto de la sección titulada "Resistencia a la enfermedad de Chagas por mediación celular". La figura 2 es una reproducción modificada de la que preparó la Srta. V.C.L.C. Wilson.

* * *

- S. Alarcón Segovia, Departamento de Inmunología, Instituto Nacional de la Nutrición, México, D.F.
- Z. A. Andrade, Departamento de Patología Aplicada, Facultad de Medicina, Universidad Federal de Bahía, Brasil.
- B. R. Bloom, Departamento de Microbiología e Inmunología, Escuela de Medicina Albert Einstein, Nueva York, N.Y., E.U.A.
- S. Estrada Parra, Departamento de Inmunología, Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, México D.F.
- H. C. Goodman, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- W. L. Hanson, Departamento de Parasitología, Facultad de Medicina Veterinaria, Athens, Georgia, E.U.A.
- F. Kierszenbaum, Departamento de Microbiología y Parasitología, Universidad de Buenos Aires, Argentina.
- P.-H. Lambert, División de Hematología, Hospital Cantonal, Ginebra, Suiza.
- W. H. R. Lumsden, Departamento de Protozoología Médica, Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres, Inglaterra.
- I. Malave, Departamento de Medicina Experimental, Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas, Caracas, Venezuela.
- I. McIntyre, Departamento de Medicina Veterinaria, Hospital de Veterinaria, Glasgow, Escocia.
- F. Milgrom, Departamento de Bacteriología e Inmunología, Universidad del Estado de Nueva York, Buffalo, Nueva York, E.U.A.
- M. Murray, Departamento de Medicina Veterinaria, Hospital de Veterinaria, Glasgow, Escocia.
- L. Ortiz Ortiz, Departamento de Ecología Humana, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F.
- R. Pérez Tamayo, Departamento de Biología

- Celular, Instituto de Investigaciones Biomédicas, México, D.F.
- P. de Raadt, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- G. Torrighiani, Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- B. H. Waksman, Departamento de Microbiología, Universidad de Yale, New Haven, Connecticut, E.U.A.
- D. E. Wood, Instituto Conmemorativo Gorgas de Medicina Tropical y Preventiva, Balboa Heights, Zona del Canal de Panamá.

REFERENCIAS

- (1) Bryceson, A. D. M. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 64:380, 1970.
- (2) Convit, J., et al. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 66:603, 1972.
- (3) Cossio, P. H. et al. *Medicina* (Buenos Aires) 32:754, 1973.
- (4) Edjen J. y A. Lanari. *Medicina* (Buenos Aires) 27:66, 1967.
- (5) Freitas, J. L. P. *Arch Hig* (São Paulo) 16: 55, 1951.
- (6) Goble, F. C. *Immunity to Animal Parasites* 2:596, 1970.
- (7) Goble, F. C. y J. L. Boyd. *Parasit* 48:223, 1962.
- (8) González Cappa, S. M. e I. G. Kagan. *Exp Parasitol* 25:50, 1969.
- (9) Hanson, W. L. y E. L. Roberson. Program and abstracts: 47th annual meeting of the American Society of Parasitologists, 1972.
- (10) Hauschka, T. et al. *Am J Trop Med Hyg* 30:1, 1950.
- (11) Hoare, C. A. *The trypanosomes of mammals*, Oxford, Blackwell, 1972.
- (12) Johnson, C. M. *Am J Trop Med Hyg* 18(2):197, 1938.
- (13) Kagan, I. G. y L. Norman. *J Infect Dis* 108:213, 1961.
- (14) Kierszenbaum, F. y D. B. Budzko. *Fed Proc* (En prensa).
- (15) Koberle, F. *Adv Parasitol* 6:63, 1968
- (16) Kozma, C. Z. *Tropenmed Parasitol* 13:175, 1962.
- (17) Lelchuk, R. et al. *Clin Exp Immunol* 6:547, 1970.
- (18) Lumsden, W. H. R. *Int J Protozool* 2:227, 1973.
- (19) Lumsden, W. H. R. Leishmaniasis and trypanosomiasis—the causative organisms compared and contrasted. En: *Proceedings, Ciba Foundation Symposium*, Caracas, 1973.
- (20) Lumsden, W. H. R. et al. *Techniques with trypanosomes*, Edinburgh, Churchill Livingstone, 1973.
- (21) Maeckelt, G. A. *Tropenmed Parasitol* 2:152, 1960.
- (22) Maeckelt, G. A. Monografía de la Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas, 1965.
- (23) Maeckelt, G. A. En: Soulsby, E. J. L., ed. *Immunity to animal parasites*. Nueva York y Londres, Academic Press, 1972, págs. 343-363.
- (24) Marr, J. S. y E. H. Pike. *J Parasitol* 53:657, 1967.
- (25) Marsden, P. D. et al. *J Trop Med Hyg* 73(7):157, 1970.
- (26) Mattern, P. *Bull WHO* 38:1, 1968.
- (27) Mauel, J. y R. Behin. *Transplant Rev* 19:121, 1974.
- (28) Menezes, H. *Rev Inst Med Trop* (São Paulo) 12:64, 1970.
- (29) Muniz, J. y M. C. F. dos Santos. *O Hospital* 38:163, 1950.
- (30) Neto, A. V. y L. H. P. da Silva. *O Hospital* 45:39, 1954.
- (31) Nussenzweig, V. et al. *Exp Parasitol* 14:221, 1963.
- (32) Pizzi, T. En: *Inmunología de la Enfermedad de Chagas*. Santiago, Chile University Press, 1957.
- (33) Pizzimenti, M. C. et al. Extractos de la 18a Reunión Anual de la Sociedad Argentina de Investigación Clínica, Mar del Plata (en prensa).
- (34) Roberson, E. L. et al. *Z Parasitenk* 41:83, 1973.
- (35) Roberson, E. L. et al. *Exp Parasitol* 34: 168, 1973.
- (36) Seah, S. y P. D. Marsden. *Ann Trop Med Parasitol* 63:211, 1969.
- (37) Seah, S. y P. D. Marsden. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 64:279, 1970.
- (38) Schmunis, G. A. et al. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 65:89, 1971.
- (39) Scorza, C. y J. V. Scorza. *J Reticuloendothel Soc* 11:604, 1972.
- (40) Seah, S. *Nature* (London), 225:1256, 1970.
- (41) Taliaferro, W. H. y T. Pizzi. *J Infect Dis* 96:199, 1954.
- (42) Tschudi, I. et al. *Infect Immun* 6:905, 1972.
- (43) Vattuone, N. H. et al. *J Trop Med Hyg* 76(2):45, 1973.
- (44) Grupo Científico de la OMS sobre Inmunidad Celular y Resistencia a las Infecciones. Serie de Informes Técnicos 519, 1973.
- (45) Yanovsky, J. F. et al. *Exp Parasitol* 26:73, 1969.

Immunology of Chagas' disease (Summary)

Chagas' disease, or South American trypanosomiasis, is caused by infection with *Trypanosoma cruzi*. The parasite is transmitted mainly by blood-sucking reduviid bugs. It is passed out in the feces and enters the human organism through skin abrasions or mucous membranes. There are four phases of the disease: (a) the incubation period; (b) the acute disease; (c) the latent form; and (d) the chronic disease. In the majority of cases infection by *T. cruzi* does not cause any apparent illness.

Many events have occurred to suggest that immunologic factors play an important role in Chagas' disease. Using various methods, workers have been able to detect antibodies to the parasite in patients suffering from the disease.

It has been shown that the passive transfer of antibodies confers protection in mice. There is evidence of cell-mediated immunity in Chagas' disease, which some experiments suggest contributes appreciably to protection, and it is also thought that autoimmune mechanisms may explain some of the pathology in the chronic form of the disease. Further research is needed, however, to confirm this intriguing hypothesis.

The fact that in experimental animals prior infection with avirulent or virulent strains of *T. cruzi* generally leads to significant protection gives reason to hope that it may be possible to immunize humans against Chagas' disease by means of vaccination.

Imunologia da doença de Chagas (Resumo)

Deve-se a doença de Chagas, ou tripanosomíase americana, à infecção por *Trypanosoma cruzi*. O parasito transmite-se principalmente por *reduviidae* hematófagos que o eliminam com as fezes, e penetram no organismo humano através de lesões cutâneas ou das mucosas. A doença apresenta quatro fases: a) o período de incubação; b) a fase aguda; c) a fase de latência; e d) a fase crônica. Na maioria dos casos a infecção por *T. cruzi* não provoca nenhuma doença aparente.

A julgar pela informação disponível, os fatores imunológicos desempenham importante função na doença de Chagas. Podem-se detectar por diversos métodos, nos indivíduos que sofrem dessa afecção, anticorpos dirigidos contra o parasito. Assinalou-se que a adminis-

tração de anticorpos passivos confere proteção ao rato. Demonstrou-se também a existência, na doença de Chagas, de uma imunidade de base celular que, de acordo com certas experiências, contribuiria apreciavelmente para a proteção. Finalmente, pensa-se também que a explicação de certos aspectos patológicos da doença de Chagas aguda poderia encontrar-se nos mecanismos de auto-imunidade. Necessitam-se porém de novas pesquisas para explicar essa interessante hipótese.

O fato de que, em animais de laboratório, uma infecção anterior por uma variedade virulenta de *T. cruzi* confira considerável proteção, permite esperar que, mediante a vacinação, poder-se-á proteger o homem contra a doença de Chagas.

Immunologie de la maladie de Chagas (Résumé)

La maladie de Chagas ou trypanosomiase sud-américaine est due à l'infection par *Trypanosoma cruzi*. Le parasite est transmis principalement par des réduvidés hématophages. Éliminé dans leurs déjections, il pénètre dans l'organisme humain à la faveur de petites lésions de la peau ou à travers les muqueuses. La maladie comporte quatre stades: a) période d'incubation; b) phase aiguë; c) phase de latence; d) phase chronique. Dans la majorité des cas, l'infection par *T. cruzi* ne provoque aucune maladie apparente.

De nombreux faits donnent à penser que les facteurs immunologiques jouent un rôle important dans la maladie de Chagas. Chez les sujets atteints de cette affection, il est possible, par diverses méthodes, de déceler des anticorps dirigés contre le parasite. On a signalé que

l'administration d'anticorps passifs confère une protection chez la souris. On a aussi des preuves de l'existence, dans la maladie de Chagas, d'une immunité à support cellulaire laquelle, selon certaines expériences, contribuerait de façon appréciable à la protection. Enfin, on pense que des mécanismes d'auto-immunité pourraient être invoqués pour expliquer certains des aspects pathologiques de la maladie de Chagas chronique. Cependant, de nouvelles recherches sont nécessaires pour confirmer cette hypothèse intéressante.

Le fait que chez l'animal d'expérience une infection antérieure par une souche virulente ou avirulente de *T. cruzi* assure une protection notable permet d'espérer qu'on parviendra à mettre l'homme à l'abri de la maladie de Chagas par la vaccination.