EVALUACION DE PRUEBAS SEROLOGICAS UTILIZADAS PARA ESTUDIAR LA ENFERMEDAD DE CHAGAS[1]

I. G. Kagan,[2] R. S. Goldsmith,[3] R. Zárate-Castañeda[4] y D. S. Allain[5]

El descubrimiento de elevadas tasas de prevalencia de anticuerpos contra la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México (en una encuesta entre adultos de una población se encontró hasta un 79% de resultados positivos) motivó la realización de estudios destinados a evaluar las pruebas practicadas, los anticuerpos hallados y las prácticas de toma de conservación de muestras de sangre en papel de filtro. Este artículo informa sobre los resultados de dichos estudios.

Introducción

Una encuesta seroepidemiológica de anticuerpos parasitarios realizada en 1969 en el estado de Oaxaca, México, detectó anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*, el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, en 29% de las muestras de suero sanguíneo procedentes de una parte del estado (*1*). Posteriormente, este estudio inicial fue ampliado por medio de pruebas de hemaglutinación indirecta (HAI), que se efectuaron a 4,023 habitantes de 60 poblaciones de dicho estado situadas en una zona del litoral del Pacífico. En un trabajo conexo (*2*) dimos cuenta de haber encontrado así tasas de prevalencia de anticuerpos notablemente elevadas para México, que produjeron hasta 79% de reacciones serológicas positivas en un grupo de adultos que examinamos en una de tales poblaciones.

Con objeto de comprender mejor el origen y el significado de los anticuerpos hallados, se evaluaron en el laboratorio tres pruebas serológicas para anticuerpos *T. cruzi*, y sus reacciones cruzadas. Las muestras se sometieron a dos pares de pruebas diferentes y se compararon los resultados serológicos, usando *T. cruzi* como antígeno. Las pruebas pareadas consistieron en HAI y fijación del complemento (FC), HAI y aglutinación directa (AD), y FC y AD. A su vez, las reacciones cruzadas de la prueba de HAI para la enfermedad de Chagas se evaluaron ensayando antígenos elaborados a partir de *T. cruzi*, *T. rangeli* y *Leishmania mexicana* con sueros obtenidos de personas que tenían infecciones por *T. cruzi* y *T. rangeli* parasitológicamente confirmadas. Además, se ensayaron y compararon eluidos de sangre de papeles de filtro y sueros, con el fin de determinar la eficacia de las tiras de papel de filtro para la toma de conserva-

---

[1]Se publica también en inglés en el *Bulletin of the Pan American Health Organization* Vol 12, No.4, 1978.

Los estudios de campo dados a conocer en este trabajo fueron realizados gracias a un programa de investigaciones en colaboración concertado por la Universidad Benito Juárez, Oaxaca, y la Universidad de California, San Francisco. Una parte de las investigaciones se llevó a cabo merced a las donaciones AI-10051 de los Institutos Nacionales de Salud, Servicio de Salud Pública de Estados Unidos (Centro para la Investigación Médica, Universidad de California) y HD-06922.

[2]Director de la División de Parasitología, Centro para el Control de Enfermedades, Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud, Educación y Bienestar de Estados Unidos, Atlanta, Georgia 30333, E U A.

[3]Profesor Asociado de Medicina Tropical, Fundación G W Hooper y Departamento de Salud Internacional, Universidad de California, San Francisco, California 94143, E U.A.

[4]Investigador, Instituto de Salud y Enfermedades Tropicales de la Secretaría de Salubridad y Asistencia, México, D. F., y Departamento de Salud Internacional, Universidad de California, San Francisco, California 94143, E.U.A.

[5]Investigador en Microbiología, División de Parasitología, Centro para el Control de Enfermedades, Servicio de Salud Pública, Departamento de Salud, Educación y Bienestar de Estados Unidos, Atlanta, Georgia 30333, E.U A.

ción de muestras de sangre en los estudios de campo.

Materiales y métodos

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción venosa, sin usar anticoagulantes. Después de la coagulación y la retracción, se centrifugaron y procesaron con asepsia, y los sueros resultantes se conservaron a temperaturas que oscilaban entre −20°C y −70°C.

Las muestras de sangre en papel de filtro fueron logradas punzando un dedo a cada individuo y empapando con aquella el papel por ambos lados, dentro de un círculo impreso.[6] Siempre se trató de obtener la sangre sin exprimir la punta del dedo. A continuación, los papeles de filtro fueron secados al aire, a temperatura ambiental, durante 24 horas. Después, mientras se realizaba el trabajo de campo (hasta cuatro semanas) se les guardó, también a temperatura ambiental, en bolsas de plástico herméticamente selladas, que contenían un agente secador, gel de sílice. Finalmente fueron conservados a 4°C en las bolsas herméticas hasta que se prepararon en el laboratorio para las pruebas de anticuerpos (8 a 12 meses después de la toma).

Más adelante, la sangre fue eluida del papel de filtro de la siguiente manera: con un punzón para papel se cortó un disco de 1 cm del círculo empapado con sangre; cada disco se puso en un tubo de 15 × 85 mm y se añadieron 0.2 ml de solución amortiguadora de fosfatos (SAF) con pH de 7.2; los discos se mantuvieron sumergidos en la solución entre una y dos horas a temperatura ambiental; antes de sacar el disco, se le extrajo el líquido residual apretándolo contra la pared del tubo con una varilla metálica.

Con el fin de comparar los títulos de HAI de las muestras de suero sanguíneo con los correspondientes de los eluidos de papel de filtro, cada una de las tomas de sangre venosa a 128 naturales de Oaxaca en 1971 se usó al mismo tiempo para preparar suero y empapar el círculo impreso en el papel de filtro. La reproducción de los resultados de la prueba de HAI se evaluó sometiendo 44 de dichos eluidos a un nuevo ensayo.

Para cotejar el valor de las pruebas de HAI y FC, se analizaron por este método 150 muestras de suero sanguíneo obtenidas en Oaxaca entre 1969 y 1970. Mediante la titulación de 98 eluidos de sangre del papel de filtro, tomados en Oaxaca en 1972, se identificó el valor comparativo de la prueba de HAI y AD. A su vez, las pruebas de FC y AD se evaluaron por el análisis de 67 muestras de suero reunidas en 1973 en el mismo estado.

También se hicieron pruebas comparativas de anticuerpos *T. cruzi* y *T. rangeli* en Chile, en sueros de 27 individuos que tenían enfermedad de Chagas parasitológicamente confirmada; en Panamá, en sueros de 12 personas infectadas por *T. rangeli* identificado parasitológicamente; en Mérida, en 41 sueros y en Oaxaca, en 140 de los sueros que se obtuvieron entre 1969 y 1970. Tales pruebas se efectuaron, asimismo, para los anticuerpos *T. cruzi* y *L. mexicana* en 85 sueros preparados en Oaxaca entre 1969 y 1970.

Preparación de los antígenos

Los antígenos *T. cruzi* y *T. rangeli* utilizados fueron extractos salinos de epimastigotos liofolizados de cada parásito, a los que se privó de lípidos por medio de benceno antes de la extracción (*1*). El antígeno *T. rangeli* se tituló mediante sueros de conejos inmunizados con *T. rangeli* liofilizado. Para probar estos sueros se empleó la solución antigénica que tuvo mayor grado de titulación.

El antígeno *L. mexicana* que se utilizó para la prueba de AD fue elaborado según el método que se sigue para preparar el antígeno *T. cruzi* destinado a la misma (*3*). Se

[6] Ropaca No 1023, Rochester Paper Company (La mención de marcas comerciales se hace solo con fines de identificación y no significa recomendación alguna del Servicio de Salud Pública ni del Departamento de Salud, Educación y Bienestar Social de Estados Unidos.)

elaboró una suspensión de promastigotos de *L. mexicana* a los que se fijó con formalina después de tratarlos con tripsina. Los sueros de tres individuos infectados por *L. mexicana* parasitológicamente identificada fueron probados con este antígeno y tuvieron títulos de ≥4,096.

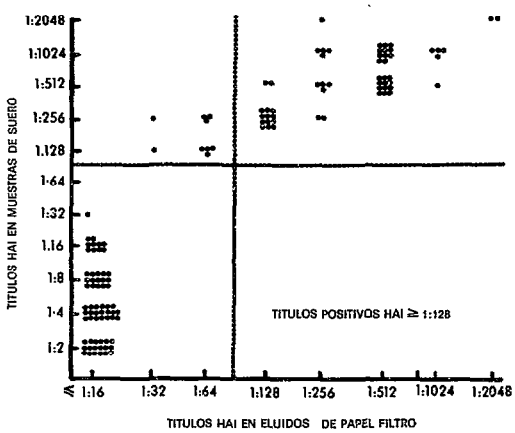
Los métodos serológicos que se usaron en este estudio para realizar las pruebas de HAI (*1*), FC (*1*) y AD (*3*) han sido ya explicados.

Resultados

Comparación de títulos de HAI de los eluidos de la sangre de papel de filtro y los sueros

La figura 1 muestra los títulos de HAI que se obtuvieron al probar pares de muestras formados por los eluidos de la sangre del papel de filtro y los sueros de 128 individuos, con el antígeno *T. cruzi*. Cada par de muestras se compuso de un suero y un eluido de papel de filtro, preparados con la misma toma de sangre venosa. Puesto que un eluido de la sangre del papel de filtro depositado en 0.2 ml de solución amortiguadora se toma por equivalente a un suero diluido a 1:8, en la prueba de HAI no se puede detectar títulos de papel de filtro inferiores a ocho. Casi todos los títulos, entre 64 y 256, de los eluidos de sangre del papel de filtro, fueron de diluciones una o dos veces más débiles que las de los sueros que tenían títulos de grado similar. Sin embargo, las diferencias de títulos disminuyeron entre los pares de muestras a medida que aumentó la concentración de los anticuerpos, de modo que los títulos de los papeles de filtro superiores a 256 mostraron una creciente coincidencia con los títulos de los sueros. Tomando el título de ≥128 por índice de reacción positiva, 55 muestras (43%) resultaron positivas y 64 (50%) negativas al emplear ambos ensayos, lo que acusa una coincidencia de 93% entre ellos. Si se hubiera tomado por positivo un título de ≥64 para el papel de filtro, solo hubieran discrepado los títulos de dos muestras, puesto que ambas hubieran resultado negativas por el método del papel de filtro y positivas por el método del suero.

FIGURA 1—Diagrama disperso de títulos de hemaglutinación indirecta (HAI) obtenidos de 128 pares de muestras de sangre. Títulos de sueros y de eluidos de la sangre del papel de filtro.



Reproducibilidad de los resultados de la HAI

En el cuadro 1 se muestran los resultados comparativos que se lograron al titular dos veces 44 eluidos de la sangre del papel de filtro con antígeno *T. cruzi*. Se observa que, al aplicar las pruebas en pares, los títulos de 34 muestras (77%) resultaron iguales o dentro de los límites de una solución doble; ocho muestras (18%) tuvieron una diferencia equivalente a dos soluciones dobles, y solo dos muestras (5%) acusaron una diferencia superior a dos soluciones dobles. Estos resultados se encuentran dentro de los límites de variación aceptables en el laboratorio.

Comparación de las pruebas de HAI y FC

Se probaron 150 muestras de suero sanguíneo con antídoto *T. cruzi* por medio de ambos métodos (cuadro 2). Los títulos de FC de ocho o más fueron tomados por positivos, y así, 86 sueros dieron reacciones positivas ante

CUADRO 1—Reproducibilidad de los resultados de las pruebas de hemaglutinación indirecta (HAI) mediante eluidos de la sangre del papel de filtro y antígeno *T. cruzi*.

	Diferencias, en número de soluciones dobles, entre dos títulos obtenidos examinando dos veces el mismo eluido con antígeno *T. cruzi*				No. total de eluidos
No de diferencias de soluciones dobles	0	1	2	>2	
No. de eluidos de papel filtro con sangre	19	15	8	2	44

CUADRO 2—Comparación de resultados de la hemaglutinación indirecta (HAI) y la fijación de complemento (FC) obtenidos por la prueba de 150 sueros con antígeno *T. cruzi*.

		Prueba FC[b]		
		+	−	Total
Prueba HAI[a]	+	74	17	91
	−	12	47	59
Total		86	64	150

[a]Prueba HAI positiva: título ≥128.
[b]Prueba FC positiva. título ≥ 8.

esta prueba (57%). Cuando se definieron como positivos los títulos de HAI de 128 o más, 91 sueros (61%) tuvieron reacciones positivas ante el ensayo. En total, 121 de los 150 sueros resultaron positivos o negativos al aplicar ambas pruebas, lo que equivale a una coincidencia de 81%.

Comparación de las pruebas de HAI y AD

En el cuadro 3 pueden verse los títulos obtenidos en el ensayo de 98 eluidos de sangre de papel de filtro, valiéndose de las técnicas HAI y AD, con *T. cruzi* como antígeno. Considerando positivos solo los títulos de 128 o más en ambas pruebas, solo dos de 42 muestras positivas a las prueba de HAI dieron resultados negativos. En total, 96 de 98 sueros fueron positivos o negativos con ambos métodos de prueba, de forma que la concordancia entre las dos técnicas fue del 98%.

Comparación entre las pruebas de FC y AD

Nuevamente se empleó *T. cruzi* como antígeno para probar 67 sueros con los métodos de FC y AD (cuadro 4). Se tomó por positivo un título de FC de ocho o más, y de este modo 48 de las 67 muestras tuvieron reacciones de FC positivas (72%). Para las pruebas de AD se aceptaron como positivos los títulos de 128 o más, y así, 51 de los 67 sueros (76%) dieron resultados positivos. Al emplear las dos pruebas, 52 de las 67 muestras tuvieron reacciones positivas o negativas. Ello significa una coincidencia de 78%.

CUADRO 3—Comparación de resultados de la hemaglutinación indirecta (HAI) y la aglutinación directa (AD) obtenidos por la prueba de 98 eluidos de la sangre del papel de filtro con antígeno *T. cruzi*.

		Pruebas AD[b]		
		+	−	Total
Pruebas HAI[a]	+	40	2	42
	−	0	56	56
Total		40	58	98

[a]Pruebas HAI positiva: título ≥ 128.
[b]Pruebas AD positiva: título ≥ 128.

CUADRO 4—Comparación de resultados de la fijación de complemento (FC) y la aglutinación directa (AD) obtenidos por la prueba de 67 sueros con antígeno *T. cruzi.*

		Prueba FC[a]		
		+	−	Total
Prueba AD[a]	+	42	9	51
	−	6	10	16
Total		48	19	67

[a]Prueba AD positiva: título ≥ 128.
[b]Prueba FC positiva: título ≥ 8.

CUADRO 5—Comparación de resultados de la hemaglutinación indirecta (HAI) obtenidos por pruebas de 140 sueros de Oaxaca con antígenos *T. cruzi* y *T. rangeli.*

		Antígeno *T. rangeli*[b]		
		+	−	Total
Antígeno	+	4	66	70
T. cruzi[a]	−	0	70	70
Total		4	136	140

[a]Prueba HAI positiva (*T. cruzi*): título ≥ 128.
[b]Prueba HAI positiva (*T. rangeli*): título ≥ 128.

Reacciones cruzadas entre los antígenos T. cruzi, T. rangeli *y* L. mexicana

Comparación de los antígenos T. cruzi *y* T rangeli: Todas las muestras de suero tomadas en Chile a 27 individuos que tenían enfermedad de Chagas confirmada por xenodiagnóstico dieron títulos de 128 o más al aplicarles la prueba de HAI usando *T. cruzi* como antígeno. También se probaron dichas muestras con un antígeno preparado a partir de *T. rangeli*. Los títulos de HAI oscilaron entre dos y 128 con este antígeno, pero la mayor parte reaccionó con títulos de 16 y 32. Solo una muestra de suero tuvo un título de 128, o sea la cifra mínima de reacción positiva ante *T. rangeli* para la prueba de HAI.

Doce muestras de suero obtenidas en Panamá, de niños que sufrían infecciones por *T. rangeli* parasitológicamente confirmadas, se probaron con el método de HAI, empleando antígenos *T. cruzi* y *T. rangeli;* todas dieron resultados negativos.

Los sueros de 41 individuos de Mérida, México, que habían dado títulos negativos con el antígeno *T. cruzi* también los dieron con el antígeno *T. rangeli*. Los títulos observados fueron de 16 o menos para *T. cruzi*, y de ocho o menos para *T. rangeli*.

Por otra parte, 140 de los sueros que se obtuvieron en Oaxaca entre 1969 y 1970 se sometieron a la prueba de HAI con antígenos *T. cruzi* y *T. rangeli* (cuadro 5). Entre las 70 muestras de suero que tuvieron reacciones positivas ante el antígeno *T. cruzi* se halló cierta capacidad de reaccionar también con el antígeno *T. rangeli*, y en este caso los títulos oscilaron entre cuatro y 256. No obstante, todos los títulos que se lograron con *T. rangeli* fueron menores con *T. cruzi* y solo cuatro sueros (3%) dieron resultados positivos con los dos antígenos. Las 70 muestras seronegativas a *T. cruzi* dieron asimismo reacciones serológicas negativas frente a *T. rangeli*.

Comparación de los antígenos T. cruzi *y* L. mexicana: ochenta y cinco de las muestras de suero reunidas en Oaxaca entre 1969 y 1970 se probaron con el método de HAI mediante

CUADRO 6—Comparación de resultados de la hemaglutinación indirecta (HAI) y la aglutinación directa (AD) obtenidos por pruebas de 85 sueros de Oaxaca con *T. cruzi* mediante HAI y con *L. mexicana* mediante AD.

		Prueba AD[b] (*L. mexicana*)		
		+	−	Total
Prueba HAI[a]	+	9	41	50
(*T. cruzi*)	−	2	33	35
Total		11	74	85

[a]Prueba HAI positiva (*T. cruzi*): título ≥ 128.
[b]Prueba AD positiva (*L. mexicana*): título ≥ 128.

el antígeno *T. cruzi*, y con el de AD por medio del antígeno *L. mexicana* (cuadro 6). Nueve muestras (11%) tuvieron títulos positivos (de 128 o más) con ambos antígenos y 33 los tuvieron negativos. De los demás sueros, 41 dieron resultados positivos ante *T. cruzi* y negativos ante *L. mexicana* y dos resultaron negativos con *T. cruzi* y positivos con *L. mexicana*.

Discusión

El Centro para el Control de Enfermedades ha empleado durante varios años la prueba de HAI en los estudios seroepidemiológicos de enfermedades causadas por parásitos debido a su efectividad para medir la prevalencia de anticuerpos contra diversos antígenos parasitarios en grandes números de muestras. Anteriormente, ésta prueba se había usado en los estudios seroepidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Brasil (*4*), Colombia (Kagan, inédito) y Oaxaca, México (*1*).

El empleo de papeles de filtro facilita notablemente la toma de conservación de muestras sanguíneas en el campo, puesto que los individuos que se examinan aceptan más que se les tome sangre mediante punciones en los dedos que en las venas, y es más sencillo transportar las muestras en papeles de filtro que no es preciso refrigerar, que los sueros. Como hemos apuntado, hicimos una comparación de títulos de HAI en los pares de muestras de suero y eluidos de la sangre del papel de filtro que obtuvimos de 128 personas, para evaluar el método del papel de filtro en los estudios de campo de la enfermedad de Chagas. Omitiendo las concentraciones de anticuerpos más elevadas, en que los títulos resultaron casi iguales en los pares de muestras, observamos que los títulos de los eluidos de la sangre del papel de filtro se aproximaron a los de diluciones dos veces más débiles que las muestras de suero. Sin embargo, en general, cuando se tomó por positivo un título de 128 o más, notamos que la sensibilidad disminuyó solo 7%. Esto significa que la toma y el transporte de muestras de sangre mediante el papel de filtro es una técnica útil y apropiada para lograr resultados precisos y se la emplea en los estudios epidemiológicos para detectar anticuerpos HAI contra *T. cruzi*. Otros investigadores han informado que las muestras de sangre seca, en papel de filtro, sirven muy bien para descubrir anticuerpos contra la enfermedad de Chagas mediante HAI (*5*), FC (*6*) e inmunofluorescencia indirecta (*7-9*).

Encontramos que la reproducibilidad de los títulos de HAI era elevada; 77.3% de ellos estuvieron dentro de iguales límites de dilución o correspondieron a una dilución doble, y 95.5% se hallaron en los límites de dos diluciones dobles.

Consideramos que la prueba de HAI para la enfermedad de Chagas es tan sensible, o más, que la de FC, que se usa como patrón para evaluar ensayos más nuevos. Sin embargo, se cree que aquella causa una proporción mayor (aunque siempre pequeña) de reacciones positivas falsas (*10*). En el primer estudio que realizamos en Oaxaca (*1*), 73% de los resultados que obtuvimos en 83 muestras de suero analizadas simultáneamente por los métodos de HAI y FC coincidió en la racción positiva o negativa ante las dos pruebas. En el trabajo actual ha habido una coincidencia de 77% entre los 150 sueros analizados. En estos estudios es posible que algunos resultados que fueron positivos para la HAI y negativos para la FC obedezcan a que ocurrieron reacciones positivas falsas, o a que la prueba de HAI detectó anticuerpos más persistentes que los descubiertos por la FC.

La notable coincidencia entre los resultados de las pruebas de HAI y AD fue inesperada. La segunda puede ser un método serológico útil para detectar anticuerpos contra *T. cruzi*, puesto que de los 42 sueros que tuvieron títulos positivos de HAI, todos, menos dos, también los mostraron para la AD. Sin embargo, 18% de los sueros cuyos títulos fueron positivos para la AD resultó negativo para la FC, lo que pone de manifiesto la posibilidad de que hayan ocurrido reacciones positivas falsas de AD.

La especificidad de los anticuerpos hallados en Oaxaca mediante el antígeno *T. cruzi* se evaluó probando las muestras de suero con antígenos preparados a partir de *L. mexicana* y *T. rangeli,* otros dos agentes infecciosos. La leishmaniasis cutánea (úlcera de los chicleros) causada por *L. mexicana* se encuentra en algunas partes del sur de México, aunque no se ha descubierto en el litoral oaxaqueño del Pacífico. En México no se ha dado noticia de infecciones por *T. rangeli* en el hombre, los animales o los vectores; empero, por el norte se ha hallado el parásito hasta Guatemala, en *Rhodnius prolixus* (*11*). Se cree que la distribución de *T. rangeli* tiene los mismos términos que la de su principal vector, *R. prolixus.* Por consiguiente, ya que se ha encontrado *R. prolixus* en Oaxaca, es posible que posteriormente se halle *T. rangeli* en esta zona.

Los datos contenidos en este estudio apoyan las pruebas que se han dado en otros trabajos, relativamente escasos, acerca de las reacciones cruzadas serológicas que ocurren entre *T. cruzi* y *T. rangeli* (*11-15*). Tales trabajos ponen de manifiesto que las infecciones por *T. rangeli* que efectan al hombre no producen en el ser humano anticuerpos que reaccionan a bajas concentraciones con *T. rangeli.* Nuestro análisis de 12 sueros procedentes de individuos que tenían infecciones por *T. rangeli* parasitológicamente comprobadas no descubrió anticuerpo alguno contra el propio *T. rangeli* o *T. cruzi.* No obstante, uno de los 27 sueros que se obtuvieron de individuos infectados por *T. cruzi* parasitológicamente confirmado mostró un título de 128 contra el antígeno *T. rangeli,* y las muestras de suero de cuatro personas que tuvieron títulos positivos ante el antígeno *T. cruzi* los produjeron también ante el antígeno *T. rangeli.* Para evaluar mejor estas reacciones cruzadas se deben emplear técnicas de absorción cruzada con sueros inmunes de animales infectados con cada uno de dichos parásitos, y con sueros de individuos que sufren las correspondientes infecciones naturalmente adquiridas.

Los hallazgos dados a conocer en este estudio y nuestro trabajo de 1972 (*1*) concuerdan con los experimentos de otros investigadores, que muestran la existencia de reacciones cruzadas entre *T. cruzi* y algunas variedades de *Leishmania* (*16*). En nuestro estudio anterior, ninguno de los 52 sueros que tuvieron reacciones positivas con el antígeno *T. cruzi* mostró un resultado positivo al probarlo contra *L. donovani,* variedad de *Leishmania* que no se encuentra en la región. Sin embargo, en el estudio actual, cuando se empleó el antígeno *L. mexicana* en la prueba de AD, nueve de los 50 sueros que habían tenido reacciones positivas frente a *T. cruzi* las tuvieron también con aquel antígeno (cuadro 6). De los 35 sueros que produjeron reacciones negativas con el antígeno *T. cruzi,* dos dieron resultados positivos en la prueba de AD ante *L. mexicana.* Ya que no se puede descartar la presencia de infecciones por *L. mexicana* en la zona de Oaxaca, donde se obtuvieron las muestras de suero, es posible que las reacciones que ocurrieron entre algunos, si no todos los 11 sueros que mostraron títulos positivos frente al antígeno *L. mexicana* sean un índice de la prevalencia de anticuerpos contra este parásito.

En la prueba de AD para la leishmaniasis con un antígeno elaborado a partir de *L. donovani* se tomó por positivo un título de 32 o más (*17*). Es necesario que se realicen más estudios en muestras de sueros de individuos infectados por *L. mexicana* demostrada parasitológicamente para poder evaluar la intensidad de las reacciones y la naturaleza específica de los ensayos serológicos en torno de este parásito.

Resumen

Se ha efectuado una evaluación comparativa de tres pruebas serológicas empleadas en los estudios epidemiológicos de la enfermedad de Chagas en Oaxaca, México. Los resultados de esta evaluación, que comprende las técnicas de hemaglutinación indirecta (HAI), aglutinación directa (AD) y fijación del complemento (FC) son los siguientes:

Se ha probado la reproducibilidad de los

resultados obtenidos mediante la técnica de HAI sometiendo las mismas muestras de suero sanguíneo dos veces a análisis de HAI frente a un antígeno de *Trypanosoma cruzi*. Se encontró 95% de coincidencia en los resultados de las reacciones. Además se halló 81% de coincidencia al analizar muestras de sangre frente a *T. cruzi*. con las técnicas de HAI y FC. El análisis de las muestras con las técnicas de HAI y AD tuvo 98% de coincidencia en los resultados, y se observó 78% de coincidencia entre las muestras en que se ensayaron la AD y la FC.

Cuando se empleó antígeno *T. rangeli*, las muestras de suero sanguíneo analizadas mediante la técnica de HAI mostraron resultados positivos escasos o nulos. Se hallaron reacciones cruzadas en 11% de 85 muestras de suero estudiadas por medio de AD frente al antígeno *Leishmania mexicana* y por HAI frente a *T. cruzi*.

Se analizaron muestras de suero de 128 individuos frente al antígeno *T. cruzi* por medio de HAI y los resultados se compararon con los ensayos en que se emplearon eluidos de la sangre del papel de filtro que contenía muestras de los mismos sujetos. Se observó 93% de coincidencia entre los resultados de ambos grupos, lo que significa que la toma y el transporte de muestras de sangre en papel de filtro es una técnica útil y exacta para realizar estudios epidemiológicos en que se analizan los anticuerpos contra *T. cruzi* mediante HAI.□

Agradecimiento

Los autores desean manifestar su agradecimiento a los doctores Fernando Galindo, Mario Pérez Ramírez y Hugo Sarmiento Díaz, de la Universidad Benito Juárez, y Gerardo Varela, del Instituto de Salud y Enfermedades Tropicales de la ciudad de México, por su auxilio y estímulo.

REFERENCIAS

(*1*) Goldsmith, R.S., I. G. Kagan, M. A. Reyes González y J. Cedeño Ferreira. Estudios seroepidemiológicos realizados en Oaxaca, México. Encuesta de anticuerpos parasitarios mediante la prueba de hemaglutinación indirecta. *Bol Of Sanit Panam* 51(6):500-518. 1971.

(*2*) Goldsmith, R. S., I.G. Kagan, R. Zárate-Castañeda, M. A. Reyes González y J. Cedeño Ferreira. Epidemiologic studies of Chagas' disease in Oaxaca, México. *Bol Of Sanit Panam* 87(1):1-19, 1979.

(*3*) Allain, D. S. e I. G. Kagan. An evaluation of the direct agglutination test for Chagas' disease *J Parasitol* 60:179-184, 1974.

(*4*) Cuadrado, R. R. e I. G. Kagan, The prevalence of antibodies to parasitic diseases in sera of young army recruits from the United States and Brazil. *Am J Epidemiol* 86:330-340, 1967.

(*5*) Neal, R A. y R. A. Miles. Indirect hemagglutination test for Chagas' disease, with a simple method for survey work. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 12:325-332, 1970.

(*6*) Maekelt, G. A y C. Colmenares de Alayón. Método sencillo para el envío de sueros chagásicos desde las zonas rurales. *Arch Venezolanos Med Trop Parasitol Med* 3:133-142, 1960.

(*7*) Loureiro de Souza, S. y M. E. Camargo. The use of filter paper blood smears in a practical fluorescent test for American trypanosomiasis serodiagnosis. *Rev Inst Med Trop Sao Pulo* 8:255-258, 1966.

(*8*) Alvarez, M., A. M. De Rissio, G. J. W. De Martini, L. Abramo Orrego y J. A. Cerisola. Recolección de sangre en papel para diagnóstico de infección chagásica por inmunofluorescencia. *Bol Chil Parasitol* 26:2-6, 1971.

(*9*) Franco, M. F. y L. G. Chamma. Technical modification of indirect inmunofluorescent antibody test using filter paper blood eluates. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 44:692-696, 1973.

(*10*) Cerisola, J. A., M. Alvarez, H. Lugones y J. B. Rebosolán. Sensibilidad de las reacciones serológicas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. *Bol Chil Parasitol* 24:2-8, 1969.

(*11*) Organización Mundial de la Salud. *Enfermedad de Chagas: Informe de unGrupo de Estudio*. OMS, Serie de Informes Técnicos 202, Ginebra, 1960.

(*12*) Brener, Z. y E. Chiari. Variaçoes morfológicas ob-

servadas em diferentes amostras de *Trypanosoma cruzi*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 5:220-224, 1963.

(*13*) González Capa, S. M. e I. G. Kagan. Agar gel immunoelectrophoretic analysis of several strains of *Trypanosoma cruzi*. *Exp Parasitol* 25:50-57, 1969.

(*14*) Kagan, I. G., L. Norman y D. Allain. Studies on *Trypanosoma cruzi* isolated in the United States: A review. *Rev Biol Trop* 14:55-73, 1966.

(*15*) Nussensweig, V., L. M. Deane y J. Kloetzel. Diversidade na constituçãó antigênica de amostras de *Trypanosoma cruzi* isoladas no homem e de gambás. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 4:409-410, 1962.

(*16*) Organización Panamericana de la Salud. *Informe de un grupo de estudio sobre la enfermedad de Chagas* (Washington, D. C., septiembre de 1969). Publicación Científica 195, Washington, D. C., 1970. 1970.

(*17*) Allain, D. S. e I. G. Kagan. A direct agglutination test for leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 24:232-236, 1975.

Evaluation on serologic tests for studies on Chagas' disease (Summary)

A comparative evaluation has been made of three serologic tests used for epidemiologic studies of Chagas' disease in Oaxaca, Mexico. The results of this evaluation, concerned with the techniques of indirect hemagglutination (IHA), direct agglutination (IDA), and complement fixation (CF), were as follows:

The reproducibility of IHA test results was demonstrated by testing the same sera twice by IHA against *Trypanosoma cruzi* antigen. The results of these tests showed 95% agreement. In addition, 81% agreement was obtained when blood samples were tested against *T. cruzi* by IHA and CF. Similar testing of samples by IHA and DA yielded 98% agreement, while 78% agreement was obtained with samples tested by DA and CF.

When *T. rangeli* antigen was used, sera tested by IHA showed few or no positive results. Cross-reactivity was found in 11% of 85 sera tested against *Leishmania mexicana* antigen by DA and against *T. cruzi* by IHA.

Sera from 128 subjects were tested against *T. cruzi* antigen by IHA, and the results were compared to those obtained using eluates from filter paper strips containing blood specimens from the same subjects. Agreement between the two sets of results was obtained in 93% of the cases, indicating that collecting and transporting blood specimens on filter paper can serve as a useful and accurate technique in epidemiologic studies concerned with IHA antibodies to *T. cruzi*.

Avaliação de testes serológicos empregados em estudos sobre a doença de Chagas (Resumo)

Fez-se uma availiação comparativa de três testes serológicos usados nos estudos epidemiológicos da doença de Chagas em Oaxaca, México. Os resultados dessa availiação que inclui as técnicas de hemaglutinação indireta (HAI), aglutinação direta (AD) e fixação do complemento (FC) são os seguentes:

A capacidade de reproduzir os resultados obtidos mediante a técnica de HAI já se provou submetendo as mesmas amostras de soro sanguíneo duas vezes à análise de HAI diante de um antígeno de *Trypanosoma cruzi*. Achou-se 95% de coincidência nos resultados das reações. Além disso, achou-se 81% de coincidência ao analisar amostras de sangue oposto ao *T. cruzi* com as técnicas de Hai e FC. A análise das amostras com as técnicas de HAI e AD mostrou 98% de coincidência nos resultados, e se pode observar 78% de coincidência entre as amostras nas quais se testaram a AD e a FC.

Quando se usou o antígeno *T. rangeli*, as amostras de soro sanguíneo analisadas pela técnica de HAI demonstraram resultados positivos, escassos ou nulos. encontraram-se reações cruzadas em 11% de 85 amostras de soro estudadas por meio de AD oposto ao antígeno *Leishmania mexicana* e por HAI em oposição ao *T. cruzi*.

Analisaram-se amostras de soro de 128 indivíduos oposto ao antígeno *T. cruzi* mediante HAI e comparam-se os resultados com

os testes em que se empregaram eluidos do sangue do papel de filtro que continha amostras dos mesmos sujeitos. Observou-se 93% de coincidência entre os resultados de ambos grupos, o que significa que a tomada e o transporte de amostras de sangue em papel de filtro é uma técnica útil e exata para fazer estudos epidemiológicos nos quais se analisam os anticorpos contra *T. cruzi* por meio de HAI.

Evaluation des tests sérologiques pour l'étude de la maladie de Chagas (Résumé)

L'etude comparative de trois examens de laboratoire utilisés pour les recherches épidémiologiques concernant la maladie de Chagas dans l'état de Oaxaca (Mexique) a été entreprise.

Les techniques utilisées étaient les suivantes: hémagglutination indirecte (HAI), agglutination directe (AD) et fixation du complément (FC). Les résultats de cette analyse ont été les suivants:

La reproductibilité des essais d'HAI a été démontréc en faisant réagir deux fois le même sérum en présence d'antigène de *Trypanosoma cruzi:* dans 95% des cas les résultats coincidaient.

En outre, lorsque les échantillons de sang étaient soumis parallèlement aux deux essais, HAI et FC, les résultats étaient analogues dans 81% des cas. Si les échantillons étaient traités par HAI et AD les résultats coincidaient dans 98% des cas, et 78% si les échantillons étaient analysés par AD et FC.

Dans le cas de sérums testés par HAI en présence d'antigène de *T. rangeli,* seuls quelques résultats positifs ont été obtenus. Une réactivité croisée avec l'antigène de *Leishmania mexicana* et contre *T. cruzi* a été décelée dans 11% de 85 sérums, par AD dans un cas et HAI dans l'autre.

La réaction par HAI de sérums de 128 individus face à l'antigène de *T. cruzi* a été évaluée et comparée à celle obtenue à partir d'éluats de bandes de papier filtre sur lesquelles avaient été déposés des échantillons de sang des mêmes individus.

Les deux séries de résultats étaient parallèles dans 98% des cas, ce qui permet de penser que l'obtention et le transport d'échantillons de sang sur papier filtre constitue une technique utile et précise pour les études épidémiologiques portant sur les anticorps anti- *T. cruzi,* mesurés para HAI.