

<sup>1</sup>Selene Blum-Domínguez, <sup>2</sup>Bertha Espinoza, <sup>2</sup>Ignacio Martínez-Martínez, <sup>3</sup>Guadalupe Maldonado-Velázquez, <sup>1</sup>Paulino Tamay-Segovia

<sup>1</sup>Centro de Investigaciones Biomédicas

<sup>2</sup>Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Distrito Federal, México

<sup>3</sup>Facultad de Ciencias Químico-Biológicas

Autores 1 y 3, Universidad Autónoma de Campeche, Campeche, México

# Hallazgo de infección por *Trypanosoma cruzi* sin evidencia serológica

Comunicación con: Paulino Tamay-Segovia

Tel: (981) 813 0176. Fax: (981) 813 0176

Correo electrónico: pautamay@hotmail.com

## Resumen

Se aisló *Trypanosoma cruzi* en un hombre de 20 años sin pruebas de anticuerpos contra este parásito hasta 12 meses después del aislamiento y sin alteraciones electrocardiográficas. La muestra aislada obtenida fue caracterizada como *T. cruzi* mediante la prueba de reacción en cadena de la polimerasa del miniexón. En ocasiones los anticuerpos no pueden ser demostrados debido a la ausencia de reactividad serológica a *T. cruzi*. Éste es el primer caso con ausencia de reactividad documentado en México.

## Palabras clave

trypanosomiasis  
*Trypanosoma cruzi*  
anticuerpos  
reacción en cadena de la polimerasa

## Summary

*Trypanosoma cruzi* was isolated from a 20 years male with no evidence of antibodies against this parasite until 12 months after the isolation and with no electrocardiographic alterations. The isolated sample obtained was characterized as *T. cruzi* I through PCR mini-exon. It had been reported cased without serologic reactivity to *T. cruzi*. It is the first case with lack reactivity reported in Mexico.

## Key words

trypanosomiasis  
*Trypanosoma cruzi*  
antibodies  
polymerase chain reaction

## Introducción

La enfermedad de Chagas es una infección ocasionada por *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*) que puede ocasionar daños digestivos y cardiovasculares e incluso la muerte. Se estima que existen cinco o seis millones de personas infectadas y 25 millones en riesgo de adquirir la infección.<sup>1</sup> Por lo tanto, la Organización Mundial de la Salud ha establecido eliminar la transmisión de esta zoonosis mediante la interrupción de la transmisión vectorial y mediante el tamizaje en bancos de sangre para identificar anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*. Sin embargo, existen casos en que los anticuerpos no pueden ser demostrados debido a la escasa o ausencia de reactividad serológica a *T. cruzi*.<sup>2-4</sup> Esta ausencia de reactividad no ha sido documentada en México.

## Método de detección

La detección de anticuerpos IgM e IgG anti-*T. cruzi* se evaluó por la prueba de ELISA en el laboratorio del Centro de Investigaciones Biomédicas, Universidad Autónoma de Campeche, y en el Laboratorio de Inmunología de la Universidad Nacional Autónoma de México; también se realizó hemaglutinación indirecta y reconocimiento antigénico mediante Westernblot.<sup>5</sup>

Para el aislamiento del parásito se sembró sangre total en medio LIT y se extrajo el ADN parasitario con la técnica de fenol:cloroformo<sup>6</sup> para amplificar mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) una parte de la región intergénica del gen de miniexón. Con este propósito se utilizaron los siguientes oligonucleótidos:<sup>7</sup>

- TC1: 5'-GTGTCCGCCACCTCCTCGGGCC.
- TC2: 5'-CCTGCAGGCACACGTGTGTGTG.
- TCC: 5'-CCCCCCTCCCAGGCCACACTG.

## Caso clínico

Hombre de 20 años de edad, originario de la ciudad de Campeche, que acudió al Centro de Investigaciones Biomédicas de la Universidad de Campeche para la determinación de anticuerpos contra *T. cruzi*, debido a que la picadura de un insecto le ocasionó induración local y fiebre, por lo que se sospechó que se trataba de una chinche transmisora de la enfermedad de Chagas. Al mostrarle ejemplares de *Triatoma dimidiata* los identificó como los que ha encontrado en los alrededores de su domicilio.

Dado que la picadura había sucedido aproximadamente 15 días antes, se obtuvo una muestra sanguínea para la detección de anticuerpos y hemocultivo. Si bien la determinación de anticuerpos resultó negativa, en el hemocultivo se encontraron tripanosomas a los 54 días, por lo que el paciente fue citado para segunda extracción de sangre casi dos meses después de la primera; en ese momento indicó no tener ningún padecimiento ni estar tomando fármacos inmunosupresores.

Por segunda ocasión las mismas pruebas resultaron negativas al igual que el hemocultivo. Se esperó 45 días para realizar los mismos ensayos, en los cuales resultó positivo el hemocultivo, pero no la presencia de anticuerpos ni el reconocimiento antigenico por Western-blot. Debido a la ausencia de reactividad de anticuerpos a *T. cruzi* se realizó una prueba PCR del aislamiento, de donde se obtuvo un amplificado de 350 pb que corresponde al linaje 1 de *T. cruzi* (figura 1). Asimismo, se llevó a cabo la identificación de anticuerpos en los familiares que habitaban en la misma vivienda, la cual resultó negativa al igual que el hemocultivo. También se buscó y capturó triatominos en la vivienda, con lo que confirmó el vector *Triatoma dimidiata* infectado con *T. cruzi*.

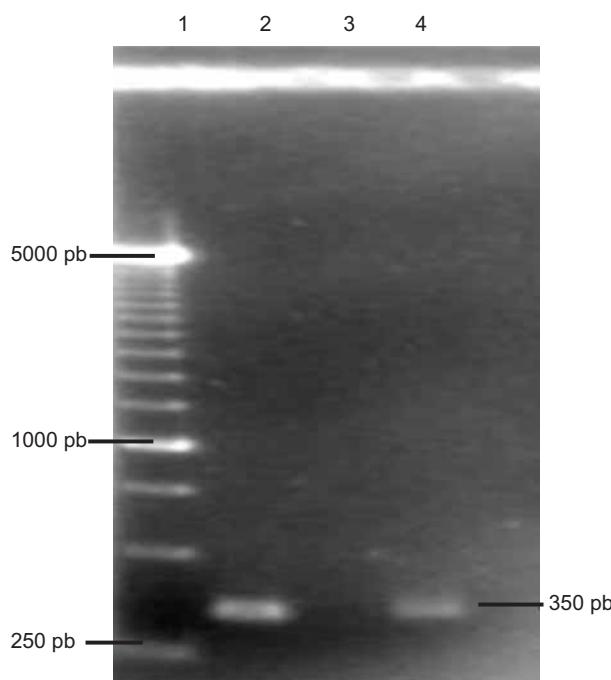
En el seguimiento a un año, la persona no presenta manifestaciones clínicas ni electrocardiográficas y sigue sin evidencia de reactividad serológica a *T. cruzi*.

## Discusión

El presente hallazgo de infección con *T. cruzi* sin evidencia de reactividad serológica es el primero del que se tiene registro en el estado de Campeche, México. Ésta es una condición descrita previamente por investigadores argentinos en regiones altamente endémicas,<sup>8</sup> lo cual contrasta con lo encontrado por nuestro grupo de trabajo en una región que no se considera de alta endemia para la enfermedad de Chagas. En México, los estados donde se ha encontrado mayor prevalencia son Chiapas, Oaxaca, Hidalgo y Veracruz.<sup>9</sup> Sin embargo, en ninguno se han reportado casos de anergia específica a *T. cruzi*.

La falta de reactividad serológica puede deberse a infecciones recientes que todavía no han sido reconocidas por el sistema inmunitario o a una respuesta humorada de anticuerpos que no es detectable en las pruebas serológicas. En este caso no se encontró evidencia de anticuerpos IgG contra este parásito hasta 12 meses después de que se comprobó la infección con *T. cruzi*, sin embargo, la persona presentaba parásitos circulantes en sangre, lo cual lo convierte en un potencial reservorio intradomiciliario dada la presencia del vector.<sup>10</sup> No obstante, en sus familiares no se identificó seropositividad a *T. cruzi*.

A diferencia de otros hallazgos donde solo se determina la infección mediante PCR, aislamos al tripanosoma y por PCR lo caracterizamos como *T. cruzi* linaje I, que concuerda con el identificado en México.<sup>11</sup> La amplificación del ADN con iniciadores específicos para *T. cruzi* confirmó que la persona estaba infectada con el agente etiológico de la enfermedad de Chagas, sin mostrar reacción serológica evidente en las pruebas inmunológicas. Por lo tanto, este caso debe llevar a plantear estudios en población abierta que permitan conocer qué tan frecuente es este fenómeno, debido a que las personas infectadas pueden pasar desapercibidas, incluso para los bancos de transfusión sanguínea.



**Figura 1** | **Productos de la PCR de *Trypanosoma cruzi*. Carril 1, marcador de peso molecular de 250 pb; carril 2, muestra; carril 3, control negativo (agua); carril 4, control positivo (cepa Ninoa)**

## Agradecimientos

Este estudio se realizó con financiamiento proporcionado por el Programa para el Mejoramiento del Profesorado de la Universidad Autónoma de Campeche. Los autores agra-

decen a la médica internista Diana Teresa Sansores Ambrosio y al pediatra Julio Alfonso Rodríguez Ravell, docentes de la Universidad Autónoma de Campeche. De igual forma, al médico familiar Daniel Godínez Tamay, por la atención al paciente.

## Referencias

1. World Health Organization. Control of Chagas disease, second report of the WHO Expert Committee. World Health Organ Tech Rep Ser 2002;905:1-119. Disponible en [http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_905.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_905.pdf)
2. Gomes ML, Galvao LM, Macedo AM, Pena SD, Chiari E. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. Am J Trop Med Hyg 1999;60(2):205-210. Disponible en <http://www.ajtmh.org/content/60/2/205.long>
3. Wincker P, Bosseno MF, Britto C, Yaksic N, Cardoso MA, Morel CM, et al. High correlation between Chagas' disease serology and PCR-based detection of *Trypanosoma cruzi* kinetoplast DNA in Bolivian children living in an endemic area. FEMS Microbiol Lett 1994;124(3):419-423.
4. Castro AM, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvão LM. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. Parasitol Res 2002;88(10): 894-900.
5. Rangel-Flores H, Sánchez B, Mendoza-Duarte J, Barnabé C, Breniere FS, Ramos C, et al. Serologic and parasitologic demonstration of *Trypanosoma cruzi* infections in an urban area of central Mexico: correlation with electro-cardiographic alterations. Am J Trop Med Hyg 2001;65 (6):887-895. Disponible en <http://www.ajtmh.org/content/65/6/887.long>
6. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. New York, USA: Cold Spring Harbor, Cold Spring Harbor Laboratory Press; 1989.
7. Souto RP, Fernandes O, Macedo AM, Campbell DA, Zingales B. DNA markers define two major phylogenetic lineages of *Trypanosoma cruzi*. Mol Biochem Parasitol 1996; 83(2):141-152.
8. Salomone OA, Basquiera AL, Sembaj A, Aguerri AM, Reyes ME, Omelianuk M, et al. *Trypanosoma cruzi* in persons without serologic evidence of disease, Argentina. Emerg Infect Dis 2003;9(12):1558-1562. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3034320/pdf/03-0008.pdf>
9. Velasco-Castrejón O, Valdespino JL, Tapia-Conyer R, Salvatierra B, Guzmán-Bracho C, Magos C, et al. Seroepidemiología de la enfermedad de Chagas en México. Salud Pública Mex 1992;34(2):186-196.
10. Añez N, Crisante G, Rojas A, Carrasco H, Parada H, Yépez Y, et al. Detection and significance of inapparent infection in Chagas disease in Western Venezuela. Am J Trop Med Hyg 2001;65(3):227-232. Disponible en <http://www.ajtmh.org/content/65/3/227.long>
11. Bosseno MF, Barnabé C, Magallón-Gastélum E, Lozano-Kasten F, Ramsey J, Espinoza B, et al. Predominance of *Trypanosoma cruzi* lineage I in Mexico. J Clin Microbiol 2002;40(2):627-632. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC153397/?tool=pubmed>