

RELACIONES INMUNOLÓGICAS ENTRE *TRYPANOSOMA CRUZI* Y *TRYPANOSOMA LEWISI*

Walterio GARCIA⁽¹⁾, Stephanie OELERICH⁽²⁾ y Heinz MÜHLPFORDT⁽³⁾

RESUMEN

Mediante inmunolectroforesis y doble difusión en agar usando antígenos de *T. lewisi* (cepa Londres) y *T. cruzi* (cepa Perú) y suero de conejo anti-*T. lewisi* (cepa Londres) se obtuvieron en doble difusión en agar siete bandas de precipitación en contra de antígeno de *T. cruzi*, de las cuales cuatro mostraron identidad con antígeno de *T. lewisi* y tres fueron parciales. En inmunolectroforesis se encontraron tres bandas cualitativamente idénticas.

INTRODUCCIÓN

En un trabajo anterior⁶ fue señalada la acción protectora que se encontró al tratar ratones con *T. lewisi*, cultivados *in vitro* e infectarlos posteriormente con *T. cruzi*. También fue posible suponer la existencia de anticuerpos semejantes por distintos métodos serológicos, tales como hemaglutinación y doble difusión en agar. El objeto del presente trabajo es el de corroborar los hallazgos anteriores demostrando la presencia de antígenos comunes entre ambas especies de trypanosomas, usando diversos métodos inmunológicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se usaron para la preparación de los antígenos las mismas cepas de *T. cruzi* y de *T. lewisi* que en el trabajo anterior⁶, cultivadas durante 19 días según el método de NAKAMURA⁸. Para la preparación del antígeno, la suspensión final fue de 3×10^9 trypanosomas/ml; se lavaron los parásitos

tres veces con solución de HANKS, resuspendiéndose en agua destilada, se congeló gradualmente a -20°C y se descongeló a temperatura ambiente, repitiéndose cinco veces. La suspensión fue tratada posteriormente con ultrasonido durante cinco minutos alternando 30 sec. de tratamiento con 30 sec. de reposo, luego se centrifugó durante 30 min. a 10,000 r.p.m. y el sobrenadante fue usado como antígeno. La solución fue estandarizada a 10 mg/ml de contenido protéico. El suero de conejo anti-*T. lewisi* fue preparado según el método descrito por COOMBS & GELL³ para proteínas. El método de doble difusión en agar seguido fue el de FEINBERG⁵. La inmunolectroforesis practicada fue la de SCHEIDEGGER¹¹, en cámaras electroforéticas BUCHLER (Inst., Inc.), recibiendo 2,5 mA cada laminilla durante 60 min. En ambos casos las preparaciones se mantuvieron en cámara húmeda a temperatura ambiente, las placas de inmunolectroforesis se tiñeron después de 48 horas y las de doble difusión en agar después de 72 horas según el método de URIEL¹³.

Trabajo realizado con ayuda financiera de la Deutsche Forschungsgemeinschaft

- (1) Becario del Deutscher Akademischer Austauschdienst y de la Universidad Nacional Autónoma de México
- (2) Asistente del Departamento de Higiene Tropical (Director: Prof. Dr. H. Lippelt)
- (3) Docente del Departamento de Protozoología (Director: Prof. Dr. A. Westphal) del Instituto de Medicina Tropical de Hamburgo (Director: Prof. Dr. H. H. Schumacher), Germany

RESULTADOS

A) Doble difusión en agar. En la Fig. 1, se pueden observar siete líneas de precipitación entre el antígeno de *T. cruzi* y el

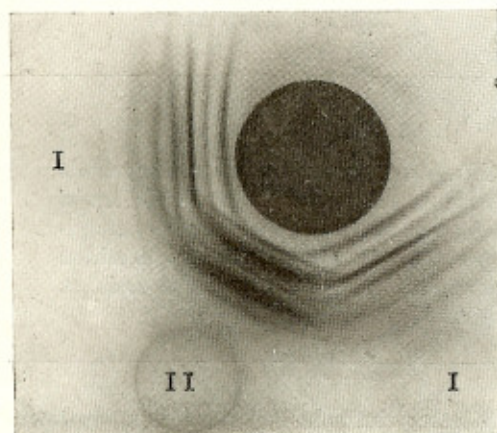


Fig. 1 — Doble difusión en agar. Centro: Suero de conejo anti-*T. lewisi*. I — Antígeno *T. cruzi*; II — Antígeno *T. lewisi*. Cuatro bandas muestran identidad, y tres son parciales.

suero de conejo anti-*T. lewisi*, de las cuales cuatro muestran identidad y tres son parciales con las bandas obtenidas contra antígeno de *T. lewisi*. Sobre los resultados entre el antígeno de *T. lewisi* y su antisuero homólogo, el trabajo será publicado por separado (OELERICH).

B) Inmunolectroforesis. Como se ve en la Fig. 2, hay tres bandas idénticas las que cualitativamente no se pueden diferenciar por inmunolectroforesis una de la otra.

DISCUSIÓN

De gran interés y valor práctico son las investigaciones sobre las relaciones inmunológicas entre las diferentes especies de la familia Trypanosomatidae. Siguen adelante los trabajos para encontrar diferencias antigénicas y clasificar las diversas especies^{1, 2, 7, 14}.

Otro aspecto, desde el punto de vista médico, es el de encontrar antígenos comunes entre especies avirulentas para el hombre, utilizándolas para protegerlo contra especies



Fig. 2 — Inmunolectroforesis. Ambas precipitaciones muestran identidad cualitativa.

patógenas. Entre los trabajos enfocados a este objetivo, se encuentran los siguientes: BIGALKE¹ pudo demostrar usando doble difusión en agar e inmunoelectroforesis, la presencia de antígenos comunes entre *T. rhodesiense*, *T. equinum*, *T. equiperdum*, *T. evansi* y *T. lewisi*. Entre las investigaciones efectuadas para demostrar identidad antigénica entre trypanosomas africanos y *T. cruzi*, han surgido criterios divergentes. SADUN & col.¹⁰ usando inmunofluorescencia encontraron semejanza antigénica entre *T. gambiense*, *T. rhodesiense* y *T. cruzi*. En contra de estos resultados están los trabajos de PAUTRITZEL⁹, de SEED¹² y DUPOUEY & MARÉCHAL⁴ usando fijación de complemento, aglutinación, precipitación en gel, inmunoelectroforesis e inmunofluorescencia. Fue demostrada una protección parcial en animales tratados con cultivos de *T. lewisi* (cepa Londres) contra una infección posterior por *T. cruzi*⁶. Estos resultados se confirman al encontrarse varias bandas de precipitación comunes entre los antígenos de *T. cruzi* y *T. lewisi* contra un suero de conejo anti-*T. lewisi*. Al demostrarse antígenos comunes entre los trypanosomas africanos y *T. lewisi* por BIGALKE¹, y corroborarse antígenos comunes entre *T. lewisi* y *T. cruzi* por GARCÍA & MÜHLPFORDT⁶, se puede concluir que los trypanosomas africanos tienen similaridad antigénica con *T. cruzi*. En favor de esta hipótesis están los resultados de SADUN & col.¹⁰.

En conclusión, y tomando en cuenta los trabajos referidos, es de esperar que en el futuro exista la posibilidad de encontrar una acción protectora con trypanosomas avirulentos para el hombre en contra de los patógenos.

S U M M A R Y

Immunological relationship between Trypanosoma cruzi and Trypanosoma lewisi

Immunological relationship between *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma lewisi* was studied by Ouchterlony's double diffusion test and immunoelectrophoresis. Antigens of *T. lewisi* (London sample) and *T. cruzi* (Peru sample) and rabbit's serum anti-*T. lewisi* (London sample) were used and it

was possible to obtain, by the double diffusion test in agar, seven precipitin bands against the antigen of *T. cruzi*, four of which have shown identity with the antigen of *T. lewisi* and three had shown only partial identity. The precipitin bands were qualitatively identical by the immunoelectrophoretic method.

R E F E R E N C I A S

1. BIGALKE, R. D. — Observations on the antigens of some trypanosomes with special reference to common antigens. *Onderstepoort J. Vet. Res.* 33:277-286, 1966.
2. CLARK, T. B. — *A comparative serological and morphological study of the family trypanosomatidae, Doflein 1901*. Doctoral thesis. University of Minnesota, 1958.
3. COOMBS, R. R. A. & GELL, P. G. H. — Diagnostic methods in serology and immunopathology. In *Clinical Aspects of Immunology*. Ed. GELL, P. G. H. & COOMBS, R. R. A., Oxford, Blackwell, 3-47, 1963.
4. DUPOUEY, P. & MARÉCHAL, J. — Structure antigénique des trypanosomes. I — Étude des antigènes de trois espèces de trypanosomes (*T. mega*, *T. cruzi*, *T. gambiense*) par la fixation du complément, la précipitation en gel et l'immunofluorescence. *Ann. Inst. Pasteur* 110:888-911, 1966.
5. FEINBERG, J. G. — A new device for immunoprecipitation in agar gels. *Nature (London)* 201:631-632, 1964.
6. GARCÍA, W. & MÜHLPFORDT, H. — Infección de *Trypanosoma cruzi* en ratones después de su tratamiento con *Trypanosoma lewisi*. *Rev. Inst. Med. trop. São Paulo* 11:13-18, 1969.
7. MCGHEE, R. B. & HANSON, W. L. — The relationship of various crithidias as determined by serological reactions. *J. Protozool.* 10:239-243, 1963.
8. NAKAMURA, M. — Cultivation of *Trypanosoma cruzi* in a protein free dialysate medium. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 125: 779-780, 1967.
9. PAUTRITZEL, R.; LAFAYE, A. & DURET, J. — Diagnostic sérologique de la maladie du sommeil. I — Amélioration de l'antigène préparé à partir de *Trypanosoma equiperdum*. *Bull. Soc. Path. Exot.* 52:318-331, 1959.

10. SADUN, E. H.; SUXBURY, R. E.; WILLIAMS, J. S. & ANDERSON, R. I. — Fluorescent antibody test for the serodiagnosis of african and american trypanosomiasis in man. *J. Parasit.* 49:385-388, 1963.
11. SCHEIDEGGER, J. J. — Une micro-méthode de l'immuno-electrophorèse. *Int. Arch. Allergy Appl. Immun.* 7:103-110, 1955.
12. SEED, J. R. — Antigenic similarity among culture forms of the "brucei" group of trypanosomes. *Parasitology* 54:593-596, 1964.
13. URIEL, J. — The characterization reactions of the protein constituents following electrophoresis or immuno-electrophoresis in agar. En: *Immuno-electrophoretic Analysis*. Ed. GRABAR, P. & BURTIN, P., Amsterdam, Elsevier, p.p. 30-57, 1954.
14. VITETTA, E. S. & GUTTMAN, H. N. — Immunological relationships among the lower trypanosomatidae. *J. Gen. Microbiol.* 48:45-52, 1967.

Recebido para publicação em 29/10/1968.