COMUNICACIÓN CORTA

LA PRUEBA INTRADÉRMICA DE MONTENEGRO (IDR) EN PACIENTES CON ENFERMEDAD DE CHAGAS: OBSERVACIÓN PRELIMINAR

Gloria Minaya[1], Eliseo Arroyo[1], Julio Vargas[2], Ántero Gonzáles[3]

[1] División Parasitología, Centro Nacional de Salud Pública, Instituto Nacional de Salud. Lima-Perú.
[2] Centro de Salud Chontalí, Jaén. Cajamarca-Perú.
[3] Centro de Salud Bagua Grande. Amazonas-Perú.

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la reacción cruzada de la prueba intradérmica de Montenegro (IDR), cuya indicación es el diagnóstico de leishmaniasis, en pacientes con la enfermedad de chagas. *Materiales y métodos*: Se aplicó 25-30 μg/mL de leishmanina, antígeno de *Leishmania (Viannia) peruviana,* en 7 personas infectadas por *Trypanosoma cruzi*, 4 con diagnóstico parasitológico (gota gruesa o hemocultivo) confirmatorio y presencia de signo de Romaña y los 3 restantes con demostración de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* mediante las pruebas ELISA e Inmunofluorescencia Indirecta (IFI). *Resultados*: La lectura de la prueba intradérmica a las 48 horas, reveló que ninguna de las siete personas presentó reacción de hipersensibilidad cutánea a la aplicación del antígeno. *Conclusión*: La prueba intradérmica de Montenegro con la leishmanina producida en el INS, evaluada en 7 pacientes con la enfermedad de chagas, no ha mostrado reactividad evidenciando una alta especificidad.

Palabras clave: Enfermedad de chagas/diagnóstico; Hipersensibilidad retardada; Leishmaniasis/diagnóstico *(fuente: BIREME).*

ABSTRACT

Objective: To evaluate the skin test of Montenegro, in Chagas'disease patients. *Material and methods*: 25-30 μg/mL of "Leishmanina", an antigen contained in *Leishmania (Viannia) peruviana,* was injected intradermically in seven infected persons by *Trypanosoma cruzi*, 4 acute cases (thick smear or culture positive) and 3 with antibodies anti-*Trypanosoma cruzi* showed by ELISA and Inmunofluorescense test. *Results*: No body showed positive reactions of hypersensitivy to the antigen. *Conclusion*: "Leishmanina", our prepared antigen has no cross reactions in 7 patients with Chagas'disease showing high specificity..

Key words: Chagas disease/diagnosis; Hypersensitivity, delayed; Leishmaniasis/diagnosis *(source: BIREME).*

INTRODUCCIÓN

Leishmania y *Trypanosoma cruzi*, protozoarios parásitos pertenecientes a la familia *Trypanosomatidae*, son agentes causales de la leishmaniasis y enfermedad de chagas, respectivamente; son antropozoonosis ampliamente distribuidas en nuestro país, existiendo áreas extensas en la región norte y nor-oriental del Marañon, donde ambas patologías están presentes. Investigaciones serológicas con antígenos consistentes en parásitos enteros (prueba IFI) o proteínas solubles totales (ELISA) de *Leishmania* pueden dar reactividad cruzada, limitando el establecimiento de un diagnóstico serológico confiable (observaciones personales).

La prueba de intradermoreacción de Montenegro (IDR), la cual mide la reacción de hipersensibilidad (RHC) retardada a antígenos homólogos o heterólogos de promastigotes de *Leishmania*, es de reconocida utilidad en el estudio clínico y epidemiológico de la leishmaniasis tegumentaria de las américas[1]. Desde que Montenegro en 1926[2], empleó por primera vez la IDR para el diagnóstico de la leishmaniasis cutáneo - mucosa (LCM), numerosos investigadores en diferentes latitudes geográficas del mundo, han encontrado altos índices de positividad en personas con leishmaniasis cutánea (LC), LCM y leishmaniasis visceral (LV) [3,-5] constituyéndose en una herramienta para el diagnóstico.

Además de la sensibilidad demostrada, existen reportes que permiten considerar a la IDR como una prueba altamente específica. Se han obtenido reacciones negativas en pacientes con paludismo, tuberculosis pulmonar, lepra, blastomicosis, paracoccidiodimicosis, sífilis, reumatismo crónico, como en diversas dermatosis[6-10]; en nuestra experiencia, pacientes con esporotricosis confirmada también presentaron reacción negativa a la leishmanina.

Debido a la estrecha relación taxonómica que muestran los parásitos de *Leishmania* y *Trypanosoma*, diversos investigadores en países vecinos, han evaluado la leishmanina en pacientes con enfermedad de chagas, demos-

trado por xenodiagnóstico y serología positivos a *T. cruzi*, no encontrando reacciones positivas [11,12], en tanto que Reed[13] reportó menos del 5% de las reacciones con diámetros de induración entre 5-6 mm.

En el Perú, Cornejo y Lumbreras, en 1951[14], durante la ejecución de una encuesta epidemiológica sobre la enfermedad de chagas en el valle de Majes, departamento de Arequipa, reportaron reacción de IDR positiva a las 48 horas en 33,3% (3/9) personas con enfermedad de chagas comprobada por xenodiagnóstico. Ninguna de estas personas tuvo antecedentes de leishmaniasis tegumentaria. En este caso la leishmanina consistió de promastigotes enteros formolados de *Leishmania braziliensis* preparado según la técnica descrita por Battistini y Herrer (1945)[15].

En nuestro medio, se cuenta con una leishmanina, extracto proteico soluble, elaborada a partir de promastigotes de *Leishmania (Viannia) peruviana*, a la concentración de 25-30 mg/mL para la prueba de IDR, que ha demostrado ser altamente sensible y específica, según el estudio realizado en 1999[16]. Durante esa evaluación, la leishmanina no pudo ser aplicada en pacientes afectados con la enfermedad de chagas, debido a la dificultad para detectar a estos pacientes en las áreas estudiadas, quedando pendiente el estudio de la probable reactividad cruzada con estos.

Motivados por esta inquietud y aprovechando nuestra breve visita al Laboratorio Regional de Bagua, nos desplazamos hacia la localidad de El Ron (provincia de Bagua), caserío en el cual durante los años 2001-2002 se reportaron casos agudos de la enfermedad de chagas, con la finalidad de ubicar a algunos de estos pacientes y aplicarles la leishmanina, cuyos resultados estamos presentando.

MATERIALES Y MÉTODOS

El área elegida para efectuar el estudio correspondió a la localidad de El Ron, distrito de Cajaruro, provincia de Bagua, departamento de Amazonas, debido a que en octubre del año 2001, a raíz de la detección de un caso agudo de la enfermedad de chagas, se efectuó una rápida encuesta serológica en pobladores de esta localidad, encontrándose en 7/22 (31,8%) la presencia de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*.

El marco muestral estuvo constituido por 7 pacientes del Laboratorio Regional de Bagua y el Centro de Salud Bagua Grande con resultado positivo a la infección por *Trypanosoma cruzi,* correspondiente a los últimos años. Para acceder a la información, se coordinó previamente con personal de estos laboratorios, priorizándose la búsqueda de pacientes con la enfermedad confirmada por demostración del parásito y cuyas viviendas fueran accesibles.

La leishmanina utilizada fue preparada en el laboratorio de leishmaniasis y chagas del Instituto Nacional de Salud, siguiendo la metodología de Reed[13], utilizando formas promastigotes de la cepa *L. (V.) peruviana MH0M/PE/84/LC26* identificada por análisis de zimodemas e hibridación del kDNA, procedente del Instituto de Medicina Tropical "Alexander von Humboldt" de la Universidad Peruana Cayetano Heredia (Lima-Perú).

APLICACIÓN DE LEISHMANINA

Se aplicó vía intraepidérmica, 0,1 mL de leishmanina, en el tercio superior de la cara anterior del antebrazo. La lectura de la reacción de hipersensibilidad se efectuó, según patrón establecido, a las 48 horas posteriores a la aplicación, considerando como criterio de positividad una reacción $\geq$ 6 mm en el sitio de inoculación. Adicionalmente, cuando fue factible, se obtuvo una muestra de suero para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*, simultáneo a la aplicación de la leishmanina; el suero obtenido, fue conservado en condiciones de refrigeración hasta su procesamiento en el Instituto Nacional de Salud, mediante las pruebas de Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y ELISA.

RESULTADOS

De las 7 personas estudiadas, 4 tuvieron diagnóstico parasitológico (gota gruesa o hemocultivo) positivo y presencia de signo de Romaña durante la fase aguda de la infección por *T. cruzi.* En las 3 restantes, se demostró la presencia de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*, mediante las pruebas serológicas de ELISA e IFI positivo (la confirmación de los casos agudos y el estudio serológico fueron realizados en el laboratorio referencial de leishmaniasis y chagas-INS). En la Tabla Nº 1 se detalla la relación de pacientes a los que se les aplicó la leishmanina, así como el resultado de las pruebas efectuadas.

Tabla Nº1. Relación de personas infectadas con *Trypanosoma cruzi* en las que se evaluó la leishmanina.

PACIENTE	EDAD (años)	PRESENCIA SIGNO DE ROMAÑA	*T. cruzi* EN GOTA GRUESA	*T. cruzi* EN HEMOCULTIVO	ELISA D.O.*	IFI++	IDR	TRATAMIENTO
Y. C. V.	3	+, 10/2001	+	+	1,241	1/64	NEG	En tratamiento durante la evaluación
J. V. N.	58	+, 08/1993	+		1, 225	1/64	NEG	NO
H. A. V.	13	+, 06/1999	+				NEG	SÍ
A. M. C.	14	+, 05/2002	+				NEG	SÍ
E. C. N.+	34				+	+	NEG	SÍ
J. C. R.	38				2,455	1/256	NEG	NO
M. V. B.	33				2,396	1/256	NEG	NO

* D.O.: Densidad óptica

\+ Su hijo murió al mes de nacido por infección congénita con *Trypanosoma cruzi.*

++ Título de valor diagnóstico $\geq$ a 1/32.

El resultado de la lectura reveló que ninguna de las 7 personas con infección demostrada a *T. cruzi* tuvo algún tipo de reacción (escozor, sensación de quemazón, edema, eritema, etc.,) a la aplicación de la leishmanina; por tanto, los 7 tuvieron reacción negativa a la prueba IDR. Recordemos que la prueba IDR para el diagnóstico de leishmaniasis, se considera positiva si el diámetro promedio de induración de la pápula es ≥ a 6 mm en el sitio de inoculación.

DISCUSIÓN

Los resultados que presentamos, coinciden con los reportados por Zeledón[12] y Mayrink[11], quienes evaluando leishmanina en pacientes con xenodiagnóstico y serología positivos a *T. cruzi* tampoco encontraron positividad en estos pacientes. En Brasil, Reed[13] reportó reacciones de 5-6 mm como resultado de la aplicación de la leishmanina en menos del 5% de pacientes chagásicos, cuando se utilizó extracto soluble de *L. donovani donovani* a la dosis de 25 µg proteínas/mL como antígeno.

En 1980, Fuller[17], estudiando la reactividad cruzada entre estos parásitos estrechamente relacionados, reportó que antígenos hechos con cultivos de *T. cruzi* pueden dar reacciones positivas en casos activos de leishmaniasis cutánea en las Américas, pero en magnitud menor a los producidos por antígenos de *Leishmania*.

En el Perú, Cornejo[14] (1952), reportó reacción de intradermoreacción positiva a las 48 horas en 3/9 (33,3%) personas con enfermedad de chagas, ninguna de estas personas tuvo antecedentes de leishmaniasis tegumentaria.

La diferencia con los resultados que reportamos, podría obedecer a la naturaleza de la leishmanina empleada, que en nuestro caso fue un extracto proteico soluble de *Leishmania (Viannia) peruviana*, mientras que Cornejo aplicó promastigotes enteros formolados de *Leishmania braziliensis* diluidos en solución de coca.

Incrementos en la dosis de antígenos de *L. (V) braziliensis* han sido asociados con un aumento en la potencia y presentación de efectos colaterales no deseables[18,19]. Por otro lado, la presentación de reacciones falso positivas, estarían relacionadas a la mayor concentración proteica de las leishmaninas empleadas.

La corroboración de nuestros resultados, en un número mayor de pacientes afectados con la enfermedad de chagas, nos permitirá evaluar la especificidad de la prueba intradérmica, herramienta diagnóstica simple y eficaz, para la confirmación de infección por *Leishmania,* descartando reactividad cruzada con *Trypanosoma cruz*i, principalmente en áreas geográficas donde ambos parásitos están presentes.

AGRADECIMIENTO

Los autores desean dejar constancia de su agradecimiento al personal del Centro de Salud de El Ron y al Blgo. Enrique Purisaca, por las facilidades otorgadas para la realización del presente informe. Al Dr. César Náquira y al Dr. Eduardo Falconí, por la revisión del manuscrito.

REFERENCIAS

1. **Furuya M, Mimori T, Gómez EAL, De Coronel VV, Kawabata M, Hashiguchi Y.** Epidemiological survey of leishmaniasis using skin test and ELISA in Ecuador. *Jpn J Trop Med Hyg* 1989; 17: 331-8.
2. **Montenegro, J.** A cutis reacao na leishmaniose *Ann Fac Med Sao Paulo* 1926; 1: 323-30.
3. **Arzubiaga C, Huayanay J, Biaggioni I.** An epidemiologic study of American cutaneous leishmaniasis in Maipuco, Perú. *Bull Pan Am Health Organ* 1984; 18(1): 19-25.
4. **De Ferreira LC, Laender JF.** A intradermo-reacao de Montenegro no diagnóstico de leishmaniose tegumentar americana. *Brasil Med* 1945; 59(5-6): 3-17.
5. **De Pessoa SB, Barreto MP.** Leishmaniose tegumentar americana. *Imp Nac Río de Janeiro* 1948. p. 527.
6. **Battistini G, Herrer A.** Intradermoreacción en la leishmaniasis tegumentaria en el Perú. III. La prueba intradérmica con "leishmanina" en el hombre. *Rev Med Exp* 1945; 4: 109-16.
7. **Naiff RD, Barrett TV, Arias JR, Naiff MF.** Paracoccidiodimicosis y leishmaniasis mediante pruebas cutáneas. *Bol Of Sanit Panam* 1988; 104(1): 35-49.
8. **Navarrete F, Biagi F.** Especificidad de la reacción intradérmica de Montenegro. *La Prensa Médica Mexicana* 1960; 25(6): 37-40.
9. **Pellegrino M, Pereira LH, Furtado TA,**. Mucocutaneous leishmaniasis: intradermal test with a promastigote suspension and a crude extract from *Leishmania braziliensis*. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo* 1977; 19: 393-6.
10. **Weigle KA, Valderrama L, Arias AL,Santrich C, Saravia N.** Leishmanin skin test standardization and evaluation of safety, dose, storage, longevity of reaction and sensitization. *Am J Trop Med Hyg* 1991; 44(3): 260-71.
11. **Mayrink W, Williams P, Cohelo MB, Dias M, Martins AV, Magalhaes PA, et al.** Epidemiology of dermal leishmaniasis in the Rio Doce Valley, State of Minas Gerais, Brazil. *Ann Trop Med Parasitol* 1979; 73: 123-37.
12. **Zeledón R, Hidalgo W, de Hidalgo H.** Intradermoreacción de Montenegro con antígeno de *Strigomonas oncopelti*. Nota previa. *Rev Biol Trop* 1960; 8: 145-6.
13. **Reed SG, Badaro R, Masur N, Carvalho EM, Lorenco R, Lisboa A, et al.** Selection of a skin test antigen for American visceral leishmaniasis. *Am J Trop Med Hyg* 1986; 35: 79-85.
14. **Cornejo DA, Lumbreras CH.** Encuesta epidemiológica sobre enfermedad de chagas en el Valle de Majes. Presentación de diez nuevos casos, 1951. *Arch Peru Patolog Clín* 1952; 5: 13-39.
15. **Battistini G Herrer A.** Intradermoreacción en la Leishmaniosis tegumentaria en el Perú. I. Elección de antígeno *Rev Med Exp* 1945; (4): 101-105.
16. **Minaya G, Torres Y, Farfán M, Mendizábal L, Colchado M, Arroyo E.** Evaluación de la Intradermoreacción con antígenos de *Leishmania (Viannia) peruviana y Leishmania (Viannia) braziliensis* en áreas endémicas de Leishmaniasis en el Perú. *Rev Med Exp* 1999; 16(1-2): 5-14.
17. **Fuller GK, Lemma A, Haile T.** A comparison of skin test responses using antigen from *Leishmania donovani* and a lizard trypanosome. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1980; 74 (2): 205-8.
18. **Cuba CA, Marsden PD, Barreto AC, Jones TC, Richards F.** The use of different concentrations of leishmanial antigen in skin testing to evaluate delayed hypersensitivity in american cutaneous leishmaniasis. *Rev Soc Brazil Med Trop* 1985; *18: 231-6.*
19. **Monroy A, Sosa T, Rivas B, Ruiz R, Mendoza A, Favila L**. Seroepidemiological studies of cutaneous leishmaniasis in the Campeche State of Mexico. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1997; 92(1): 21-6.