

---

**TRATAMIENTO ESPECIFICO DE LA ENFERMEDAD  
DE CHAGAS EN LA FASE CRÓNICA: CRITERIOS DE  
CURA CONVENCIONALES: XENODIAGNOSTICO,  
HEMOCULTIVO Y SEROLOGIA**

---

Luquetti A.O.<sup>1</sup> & Rassi A.<sup>2</sup>

### 1. Introduccion y conceptos

Uno de los factores que ha retardado el empleo sistemático de drogas tripanocidas para el tratamiento de los pacientes chagásicos en la fase crónica, es la dificultad en hacer el control adecuado después del tratamiento, para evaluar el efecto de la medicación y la consiguiente eliminación del *Trypanosoma cruzi*.

Otro factor que ha enlentecido el conocimiento en este campo, es el bajo número de especialistas en el asunto. La existencia de reacciones colaterales en algunos casos, así como la exigencia de períodos prolongados del uso de la droga, sumados a la necesidad de que el paciente no vuelva a tener contacto con triatomíneos, son otros factores que han contribuido al poco conocimiento existente (Rassi & Luquetti, 1994).

Existe consenso en que el seguimiento debe hacerse con métodos parasitológicos y serológicos. También hay acuerdo en que la existencia de parásitos después del tratamiento es indicativa de falla terapéutica, independiente de los resultados obtenidos con la determinación de anticuerpos. En el otro extremo, algunos grupos exigen la desaparición total de anticuerpos, como requisito para afirmar la cura (Cançado, 1997, Rassi & Luquetti, 1992; Fragata et al., 1997, Luquetti, 1997).

La falta adecuada de padronización de las diferentes técnicas empleadas, ha llevado a tentativas de utilizar otras herramientas, de uso reciente, como la investigación de material exclusivo del parásito (DNA o RNA) (Ashall et al., 1988), haciendo su amplificación a través de reacciones enzimáticas en cadena (PCR) (Wincker et al., 1994), el uso de xenodiagnóstico artificial utilizando gran cantidad de insectos (Silva et al.,

---

<sup>1</sup> Lab. Pesquisa Doença de Chagas, Dep.Parasitologia, Instituto de Patologia Tropical e Saúde Pública

<sup>2</sup> Dep. Clínica Médica, Faculdade de Medicina  
Universidade Federal de Goiás, Goiânia, Brasil. Fax 55.62.202.1500.

1998), y el empleo de antígenos purificados (Mendes et al., 1997), recombinantes (Frasch et al., 1988; Affranchino et al., 1989; Moncayo & Luquetti, 1990; Jazin et al., 1991; Kaplan et al., 1995) y péptidos sintéticos en las reacciones serológicas como control de cura (Luquetti, 1993).

Es nuestro propósito demostrar que, si bien nuevas tecnologías serán bien acogidas, el empleo criterioso de las técnicas clásicas (convencionales), puede dar resultados suficientes para llegar a una conclusión, caso a caso, en aquellos locales que no poseen tecnología de punta, situación frecuente en nuestros países latinoamericanos (Luquetti, 1987).

Por otra parte, siempre que aparece una nueva tecnología, tenemos que probar su eficacia en comparación con las técnicas conocidas, las cuales, para que puedan ser consideradas "patrón" ("gold standard"), deberán estar suficientemente ajustadas.

## 2. Métodos parasitológicos convencionales disponibles

Son dos los métodos que han sido empleados en forma simultánea o aisladamente, en la amplia mayoría de los estudios: el xenodiagnóstico y el hemocultivo. Los mismos han sido objeto de numerosos estudios, y comparaciones entre ellos (Chiari, 1992).

El concepto básico, que no siempre se tiene presente, es que la parasitemia en el paciente chagásico, es habitualmente baja (Ferreira et al. 1996). Existe un número de pacientes que, sistemáticamente, presenta parasitemia ostensible (Luquetti et al., 1986; Castro, 1995; Silva et al., 1995). Este grupo de pacientes que es edad-dependiente, corresponde frecuentemente a niños y adultos con edad mayor a los 50 años. Por otra parte, la mayor parte de los pacientes que se presenta en el consultorio, tiene edad comprendida entre los 20 y 50 años, justamente en donde la gran mayoría presenta parasitemia baja.

Otro concepto que consideramos básico es que el infectado chagásico crónico no tiene siempre parásitos circulantes en cada ml de sangre, 24 horas por día, durante todo el año. Así, las chances de obtener un examen positivo, van a aumentar no solo con el volumen de sangre examinado, sino también con el número de veces en que se proceda a hacer la investigación correspondiente (Luquetti et al., 1994).

### 2.1. Las técnicas disponibles

#### 2.1.1. Xenodiagnóstico.

Baseados en la experiencia de más de 10 años realizando xenodiagnóstico seriado en más de 500 pacientes no tratados, utilizando la misma metodología y el mismo equipo de técnicos para su lectura, llegamos

a la conclusión de que, independientemente de la edad, un examen único de xenodiagnóstico con 40 triatomíneos permite encontrar 21% de positividad (Rassi et al., 1991). Si aumentamos el número de exámenes en el mismo paciente, la positividad acumulada aumenta para 41,5% con 4 exámenes. Concluimos también que un mínimo de dos exámenes (80 triatomíneos) es necesario, para detectar hasta 36% de positividad. El aumento de exámenes consecutivos permite llegar hasta cifras de alrededor del 50%. Como los costos aumentan en razón directa del número de exámenes realizado, recomendamos efectuar dos exámenes consecutivos, para tener idea del perfil de positividad del paciente a ser tratado.

Existen variantes del xenodiagnóstico, como el xenodiagnóstico artificial, que, en buenas manos, puede rendir resultados mejores que el xenodiagnóstico "natural"; además de evitar el contacto de los insectos con la piel en casos de alergia a picada de insectos, presenta la ventaja de poder hacerlo con un número mucho mayor de triatomíneos. Uno de nosotros (AR) junto con Silva, (Silva et al., 1998) ha empleado el xenodiagnóstico artificial con 400 triatomíneos ("xenão"), con positividad de 46,3% en comparación con el xenodiagnóstico artificial clásico (28% de positividad). El xenodiagnóstico artificial tiene su indicación principalmente si hay hipersensibilidad a los insectos o si hay riesgo de contaminación en caso de inmunosupresión (AIDS, tratamiento con corticoides).

#### 2.1.2. Hemocultivo.

Aunque la experiencia nuestra con hemocultivo sea limitada, existen muchos trabajos señalando sus virtudes. En estudios comparativos, la sensibilidad es similar a la del xenodiagnóstico natural, aunque hay estudios recientes (Luz et al., 1994) que señalan una positividad de más del 95%, hecho que no ha sido aún reproducido por otros grupos de investigadores. Las ventajas en relación al xenodiagnóstico natural son la posibilidad de trabajar con volúmenes mayores de sangre, aumentando las chances de encontrar parásitos y su multiplicación correspondiente. Como desventaja, no todos los laboratorios tienen condiciones de producir sus propios medios de cultivo (el LIT Liver Infusion Tryptose, es el más utilizado), siendo que los mismos no se encuentran disponibles en el mercado, así como los requerimientos técnicos de esterilidad absoluta.

Su sensibilidad ha aumentado mucho después de la introducción de modificaciones, entre las cuales la retirada del plasma y por consiguiente de los anticuerpos presentes, parece ser la más importante. Otro detalle importante ha sido la observación de los cultivos por períodos largos de tiempo (hasta 120 días), antes de concluir por su negatividad.

## 2.2. Los resultados obtenidos antes del tratamiento

Es importante, aunque no imprescindible, tener idea del perfil parasitológico previo del paciente a ser tratado (Castilho et al., 1992). Aparte de la confirmación diagnóstica, hay acuerdo entre la mayoría de los investigadores, que la presencia del parásito es perjudicial para el infectado, por lo que, indirectamente, apoya la idea de efectuar el tratamiento en ese paciente en particular.

## 2.3. Resultados obtenidos después del tratamiento específico

Debido a la baja parasitemia habitual en la historia natural de la enfermedad de Chagas en su fase crónica, la existencia de xenodiagnósticos y/o hemocultivos repetidamente negativos, no tiene valor absoluto, en el sentido de eficacia terapéutica. En cambio, el valor de un único examen parasitológico positivo después de finalizado el tratamiento, es absoluto, señalando que la droga ha sido ineficaz. Es tan importante la constatación de este resultado, que el seguimiento serológico no hace más sentido. El clínico deberá pensar en otra droga u otro esquema terapéutico.

Por otra parte la eficacia terapéutica puede estar relacionada a la droga utilizada. Por ejemplo, en estudio realizado por nosotros con Alopurinol (Rassi et al., 1996), en donde uno de los criterios de entrada al tratamiento era, entre otros, la positividad del examen parasitológico, conseguimos detectar xenodiagnóstico positivo en 39/222 pacientes en un período de dos años. Una vez efectuado el tratamiento con la droga en estudio, demostramos la persistencia de la positividad de este examen, en 94% de los pacientes que habían recibido la droga, así como en 91% de los pacientes que recibieron placebo, demostrando así la total ineficacia de esta droga como tripanocida en la enfermedad de Chagas en la fase crónica.

## 2.4. Conclusiones de los exámenes parasitológicos en el tratamiento específico de la enfermedad de Chagas

Concluimos que los exámenes parasitológicos deberían ser realizados como rutina antes y después del tratamiento específico, si hay disponibilidad de material y técnicos. Puede ser empleada cualquier una (o ambas) técnicas, pues con ambas se obtienen resultados similares. Para el xenodiagnóstico se recomienda hacer dos exámenes con 40 triatomíneos cada uno, separados por un mes, con lecturas a los 30 y a los 60 días. Estos exámenes permitirán obtener un perfil de la parasitemia del paciente, con lo que se facilita el seguimiento correspondiente.

## 3. Métodos serológicos convencionales

### 3.1. Técnicas existentes

Aunque la reacción de fijación de complemento (reacción de Guerreiro y Machado) ha sido utilizada desde poco tiempo después de la descripción de la enfermedad (1916), hoy en día existen técnicas de mayor simplicidad, por lo que su uso no es más recomendable, por lo menos en el Brasil (Luquetti et al. 1996). Hay tres técnicas serológicas que son las más recomendables, por varios motivos. Todas se encuentran disponibles en el mercado en forma de conjuntos diagnósticos (*kits*), son de ejecución relativamente simple, no precisan equipamiento especial y presentan especificidad y sensibilidad adecuadas. Son ellas la hemaglutinación indirecta (HAI), la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y la técnica inmunoenzimática de ELISA (Zicker et al., 1990). Existen otras técnicas que también pueden ser utilizadas, como la aglutinación directa con 2 mercaptoetanol (Luquetti, 1987, Luquetti & Castro, 1997). Todas ellas permiten hacer determinaciones cuantitativas, o sea, medir la cantidad de anticuerpos presente, necesidad básica en el control póst tratamiento (Rassi & Luquetti, 1992).

Si por un lado, podemos prescindir, cuando hay imposibilidad de su realización, de los exámenes parasitológicos, sería inexcusable someter a un paciente al tratamiento específico, sin tener un perfil muy claro de la concentración de anticuerpos presente. En primer lugar, como confirmación diagnóstica, del punto de vista ético, necesitamos confirmar la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi*, por lo menos por dos técnicas serológicas de principios diferentes, como recomendado por la Organización Mundial de la Salud (WHO, 1991). En segundo lugar, la concentración de anticuerpos presente antes del tratamiento, representa un marco inicial en la historia del paciente tratado. Toda medición posterior será relacionada a ese primer momento. Inclusive se recomienda guardar una alícuota de ese suero para comparaciones futuras (Fragata et al., 1997). La mejor manera de hacerlo es mezclando una parte de suero con una de glicerina (p.a.) y conservando la muestra en heladera o mejor, en congelador. Esto permitirá la comparación de la concentración de anticuerpos presente antes y después de la terapéutica instituida. En caso de no contar con un laboratorio confiable en el local del tratamiento, el suero podrá ser enviado a diferentes centros regionales, nacionales o de otro país, existiendo hoy en día una red internacional de laboratorios de referencia para la ejecución de estos exámenes (ver lista de algunos en el final del artículo).

Otro concepto importante se refiere a la existencia de diferencias individuales, en relación al título de cada suero, en cada reacción serológica (Luquetti, 1990). Cada individuo infectado responde al espectro de antígenos existente en el parásito, en forma diferente, tanto en relación con la afinidad

de cada anticuerpo, como con un número diferente de anticuerpos (Reyes et al., 1993). La manera en que cada chagásico responde al parásito que lo infecta, depende, en parte, del parásito en sí (Castro et al., 1997), en parte de su constitución genética. Ambas variables determinan la existencia de gran número de anticuerpos que reaccionan en forma diferente, para cada chagásico. Esto se ha demostrado en forma inequívoca, después de estudios de Western blot (Moriya et al., 1996), en donde el parásito ha sido descompuesto en gran número de bandas de proteínas, con las cuales cada paciente reacciona en forma diferente. Otros estudios con antígenos recombinantes demuestran que el suero de cada chagásico tiene un espectro de reactividad diferente. Eso ha llevado, indirectamente, al uso de varios recombinantes juntos, pues con la utilización de un único, parte de los sueros de los pacientes no reaccionan, y serían rotulados, equivocadamente, de no chagásicos.

Otro concepto fundamental en terapéutica en enfermedad de Chagas se relaciona al binomio parásito-anticuerpos. Es evidente que es el parásito que determina la síntesis de anticuerpos anti-*T. cruzi*, en concentraciones, que pueden ser variables, de paciente para paciente. Lo que no sería tan evidente, pensando en la existencia de memoria inmunológica, contra un parásito extremadamente antigénico, es que esos anticuerpos podrían desaparecer, después de eliminar el parásito. La prueba de que eso en realidad sucede, se encuentra en aquellos pacientes tratados con suceso durante la fase aguda de la enfermedad. En esos casos, varios grupos de investigadores, en diferentes países, han encontrado que las reacciones serológicas se negativizan en períodos variables, en general después del año de finalizado el tratamiento (Leguizamón et al., 1997). Por tanto, tenemos la posibilidad de la desaparición de anticuerpos que antes se encontraban presentes, en los casos tratados durante la fase aguda, en donde los individuos han permanecido en contacto con el *T. cruzi*, por lo menos durante varias semanas. Este hallazgo es de gran importancia, pues, una vez demostrado el hecho en la fase aguda, buscaremos el mismo tipo de efecto en aquellos pacientes tratados durante la fase crónica. O sea: el objetivo de la investigación de la concentración de anticuerpos, seriada, en pacientes tratados durante la fase crónica, será buscar una tendencia a la desaparición de esos anticuerpos. Veremos posteriormente que ello es posible, mismo que tengamos que seguir a estos pacientes durante varios años, para obtener la deseada negativación total.

### 3.2. Los resultados obtenidos antes del tratamiento

El concepto a seguir, se refiere a la constancia de una determinada concentración de anticuerpos, en el mismo paciente, en el tiempo. Se ha llegado a especular que los pacientes podrían tener oscilación en la concentración de anticuerpos anti-*T. cruzi* (en ausencia de tratamiento). Este

hecho, si comprobado, dificultaría la interpretación de variaciones en los títulos, que podrían ser atribuidas, no al suceso del tratamiento, sino a variaciones temporales. Por el contrario, si se parte de la premisa de que el nivel de anticuerpos es constante, la observación de una disminución sostenida en el tiempo, sería indicativa de que alguna causa externa ha actuado, en nuestro caso, la tentativa de eliminar el parásito con la droga utilizada. Nosotros hemos querido certificar que el nivel de anticuerpos (la concentración) en nuestros pacientes, permanecía en un mismo título, mismo después de meses de observación. Para ello obtuvimos muestras de sangre mensuales al comienzo y cada dos meses después, de un grupo de 10 pacientes no tratados previamente. Se hicieron las 3 reacciones serológicas citadas más arriba, y se conservaron los sueros con glicerina para efectuar el análisis de todos los sueros del mismo paciente una vez finalizado el estudio. Los resultados han demostrado que la variación de títulos por cada técnica empleada, ha sido en  $\pm 1$  título, no habiendo tendencia para el aumento progresivo ni para la disminución. Estos resultados nos permiten decir que, en el plazo estudiado, no ha habido disminución espontánea de títulos. Por lo tanto, si en otros pacientes, ahora tratados, comienza a dibujarse una disminución progresiva, continua, persistente, de títulos, es evidente que se debe a la acción terapéutica, o sea, ha habido un efecto parasiticida. En general se exige, para poder hablar de disminución de títulos, que haya habido una disminución de por lo menos tres títulos, en relación al título inicial. Como es bien conocido, un título a más o a menos, depende mucho más de condiciones técnicas, que de una real diferencia en la concentración de anticuerpos. Así, si en determinado chagásico, el título de anticuerpos en HAI ha sido de 1/512, en el próximo suero pueden encontrarse valores de 1/256, sin que ello signifique ningún cambio en su concentración. Aún son permitidas diferencias de dos títulos, en alguna ocasión, por ejemplo, de 1/128. Pero, si ese mismo paciente es tratado y años después tenemos valores de 1/64, 1/16, 1/8, es evidente que ese no es el curso natural de la enfermedad, sino, la consecuencia de la acción tripanocida. En las Tablas 1 a 3, se encuentran los valores encontrados en 60 sueros pertenecientes a 60 pacientes no tratados, analizados por tres técnicas serológicas diferentes.

### 3.3. Resultados obtenidos después del tratamiento

Una vez seleccionado el paciente y obtenido su consentimiento informado, debemos proceder a la colecta de muestras de sangre, en forma sucesiva. Se recomienda guardar todas las muestras de suero, debidamente rotuladas, en glicerina, como ya aclarado más arriba. Es deseable tener una segunda muestra al finalizar el tratamiento, aprovechando la visita del paciente para registro de posibles efectos colaterales. Esta muestra sirve más como un control de la primera. No pretenderemos que exista ninguna

diferencia en los títulos de anticuerpos en un periodo tan breve. Pero, la comparación de los títulos obtenidos en la primera y en esta segunda, permite establecer una reactividad, propia para ese individuo, en cada una de las reacciones efectuadas.

Posteriormente, es deseable obtener una muestra de sangre cada 6 meses. En casos de residencia remota, esta colecta podrá ser anual. La experiencia de los investigadores ha demostrado, en varios países, que los niños tratados (antes de los 12 años) responden con una disminución de títulos que se observa mucho más rápidamente que los adultos. Esto está asociado posiblemente a una infección de pocos años de evolución, y por eso se ha denominado de "fase crónica reciente". Recientemente, en dos estudios patrocinados por la OMS, en Argentina y en Brasil (Andrade et al., 1996), en estado doble ciego, se ha demostrado que estas observaciones eran correctas, pues en ambos trabajos, tratando más de 50 niños en edad escolar en cada uno de los estudios, con Benznidazol, hubo una disminución significativa en los títulos de anticuerpos, cuando comparados al grupo de niños que recibió placebo.

En la fase crónica reciente, se observa una disminución de títulos a partir del 2o.-3o. año después del tratamiento.

En la fase crónica de larga evolución (tardía o remota) este viraje de títulos se puede observar en plazos mucho mayores, de hasta 10 o más años (Tabla 4).

Es importante señalar que, tanto en los pacientes tratados en la fase aguda, como en aquellos tratados en la fase crónica, sea reciente o no, hay una proporción de 30% a 40% de individuos resistentes al tratamiento (Andrade et al., 1992), en los cuales es posible observar exámenes parasitológicos positivos, y, por supuesto, el nivel de anticuerpos se mantiene, como si no hubiesen sido tratados (Rassi & Luquetti, 1992).

#### 4. Conclusiones

En resumen, el seguimiento serológico es de extrema importancia, y debe ser hecho con varias técnicas diferentes, comparando siempre con la concentración de anticuerpos inicial. Este seguimiento deberá hacerse por varios años. En el caso de persistencia de las reacciones positivas, mismo con exámenes parasitológicos negativos, debemos presumir que el tratamiento ha sido apenas supresivo, en seguimientos después de 5 a 10 años. Cuando existe una disminución progresiva de los títulos, verificada en muchas mediciones, en el curso del tiempo, hay posibilidad de que la medicación haya sido eficiente. El problema es controversial, pues, en investigaciones conducidas experimentalmente por Andrade y col.(1991) fué demostrada la persistencia de antígenos del parásito secuestrados en células presentadoras de antígenos (células dendríticas en el bazo de animales infectados y

tratados). Estos hallazgos permiten pensar que, antígenos secuestrados pueden permitir respuestas inmunes por muchos años, mismo que el parásito vivo no se encuentre más presente.

La observación continuada de casos con serología prácticamente negativa y aún negativación total, será muy importante, entre otras cosas, para confirmar la ausencia real del parásito, en caso de que vengan a contraer otra enfermedad que produzca inmunosupresión: si, a pesar de la inmunosupresión, no aparece el parásito, tendremos más una prueba de la real ausencia del *T. cruzi*, que en estas circunstancias afloraría para llevar a una reactivación.

Agradecimientos: los autores agradecen al Prof. Ionizete Garcia da Silva por la constante provisión de triatómicos en los últimos 10 años, y a las Biomédicas Rosangela Amaral de Oliveira y Suelene Brito do Nascimento Tavares, por la ejecución de las técnicas serológicas.

#### Referencias Bibliográficas

1. Affranchino, J.L.; Ibanez, C.F.; Luquetti, A.O.; Rassi, A.; Reyes, M.B.; Macina, R.A.; Aslund, L.; Pettersson, U. & Frasch, A.C.C. Identification of a *Trypanosoma cruzi* antigen that is shed during the acute phase of Chagas' disease. *Mol. Bioch. Parasitol.* 34:221-228, 1989.
2. Andrade A.L.S.S., Zicker F., Oliveira R.M., Silva, S.A., Luquetti A.O., Travassos L.R., Almeida I.C., Andrade S.S., Andrade J.G. & Martelli C.M.T. Randomized trial of efficacy of benznidazole in treatment of early *Trypanosoma cruzi* infection. *Lancet*, 348:1407-1413, 1996.
3. Andrade, S.G.; Rassi, A.; Magalhaes, J.B.; Ferrioli Filho, F. & Luquetti, A.O. Specific chemotherapy of Chagas' disease: a comparison between the response in patients and experimental animals inoculated with the same strains. *Trans. Royal Soc. Trop. Med. Hyg.* 86:624-626, 1992.
4. Andrade S.G., Freitas L.A., Peyrol S., Pimentel A.R., Sadigursky M. Experimental chemotherapy of *Trypanosoma cruzi* infection: persistence of parasite antigens and positive serology in parasitologically cured mice. *Bull. World Health Organ.*, 69: 191-197, 1991.
5. Ashall, F.; Yip-Chuck, D.A.M.; Luquetti, A.O. & Miles, M.A. Radiolabeled Total Parasite DNA Probe Specifically Detects *Trypanosoma cruzi* in Mammalian Blood. *J. Clin. Microbiol.*, 26:576-578, 1988.
6. Cançado, J.R. Tratamento etiológico. In: Clínica e Terapêutica da doença de Chagas. Uma abordagem prática para o clínico geral. Ed. J.C.P. Dias & J.R. Coura. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.
7. Castilho EAS, Moreira HF, Martins MVCL, Rocha FSA, Luquetti AO, Marsden PD e Castro C., Importancia da comprovação do *T. cruzi* em crianças chagásicas com finalidade de tratamento. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 25(Supl.):36, 1992.
8. Chiari E. Parasitological diagnosis. In: *Chagas' disease (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine.* Editores: Wendel, S.; Brener, Z.; Camargo, M.E. & Rassi, A. Editora ISBT, São Paulo, 1992. p.153-164.
9. Castro A.M., Araújo T.C.C., Ferreira K.S., Oliveira E.C., Rassi A., Luquetti A.O., Soares C.M.A. Detection of genetic polymorphism by RAPD between six stocks of *Trypanosoma cruzi* isolated from chagasic patients. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 92(Suppl. I):198, 1997.
10. Castro C.N. Estudo longitudinal da parasitemia na doença de Chagas e sua correlação com a evolução clínica. *Rev. Pat. Trop.*, 24: 323, 1995.

11. Ferreira M.S., Lopes E.R., Chapadeiro E., Dias J.C.P. & Luquetti A.O. Doença de Chagas. Parte IX, capítulo 93, pag.1175-1213. In: *Tratado de Infectologia*. Ed.R.Veronesi & R.Focaccia. Editora Atheneu, São Paulo, 1996.
12. Fragata Fo.A.A., Luquetti A.O., Prata A., Andrade A.L.S.S., Rassi A., Gontijo E.D., Umezawa E., Ferreira H.O., Silveira J.F., Cancado J.R., Coura J.R., Fernandes O., Andrade S.G., Macedo V., Amato Neto V., Oliveira Jr.W. & Brener Z. *Tratamento etiológico da doença de Chagas*. Ed. Fundação Nacional de Saúde, Brasília, 1997, 2a.edição. Manual, 32 p.
13. Frasch ACC, Affranchino JL, Ibanez CF, Reyes MB, Macina RA, Luquetti AO, Rassi A, Aslund L, Petterson U. Analysis of cloned *Trypanosoma cruzi* proteins that are antigenic during the acute and chronic phase of Chagas' disease. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 83(Suppl.1):345-346, 1988.
14. Jazin,E.E.; Luquetti,A.O.; Rassi,A. & Frasch,A.C.C. Shift of Excretory-Secretory Immunogens of *Trypanosoma cruzi* during Human Chagas'Disease. *Infect.Immunity*, 59:2189-2191, 1991.
15. Kaplan D., Brandaris S., Degrave W., Desouza L. Luquetti A.O., Lopes Bergami P., Arteman P., Levin M. A new recombinant reactive reagent for Chagas disease ELISA diagnosis. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 90(Suppl.1): 178, 1995.
16. Leguizamón M.S., Russomando G., Luquetti A.O., Rassi A., Almiron M., Gonzalez-Cappa S.M., Frasch A.C.C. & Campetella O. Long-lasting antibodies detected by a trans-Sialidase inhibition assay of sera from parasite-free, serologically cured chagasic patients. *J.Inf.Dis.*, 175:1272-1275, 1997.
17. Luquetti A.O.; Miles,M.A.; Rassi,A.; de Rezende,J.M.; de Souza,A.A.; Povia M.M. & Rodrigues,I. *Trypanosoma cruzi*: zymodemes associated with acute and chronic Chagas' disease in central Brazil. *Trans.Roy. Soc.Trop. Med. Hyg.*, 80:462-470, 1986.
18. Luquetti,A.O. Megaesófago e anticorpos anti-*Trypanosoma cruzi*. *Rev.Goiânia Med.*, 33:1-16, 1987.
19. Luquetti,A.O. Use of *Trypanosoma cruzi* defined proteins for diagnosis-multicentre trial: serological and technical aspects. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85:497-505, 1990.
20. Luquetti A.O. New advances in diagnosis: recombinant antigens and synthetic peptides. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 88(Supl.): 61-62, 1993.
21. Luquetti A.O., Gonçalves A.V., Carneiro L.B., Santos J.F., Medeiros L.B., Gomes D.V.A., Machado M.N., Campos D.E. & Rassi A. Tentativa de correlação do xenodiagnóstico com o nível de parasitemia na fase crônica da doença de Chagas. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 27(Supl.II):93, 1994
22. Luquetti A.O., Alquezar A.S., Moreira E.F., Zapata M.T.G., Guimarães M.C., Gadelha F., Pereira J.B., Arruda A.H.S. & Nasser L.F. Recomendações e conclusões da II Reunião do Comitê Técnico Assessor para o diagnóstico laboratorial da doença de Chagas, São Paulo, SP, 19-21/03/96. *Rev.Inst.Med. trop. São Paulo*, 38:328, 1996.
23. Luquetti A.O. & Castro A.M. Capítulo 6. Diagnóstico sorológico da doença de Chagas. Pag.99-113. In: *Clínica e Terapêutica da doença de Chagas*. Uma abordagem prática para o clínico geral. Ed.J.C.P.Dias & J.R.Coura. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 1997.
24. Luquetti A.O. Etiological treatment for Chagas disease. *Parasit. Today*, 13:127-128, 1997.
25. Luz Z.M.P., Coutinho M.C., Cançado J.R., Krettli A.U. Hemocultura: técnica sensível na detecção do *Trypanosoma cruzi* em pacientes chagásicos na fase crônica da doença de Chagas. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.* 27:143-148, 1994.
26. Mendes R.P., Hoshino-Shimizu S., Silva A.M.M., Mota I., Heredia R.A.G., Luquetti A.O. & Leser P.G. Serological diagnosis of Chagas' disease: a potential confirmatory assay using preserved protein antigens of *Trypanosoma cruzi*. *J.Clin.Microbiol.*, 35:1829-1834, 1997.
27. Moncayo,A. & Luquetti A.O. Multicentre double blind study for evaluation of *Trypanosoma cruzi* defined antigens as diagnostic reagents (+). *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 85:489-495, 1990.
28. Moriya N., Rocha I.M., Rodrigues A.M., Oliveira E.C., Miranda J.A., Luquetti A.O. & Stefani M.M.A. Western blotting for the detection of *T. cruzi* antigens recognized by IgG antibodies of chagasic patients with different clinical forms. *Mem.Inst.Oswaldo Cruz*, 91(suppl.): 259, 1996.
29. Rassi A, Lustosa ES, Carvalho MESD, Nascimento MD, Ferrioli Filho F & Luquetti AO. Sensibilidade do xenodiagnóstico em pacientes na fase crônica da doença de Chagas. Resultados preliminares. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.* 24(Supl.1):36-37, 1991.
30. Rassi,A. & Luquetti,A.O. Therapy of Chagas' disease. In: *Chagas' disease* (American Trypanosomiasis): Its impact on transfusion and clinical medicine. Editores: Wendel, S.; Brener,Z.; Camargo, M.E.; Rassi,A. Editora ISBT, São Paulo 11:237-247, 1992.
31. Rassi A., Luquetti A.O., Rassi A.Jr., Rassi G.G., Silva I.G., Naves H.A.M. & Carvalho E.S.D. Tentativa de tratamento da infecção chagásica crônica humana com alopurinol. Apresentado no LII Congresso da Sociedade Brasileira de Cardiologia, Salvador, BA, 22 a 25 de setembro de 1996.
32. Rezende J.M. Exame. Método. Técnica. Procedimento. Prova. Teste. Reação. *Rev.Pat.Trop.*, 25:335-338, 1996.
33. Reyes,M.B.; Luquetti,A.O.; Rassi,A. & Frasch,A.C.C. Long lasting IgM and IgG reactivities against *Trypanosoma cruzi* antigens in human cases of Chagas' disease. *Anal. Asoc. Química Argentina*, 81:101-110, 1993.
34. Silva I.G., Silva H.H.G., Luquetti A.O. & Rezende J.M. Positividade do xenodiagnóstico de acordo com a faixa etária o sexo e a forma clínica da doença de Chagas. *Rev.Pat.Trop.*, 24:193-197, 1995.
35. Silva I.G.,Azevedo Y.B., Rassi A., Galvao A.C.R., Silva A.P.R. Correlação existente entre a quantidade de sangue usada no xenodiagnóstico artificial e sua positividade. *Rev.Soc.Bras.Med.Trop.*, 31 (Supl.1):240-241, 1998.
36. WHO Technical Report Series. Control of Chagas disease. Report of a WHO Expert Committee. World Health Organization, Geneva, 1991.
37. Wincker P., Britto C., Pereira J.B., Cardoso M.A., Oelemann W., Morel C.M. Use of a simplified polymerase chain reaction procedure to detect *Trypanosoma cruzi* in blood samples from chronic chagasic patients in rural endemic areas. *Am.J.Trop.Med.Hyg.*, 51: 771-777, 1994.
38. Zicker,F.; Smith,P.G.; Luquetti,A.O. & Oliveira,O.S. Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper. *Bull. World Health Org.*, 68:465-471, 1990.

Tabla 1. Resultados serológicos en dos pacientes no tratados, en 10 sueros obtenidos periódicamente, en el plazo de 18 meses

paciente identif	fecha	IFI	ELISA	HAI	fecha	IFI	ELISA	HAI	ident pac.
RAD	0896	1.280	4.7	1.024	0896	1.280	4.3	128	DMP
fem	0996	1.280	4.5	1.024	0996	1.280	3.9	64	masc
66a.	1096	1.280	4.4	1.024	1096	640	3.5	128	56a.
assoc (No1)									card (No8)
	1296	640	4.0	512	1296	1.280	3.6	64	
	0297	640	3.6	512	0197	1.280	3.5	64	
	0497	640	4.2	512	0397	2.560	3.7	64	
	0697	2.560	4.4	512	0597	1.280	3.8	256	
	0897	640	4.1	1.024	0797	2.560	3.9	128	
	1197	2.560	4.4	1.024	0997	5.120	4.1	128	
	0198	640	4.6	1.024	1197	2.560	4.4	128	
título medio variación		1.280	4.3	1.024		1.280	3.9	128	
		640	3.6	512		640	3.5	64	
		2.560	4.7	1.024		5.120	4.4	256	
observación suero de 0678 (18 años antes)		640	4.9	1.024					

Tabla 2. Resultados serológicos en dos pacientes no tratados, en 10 sueros obtenidos periódicamente, en el plazo de 17 meses

paciente identif	fecha	IFI	ELISA	HAI	fecha	IFI	ELISA	HAI	ident pac.
MMJ	0996	5.120	3.2	1.024	0996	1.280	3.5	32	FPS
fem	1096	1.280	3.2	1.024	1096	640	3.5	32	masc
39a	1196	2.560	2.5	256	1196	640	2.6	16	55a.
card (No7)									card (No5)
	0297	5.120	2.7	512	1296	320	2.5	8	
	0397	5.120	2.6	256	0297	640	2.0	8	
	0597	1.280	3.0	1.024	0497	640	2.2	8	
	0797	1.280	3.8	2.048	0697	640	2.3	32	
	0997	5.120	4.0	2.048	0897	1.280	2.3	16	
	1197	2.560	3.5	1.024	1197	640	3.2	64	
	0198	5.120	2.9	2.048	0198	1.280	3.0	128	
título medio variación		2.560	3.1	1.024		640	2.7	32	
		1.280	2.5	2.5		320	2.0	8	
		5.120	4.0	2.048		1.280	3.5	128	
observación suero de 0596 (4 meses antes)		2.560	3.6	1.024					

Tabla 3. Resultados serológicos en dos pacientes no tratados, en 10 sueros obtenidos periódicamente, en el plazo de 18 meses

paciente identif	fecha	IFI	ELISA	HAI	fecha	IFI	ELISA	HAI	ident pac.
MDBA	0996	2.560	2.9	512	0996	2.560	2.5	32	EJN.
fem	1096	2.560	2.9	1.024	1096	2.560	2.7	64	masc
74a.	0197	1.280	2.4	256	1196	1.280	2.4	64	55a.
assoc (No6)									card (No9)
	0297	2.560	2.7	512	1296	2.560	2.5	64	
	0397	2.560	2.7	1.024	0297	1.280	2.7	32	
	0697	2.560	2.9	512	0497	640	2.6	32	
	0897	1.280	2.9	512	0697	1.280	3.0	64	
	1197	640	3.4	1.024	0897	1.280	3.0	64	
	1297	1.280	3.6	512	1197	2.560	3.0	64	
	0198	640	3.5	1.024	0198	2.560	2.4	64	
título medio variación		1.280	3.0	512		1.280	2.7	64	
	Mn	640	2.4	256		640	2.4	32	
	Mx	2.560	3.6	1.024		2.560	3.0	64	
observación: suero de 0596 (5 meses antes)		2.560	3.4	512					

Tabla 4. Resultados de la serología en paciente crónica, tratada. Seguimiento de 15 años.

TRS	fecha	IFI	ELISA	HAI
1	0382	2.560	2.3	32 antes del tratamiento
2	0383	320	2.3	16
3	0885	640	1.6	8
4	0287	160	1.1	8
5	0888	160	1.3	4
6	0491	160	1.3	4
7	0591	160	1.1	4
8	0793	160	1.0	4
9	0597	80	1.1	4

Conclusión: Elisa persistentemente negativa después de los 5 a.

HAI idem

IFI estacionaria entre 80 y 160 (bajó 4 títulos)

*Lista de algunos Laboratorios de referencia en serologia para la Tripanosomiasis Americana.*

ARGENTINA

Buenos Aires: INDIECH, Av.Paseo Colón, 568, 1063 Buenos Aires.  
Responsable: Dra.Estela Cura

BRASIL

Belo Horizonte: Fundação Ezequiel Dias, Rua Conde Pereira Carneiro, 80, Belo Horizonte, MG, Responsable: Dra. Eliana Furtado Moreira

São Paulo: Instituto de Medicina Tropical, Av.Dr.Eneas de Carvalho Aguiar, 470, 05403-000 São Paulo, Responsable: Dra. Eufrosina Umezawa

Fundação Pró-sangue, Av.Dr. Eneas de Carvalho Aguiar, 155, 05403-000 São Paulo, Responsable: Dr. Amadeo Saez Alquezar

Goiânia: Laboratório de Pesquisa de Doença de Chagas, Hospital das Clínicas, Av. Universitária s/n, 74001-970 Goiânia, Responsable: Dr. Alejandro O. Luquetti

CHILE

Santiago: Departamento de Parasitologia, Facultad de Medicina, Universidad de Chile, Casilla 33052, Correo 33. Responsable: Dra. Myriam Lorca