

## 22 Purificación de dos proteínas de *Leishmania Viannia panamensis* y su utilización en el diagnóstico de casos de leishmaniosis cutánea de larga evolución y difícil diagnóstico parasitológico

Gisela García<sup>1</sup>, Sonia Agudelo<sup>2</sup>

### PALABRAS CLAVE

LEISHMANIA  
DIAGNÓSTICO  
PROTEÍNAS  
TRYPANOSOMA CRUZI

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La respuesta inmune humoral inducida por *Leishmania spp.*, se inicia desde la etapa temprana de la infección y se mantiene hasta cuando la mayoría de los parásitos son eliminados. Los isotipos, subclases y niveles de anticuerpos que evalúan esta respuesta dependen en gran medida de la forma clínica y el estado de evolución de la enfermedad. En casos de lesiones mucosas o cutáneas de larga evolución donde la posibilidad de encontrar parásitos es baja, toma gran importancia evaluar esta respuesta humoral. Sin embargo, las técnicas serológicas existentes para detectar anticuerpos antileishmania presentan baja sensibilidad y alta reacción cruzada con parásitos de *Trypanosoma cruzi*, surgiendo, como una alternativa para mejorar estas pruebas, el uso de antígenos proteicos purificados (1,2). Teniendo como base los resultados obtenidos por Agudelo y col (3), quienes demostraron que las fracciones proteicas de 36 y 50 kDa de *Leishmania Viannia panamensis* son altamente sensibles y 100% específicas de *Leishmania*, nos proponemos purificar estas proteínas a fin de utilizarlas para mejorar la sensibilidad y especificidad de pruebas serológicas que sean económicas y de ejecución práctica en zonas endémicas de leishmaniosis.

### METODOLOGÍA

Las proteínas serán separadas por su peso molecular utilizando el sistema Prep Cell® y posteriormente por su punto isoeléctrico mediante el sistema RotoFor®. Las fracciones purificadas y colectadas serán analizadas en SDS-PAGE y aquellas donde se observe la presencia de los polipéptidos de interés serán dializadas, liofilizadas, cuantificadas, y posteriormente corridas en SDS-PAGE y transferidas a una membrana de nitrocelulosa o fijadas en platos de ELISA donde se realizarán las pruebas serológicas.

### RESULTADOS ESPERADOS

Lograr purificar las proteínas de 36 y 50 kDa y utilizarlas como fuente de antígeno, logrando mejorar de forma importante la sensibilidad y especificidad de las pruebas serológicas, de tal manera que puedan ser implementadas como métodos diagnósticos, especialmente en los casos crónicos de leishmaniosis cutánea y mucosa donde sea difícil el diagnóstico por los métodos parasitológicos convencionales.

### BIBLIOGRAFÍA

1. FETHI T, AMEL EG, HECHMI L, et al. 1994. Identification of an immunodominant 32-kilodalton membrane protein of *Leishmania donovani infantum* promastigotes suitable for specific diagnosis of Mediterranean visceral leishmaniasis. *J Clin Microbiol* 1994; 2:474-2.480.
2. WHITE AC JR, MCMAHON-PRATT D. Purification and characterization of an 80 kilodalton membrane protein from *Leishmania donovani*. *Infect Immun* 1988; 56: 1.385-1.391.
3. AGUDELO S, VÉLEZ ID, PUERTA JA, PORTUS M. Diagnosis by Western Blot of cutaneous leishmaniasis caused by *L. (V) panamensis* and *L. (V) braziliensis* using *L. (V) panamensis* antigen. *Am J Trop Med Hyg* 2000; Submitted.

Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales –PECET, Universidad de Antioquia

<sup>1</sup> Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas

<sup>2</sup> Profesora, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia  
gisela012@yahoo.com

## 23 Caracterización inmunológica de cepas de *Leishmania (Viannia) panamensis* aisladas de zonas endémicas de Colombia

Marcela Ochoa<sup>1</sup>, Mónica Giraldo<sup>2</sup>

### PALABRAS CLAVE

LEISHMANIA VIANNIA PANAMENSIS  
MANIFESTACIONES CLÍNICAS  
RESPUESTA INMUNE  
RATONES BALB/C  
RATONES C57BL/6

### INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

El 95% de los casos de leishmaniosis en Colombia son causados por *L. (V) panamensis* (1); de ellos la mayoría corresponden a leishmaniosis cutánea; no obstante, esta especie también se asocia con cuadros de leishmaniosis mucosa y leishmaniosis difusa así como con recaídas (2). Si bien la diversidad de formas clínicas y la severidad de la leishmaniosis son el producto de la interacción entre el hospedero y el parásito en un contexto ecológico apropiado (3), es probable que existan diferencias en el parásito, aun entre cepas de la misma especie, que determinan el tipo de respuesta inmune establecida, lo cual condiciona la forma clínica de la enfermedad. Basados en este supuesto nos proponemos caracterizar la respuesta inmune inducida durante la infección murina experimental con diferentes cepas de *L. (V) panamensis* aisladas de pacientes con distintas formas clínicas de la leishmaniosis.

### METODOLOGÍA

Ratones BALB/c y C57BL/6 se infectarán en el cojinete plantar con una de 20 cepas de *L. (V) panamensis*, aisladas de pacientes con leishmaniosis cutánea localizada, leishmaniosis cutánea con más de 15 lesiones, leishmaniosis mucosa y recaídas. Se hará seguimiento durante 4 meses con evaluación semanal de la evolución de la infección, así como del tipo y tamaño de las lesiones. Además se evaluará la producción de anticuerpos específicos y se determinarán, en células esplénicas, la respuesta linfoproliferativa, la producción de óxido nítrico y el perfil de citoquinas inducido en respuesta a antígeno total del parásito. También se medirá la producción de citoquinas y de óxido nítrico en macrófagos de ratones BALB/c y C57BL/6 no infectados. Las determinaciones de anticuerpos y citoquinas se realizarán mediante ELISA disponible comercialmente y el óxido nítrico se medirá por la reacción de Griess.

### RESULTADOS ESPERADOS E IMPLICACIONES

Caracterizar las cepas de *L. (V) panamensis* que circulan en Colombia, en cuanto a la modulación de la respuesta inmune y sus implicaciones en la diversidad de manifestaciones clínicas producidas por esta especie, conocimiento que contribuirá al diseño racional de estrategias inmunoprolifáticas o quimioterapéuticas que eventualmente puedan aplicarse en el ámbito nacional en el contexto de los programas de salud pública.

### BIBLIOGRAFÍA

1. VÉLEZ ID, HENDRICKX E, ROMAN O, AGUDELO S. Gender and Leishmaniasis in Colombia: a redefinition of existing concepts. In: *World Health Organization, editor. Gender Tropical Disease*. Geneva. 1997; 17p.
2. VÉLEZ ID, AGUDELO S, ROBLEDO S, JARAMILLO L, SEGURA I, SOCCOL V, RESTREPO S. Diffuse cutaneous leishmaniasis with mucosal involvement in Colombia, caused by an enzymatic variant of *Leishmania panamensis*. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1994; 88: 199.
3. HANDMAN E. Cell biology of *Leishmania*. *Adv Parasitol* 2000; 44: 3-39.

<sup>1</sup> Estudiante de Maestría, Posgrado en Ciencias Básicas Biomédicas, Área Medicina Tropical;

<sup>2</sup> Profesora, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. Programa de Estudio y Control de Enfermedades Tropicales –PECET, Universidad de Antioquia.  
marogx@hotmail.com