

DETECCION DE TRYPANOSOMA CRUZI EN SANGRE MEDIANTE SPECKLE LASER DINAMICO

E.Alanis, M.Basombrio, R.Bojarski

Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.

N.Cap

Centro de Investigaciones Opticas, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, CC124, 1900 La Plata.

C.Matthews, M.Montero

Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.

H.Rabal

Centro de Investigaciones Opticas, Comisión de Investigaciones Científicas de la Provincia de Buenos Aires, CC124, 1900 La Plata.

G.Romero

Universidad Nacional de Salta, Buenos Aires 177, 4400 Salta.

Se trata de encontrar un método alternativo a la microscopía tradicional, que permita la detección del *trypanosoma cruzi*, agente de la enfermedad de Chagas, en sangre. Para ello se estudian las propiedades dinámicas de la luz dispersada por muestras de sangre de ratones de laboratorio infectadas con el parásito. Un detector se coloca en el campo de *speckle* de Fresnel de la muestra. El espectro de la señal es calculado mediante la Transformada Rápida de Fourier y luego promediado. Este espectro muestra los componentes de la luz dispersada que han sufrido desplazamientos Doppler debido al movimiento del parásito y de los glóbulos rojos circundantes. El mismo procedimiento se aplica a muestras de sangre no infectadas. Los promedios de los espectros correspondientes a un gran número de muestras de sangre sana e infectada, respectivamente, son divididos punto a punto entre sí. Se encuentra que los resultados permiten distinguir la sangre infectada de la normal cuando se aplican a muestras incógnitas.

INTRODUCCION

El objetivo del trabajo es encontrar un método alternativo "instantáneo", que permita determinar bajas concentraciones de parásitos en volúmenes relativamente grandes de sangre.

Uno de los problemas diagnósticos en la enfermedad de Chagas es la visualización del parásito etiológico, ya que si bien se trata de un organismo visible al microscopio y muy móvil, se presenta en concentraciones muy bajas (~100 organismos/ml o menor), lo cual impide generalmente la detección por microscopía óptica. Los métodos alternativos existentes requieren cultivos o incubación hasta tres meses.

Se procura obtener un método de detección en profundidad de campo, lo cual no es posible lograr con microscopio.

Si se ilumina una muestra de sangre con un haz laser, se observa que el campo de *speckle* producido por la luz dispersada, muestra variaciones temporales en su estructura. Estas variaciones contienen información sobre la existencia de movimientos aleatorios en los elementos constituyentes, que se manifiestan como desplazamientos Doppler

en la frecuencia de la luz.

El campo de *speckle* así producido se debe a la interferencia de múltiples ondas dispersadas con frecuencias ligeramente diferentes. La distribución de frecuencias presente en el diagrama de *speckle* puede ser estudiada a partir del espectro de Fourier de su intensidad. Como la presencia del parásito altera los movimientos de los glóbulos rojos, es de esperar que este hecho se manifieste en el espectro.

El método propuesto en este trabajo consiste en registrar la evolución temporal del campo de *speckle* de una muestra de sangre y comparar los espectros de Fourier correspondientes a muestras sanas e infectadas respectivamente.

DESCRIPCION DE LA EXPERIENCIA Y RESULTADOS

La figura 1 describe el dispositivo experimental.

La señal del detector es enviada a un conversor analogodigital y almacenada en una computadora a un ritmo de 400 Hz.

El espectro de Fourier es calculado usando el

algoritmo de transformada rápida.

fue luego corroborado por el laboratorio de patología.

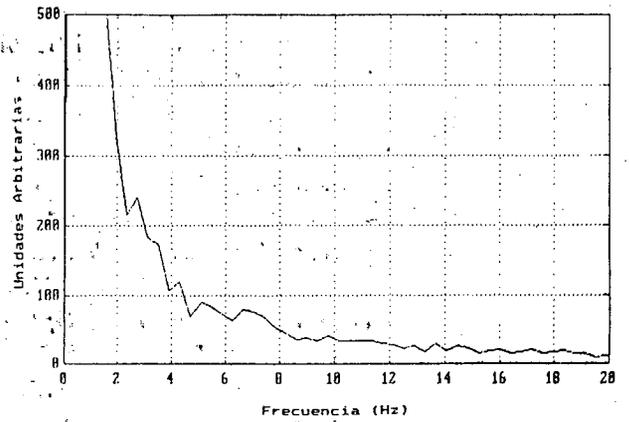
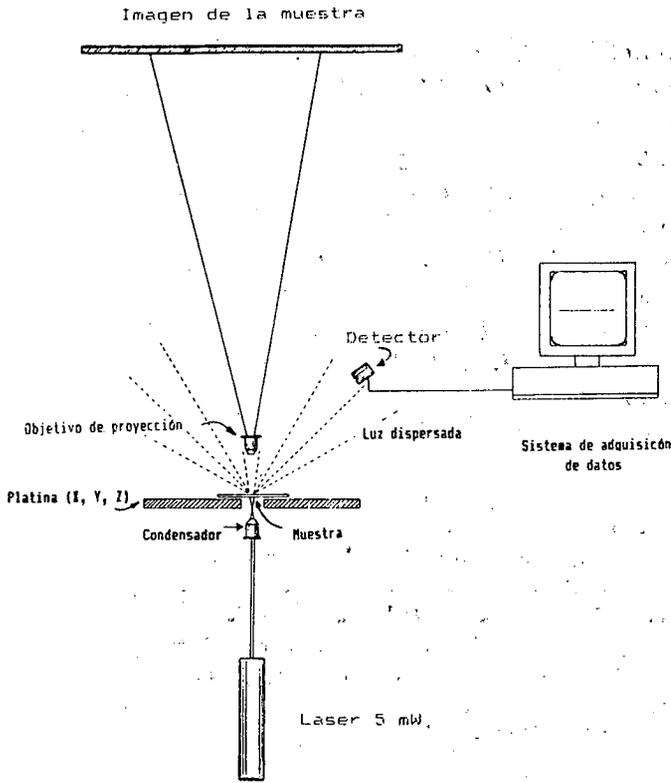


Figura 2a: Potencia espectral de sangre sana (SS)

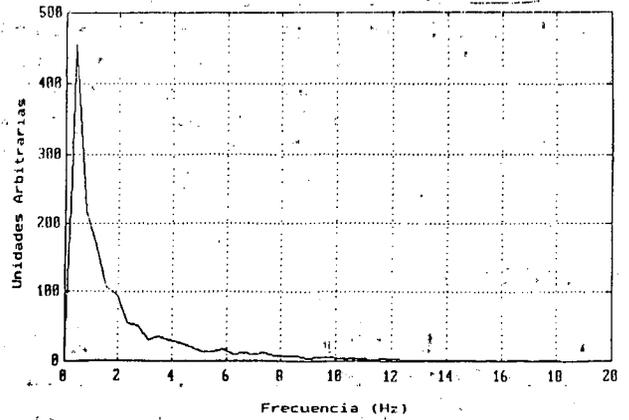


Figura 2b: Potencia espectral de sangre infectada (SI)

Figura 1: Dispositivo experimental.

La figura 2 muestra el promedio del módulo al cuadrado de la transformada de Fourier (potencia espectral) de 50 archivos obtenidos usando muestras de sangre de ratones de laboratorio sanos (fig.2a) e infectados (fig.2b) respectivamente. Se encuentra que el espectro de la sangre infectada muestra una intensidad notablemente menor en las bajas frecuencias (hasta aprox. 20 Hz).

El cociente de ambos se muestra en la figura 3. Este resultado es altamente significativo y permite detectar la presencia de parásitos, al menos en las concentraciones utilizadas hasta ahora.

Con el fin de realizar un ensayo de diagnóstico, el laboratorio de patología envió dos muestras M1 y M2 con la indicación que una de ellas estaba infectada y la otra no, sin especificar cual. Las muestras fueron procesadas según el método descrito anteriormente. Se procesó la señal correspondiente a diez preparados de cada una de las muestras, obteniéndose el promedio de la potencia espectral de ambas; en la figura 4 se muestra el cociente M_1/M_2 cuyo valor permitió decidir que la muestra M2 contenía *Trypanosoma Cruzi*, lo que

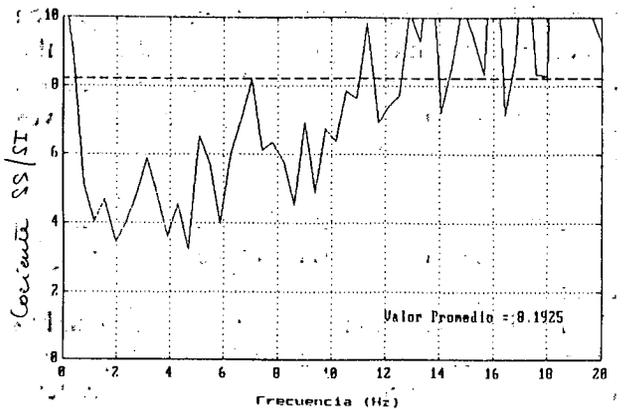


Figura 3: Cociente entre las potencias espectrales de Sangre Sana y Sangre Infectada.

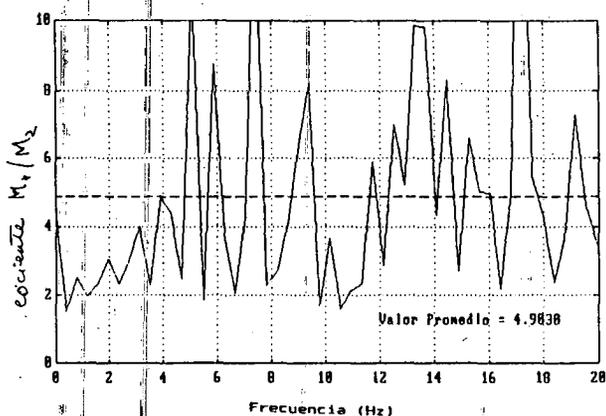


Figura 4: Cociente entre las potencias espectrales de las muestras incógnitas M_1 y M_2 .

Se continuará esta línea de investigación, procurando aumentar la sensibilidad del método para aplicarlo a muestras de sangre de mayor volumen y menor concentración de parásitos, de manera que resulte competitivo con la microscopía óptica.

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto de Investigación y Desarrollo 3 - 071700 (CONICET), la Facultad de Ciencias Exactas y el Consejo de Investigaciones de la UNIVERSIDAD NACIONAL DE SALTA.

AGRADECIMIENTOS

Al INENCO (Universidad Nacional de Salta - CONICET) por facilitar el sistema de adquisición de datos y las computadoras para su procesamiento.