

Disponibilidad de pruebas de diagnóstico para la enfermedad de Chagas en España

Carmen Cañavate, María Flores, Teresa Gárate

Servicio de Parasitología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III

Correspondencia:

Teresa Gárate

Parasitología. Centro Nacional de Microbiología. Instituto de Salud Carlos III

Crtra. Majadahonda-Pozuelo, Km 2.2. 28220 Majadahonda. Madrid

E-mail: tgarate@isciii.es

Resumen

La enfermedad de Chagas, protozosis producida por *Trypanosoma cruzi*, presenta una distribución geográfica restringida al continente americano. Fenómenos migratorios han determinado que la enfermedad y el parásito se dispersen a otras áreas, incluido nuestro medio. Esta situación exige que nuestro Sistema Sanitario esté preparado para hacer frente a la nueva patología a través de un mejor conocimiento de la clínica de la enfermedad y un soporte diagnóstico adecuado. En la presente revisión se citarán las herramientas diagnósticas con las que se cuentan en los laboratorios y en el mercado del estado español.

Palabras clave: Diagnóstico. *T. cruzi*.

Summary

Chagas' disease, a protozosis caused by *Trypanosoma cruzi*, presents a geographic distribution limited to the American continent.

Migratory movements have spread both disease and parasite, even in our country.

This situation needs qualified health professionals to face the impact of this imported disease through improvement in clinical and diagnostic knowledge.

In this article we expose the present situation of diagnostic tools for Chagas' disease in our country.

Key words: Diagnosis. *T. cruzi*.

La tripanosomiasis americana o enfermedad de Chagas está producida por *Trypanosoma cruzi*, protozoo hemoflagelado altamente pleomórfico. Este Orden incluye otros parásitos próximos, como son las especies de *Leishmania*, que en algunos casos se solapan geográficamente con *T. cruzi*, y de las que es importante realizar un diagnóstico diferencial y no olvidar la proximidad antigénica que muestran, con alto grado de antígenos compartidos, causa de reacciones cruzadas.

T. cruzi aparece distribuida desde el sur de Estados Unidos hasta la Patagonia en Argentina, con una extensión paralela a la que muestran los reducidos encargados de su transmisión. Además de la transmisión vectorial, el parásito puede llegar al hombre por otras vías, como la transfusión de sangre, trasplante de órganos, transmisión congénita, vía oral y accidentes de laboratorio¹.

Clínicamente, es una enfermedad compleja en la que se distinguen tres fases: aguda, indeterminada o latente y crónica, esta última con las manifestaciones típicas cardíacas, digestivas y alteraciones del sistema nervioso periférico¹. También hay otras formas como la congénita y las que se desarrollan en individuos inmunocomprometidos. De este abanico de fases y formas, a través de los emigrantes de las áreas endémicas nos llega principalmente la fase indeterminada. Aunque también, en ocasiones, los niños adoptados aportan los estadios agudos y, a veces, se atienden formas congénitas y enfermos crónicos terminales que requieren un trasplante. En definitiva, en la actualidad el sistema de salud tiene que hacer frente a todas las formas de la protozosis.

Para el diagnóstico de laboratorio de esta compleja enfermedad, se emplean 3 grandes grupos de método. Su utilidad varía según la fase a identificar. Los métodos son:

Métodos parasitológicos^{1,2}

Permiten el aislamiento, la visualización y la identificación morfológica del parásito. Son de dos tipos:

- Directos en sangre:
 - Observación directa de sangre fresca-movilidad eritrocitaria determinada por el parásito.
 - Extensiones teñidas de sangre-frotis, gota gruesa.
 - Métodos de concentración (Strout, microhematocrito), seguidos o no de tinción.
Los métodos parasitológicos hemáticos presentan baja sensibilidad en las formas indeterminada y crónica de la enfermedad, problemas de discriminación morfológica con especies próximas (*T. rangeli*), y no detectan parásitos presentes en otros tejidos.
- Indirectos o de amplificación:
 - Xenodiagnóstico (directo o indirecto).
 - Hemocultivo.
 - Inoculación a ratones susceptibles, según la cepa de ratón empleada.

En relación con el xenodiagnóstico se necesitan instalaciones especiales sólo disponibles en pocos laboratorios de entomología médica. Además, como ocurre en las otras técnicas, se precisa de varias semanas para la emisión de los resultados, y hay que considerar que la sensibilidad de la

técnica está alrededor del 50%, consecuencia del distinto crecimiento de los parásitos según la especie de redúvido empleado.

Métodos moleculares

Consiguen la detección parasitaria a través de la amplificación específica del ADN del protozoo mediante el empleo de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Los amplicones obtenidos después son observados en geles o en otros soportes. Emplean dos abordajes:

- Amplificación de la región variable del ADN del minicírculo del Kinetoplasto^{3,4}.
- Amplificación de secuencias repetidas de ADN genómico: ADN satélite⁵, región telomérica⁶, etc.

Este tipo de metodología presenta problemas de falsos negativos, falsos positivos, o inhibición de la amplificación por motivos varios, que siempre se deben considerar.

También en este grupo de métodos queremos comentar el interés de las herramientas desarrolladas para la distinción de los dos grandes linajes reconocidos en el complejo *T. cruzi*, Tc1 y Tc2, con diferencias en la patología y virulencia que ocasionan en los individuos infectados. Se emplean:

- Amplificación del ADN del mini-exón⁷, del ADNr 24S α ⁸.
- Amplificación del gen de la transilidasa seguida de digestión enzimática⁹.
- Amplificación seguida de hibridación con sondas específicas¹⁰.

Métodos inmunológicos^{1,2}

Estos métodos se basan en la búsqueda de anticuerpos específicos IgM e IgG desarrollados por el individuo contra antígenos de *T. cruzi*. Existen 3 grandes tipos de técnicas:

- Aglutinación directa o indirecta, utilizando soporte como latex, hematías u otros.
- Inmunofluorescencia indirecta.
- ELISA.

También se utiliza el “western-blot”, aunque su manejo e interpretación a veces requiere la participación de personal más especializado. Como antígenos se pueden emplear:

- Antígenos convencionales, en mezclas complejas o parásito entero.
- Antígenos no convencionales, proteínas recombinantes, péptidos sintéticos, utilizados en mezclas de 2 o más componentes.

Los ensayos inmunológicos presentan, en general, problemas de especificidad, debido a reacciones cruzadas con antígenos compartidos con otros kinetoplastidos. Aunque nuestro medio es hipoendémico para la leishmaniasis visceral, las infecciones por *L. infantum* son la principal fuente de problemas de especificidad^{1,2,11}.

Las técnicas de diagnóstico menos complicadas se realizan en muchos laboratorios de Microbiología y Parasitología, y todo el abanico de métodos indicados se desarrollan en Centros que cuentan con un buen animalario e insectario para el mantenimiento de los parásitos y redúvidos, respectivamente. Pero además, en la actualidad existen en el mercado español una serie de “kits” de diagnóstico serológico, con buena sensibilidad y especificidad más reducida, que permiten en la mayoría de los casos la identificación de la enfermedad en el individuo sospechoso (Tabla 1).

Tabla 1. “Kits” de diagnóstico serológico disponibles en el mercado español

Casa comercial	Nombre del “kit”*
BIOS kits	Biognost IFA; Biolisa ELISA.
MARDX Diagnostics	IFI <i>T. cruzi</i> (CHAGAS).
CELLABS kit	<i>T. cruzi</i> IgG CELISA.
BLK kits	Bio-Chagas HI, <i>Trypanosoma cruzi</i> (Chagas) IgG-ELISA
DiaMed-ID PaGia	ID-PaGIA Chagas, ensayo de anticuerpos con 3 péptidos sintéticos (Ag2, TcD, TcE) adsorbidos a partículas de gel coloreadas.
Biokit	BioELISA-Chagas, proteína química multiepitope (4), TcF.
Johnson&Johnson	<i>Ortho-T. cruzi-ELISA</i> Test System. Evaluado, a falta marca CE

*Solo se detalla el tipo de antígeno en caso de tratarse de un antígeno recombinante

Tabla 2. Diagnóstico de laboratorio de enfermedad de Chagas recomendado por la OMS¹

Objetivos	Métodos serológicos y moleculares				
	Convencionales		No convencionales		
	ELISA	IFI	HAI	Ags Recomb*	PCR
Demostración serológica (se recomienda 2 pruebas)	X	X	X	X	
Detección en bancos de sangre (se recomienda 1 prueba)	X				
Transmisión vertical y perinatal (se recomienda 2 pruebas)	X	X		X	X
Encuestas epidemiológicas (se recomienda 1 prueba)	X	X			
Seguimiento de tratamiento (se recomienda 2 pruebas)	X	X	X		X

*Ags Recomb: antígenos recombinantes

Actualmente en España, se cumple con las exigencias diagnósticas que indica la OMS¹ para la detección de la enfermedad en sus diferentes formas (aguda, latente, crónica) y en las distintas situaciones a considerar (donaciones de sangre, transmisión vertical, seguimiento de tratamientos) (Tabla 2). Hay que indicar también que la oferta actual de herramientas diagnósticas mejorará en un futuro próximo teniendo en cuenta que existen grupos de investigación básica en *T. cruzi*, con muchos años de experiencia, que están interesados en el tema. Por último, mencionar que además de todas las técnicas de laboratorio desarrolladas, consideramos que es fundamental el apoyo del clínico y la información epidemiológica para que en conjunto se emita un diagnóstico de Chagas certero y definitivo que beneficie en la mejoría del paciente.

Bibliografía

1. WHO. Control de la Enfermedad de Chagas. Ginebra: Comité de expertos, 2002.
2. Garcia LS. Trypanosomiasis. En: Diagnostic Medical Parasitology. 4ª ed. Washington, DC, USA. 2001.

3. Sturm NR, Degraeve W, Morel C, *et al.* Sensitive detection and schizodeme classification of *Trypanosoma cruzi* cells by amplification of kinetoplast minicircle DNA sequences: use in diagnosis of Chagas' disease. *Mol Biochem Parasitol* 1989;33(3):205-14.
4. Gomes ML, Macedo AM, Vago AR, *et al.* *Trypanosoma cruzi*: optimization of polymerase chain reaction for detection in human blood. *Exp Parasitol* 1998; 88(1):28-33.
5. Moser DR, Kirchhoff LV, Donelson JE. Detection of *Trypanosoma cruzi* by DNA amplification using the polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 1989;27(7):1477-82.
6. Chiurillo MA, Crisante G, Rojas A, *et al.* Detection of *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli* infection by duplex PCR assay based on telomeric sequences. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003;10(5):775-9.
7. Fernandes O, Sturm NR, Derre R, *et al.* The mini-exon gene: a genetic marker for zymodeme III of *Trypanosoma cruzi*. *Mol Biochem Parasitol* 1998;95(1):129-33.
8. Souto RP, Zingales B. Sensitive detection and strain classification of *Trypanosoma cruzi* by amplification of a ribosomal RNA sequence. *Mol Biochem Parasitol* 1993;62(1):45-52.
9. Risso MG, Garbarino GB, Mocetti E, *et al.* Differential expression of a virulence factor, the trans-sialidase, by the main *Trypanosoma cruzi* phylogenetic lineages. *J Infect Dis* 2004;189(12):2250-9.
10. Veas F, Cuny G, Breniere SF, *et al.* Subspecific kDNA probes for major clones of *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop* 1990;48(1):79-82.
11. Carlier Y, Luquetti AO. Chagas' disease (American Trypanosomiasis). *eMedicine Journal* 2003;4(2):1-11.