

Análisis de los resultados de laboratorio en pacientes con enfermedad de Chagas

Mireia Vergés¹, Paulo López¹, Rosa M. Maymó², María Pirón², Roser Fisa¹, Montserrat Gállego¹, Cristina Riera¹, Montserrat Portús¹

¹Laboratorio de Parasitología. Facultad de Farmacia. Universitat de Barcelona

²Banc de Sang i Teixits. Barcelona

Correspondencia:

Montserrat Portús

Laboratori de Parasitologia. Facultat de Farmàcia

Avda. Joan XXIII, s/n.

08028 Barcelona

Resumen

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas y la detección de portadores de *Trypanosoma cruzi* en bancos de sangre es en la actualidad una práctica frecuente en España. La comparación de dos kits diagnósticos presentes en el mercado español, con dos sistemas diferentes de lectura (hidrólisis enzimática y aglutinación) y antígenos recombinantes, y un ELISA propio con antígeno convencional, confirma la alta sensibilidad y especificidad de estas técnicas serológicas en el diagnóstico de la infección crónica por *T. cruzi*. Sin embargo, su bajo valor predictivo positivo ratifica la necesidad de emplear dos técnicas que utilicen preparados antígenos distintos para confirmar la positividad de las muestras reactivas. La técnica del Western Blot es especialmente útil en el diagnóstico de la infección congénita.

Palabras clave: Chagas. Serodiagnóstico. Antígenos recombinantes. Antígeno convencional.

Summary

The diagnosis of Chagas disease and the detection of *Trypanosoma cruzi* chronic infections in blood banks is now a current practice in Spain. The comparison of two diagnostic commercial kits present in the Spanish market, using recombinant antigens and different reading systems (enzymatic hydrolysis and agglutination of particles), and an in house conventional ELISA, confirms the high sensitivity and specificity of those serological techniques for the diagnosis of *T. cruzi* chronic infection. Despite this, the low positive predictive value of serological techniques reasserts the necessity of performing two tests using different antigenic preparations to confirm the positivity of reactive samples. The Western Blot technique is especially useful in the diagnosis of congenital infection.

Key words: Chagas. Serodiagnosis. Recombinant antigens. Conventional antigen.

El diagnóstico de la enfermedad de Chagas se ha convertido en una práctica frecuente en España, como consecuencia del elevado número de inmigrantes procedentes de América Central y del Sur que, en la actualidad, residen en este país.

La posibilidad de transmisión congénita o por transfusión sanguínea y trasplante de órganos incrementa la importancia que tiene en salud pública la detección de la enfermedad.

El diagnóstico de laboratorio de la infección por *Trypanosoma cruzi* puede realizarse a través de técnicas parasitológicas, serológicas y moleculares, cuya utilidad diagnóstica difiere según el contexto clínico o epidemiológico¹.

Las técnicas basadas en la detección del parásito (examen directo, cultivo) o su DNA (PCR) son especialmente útiles para detectar las infecciones agudas pero presentan baja sensibilidad en las crónicas, en las cuales la presencia del parásito en sangre es esporádica y aleatoria. Las técnicas serológicas son las más frecuentemente usadas para detectar la infección crónica, tanto en el diagnóstico clínico como en el cribado de portadores en bancos de sangre y estudios epidemiológicos. Existen para ello un gran número de tests o kits comerciales o de desarrollo propio en laboratorios que se dedican al estudio de la enfermedad (ELISAs, IFI, Inmuno-cromatografía, Aglutinación de partículas), que utilizan diversos preparados antigénicos (obtenidos a partir de epimastigotes o tripomastigotes en cultivo, sus productos de secreción-excreción o antígenos recombinantes).

La utilidad de cada uno de estos tests esta condicionada por el contexto en que se aplique (zona endémica o no endémica, centro de referencia o laboratorio polivalente, diagnóstico clínico o cribado epidemiológico) y la sensibilidad y especificidad, ambas ligadas a la técnica y antígeno utilizados.

- Los antígenos convencionales son de preparación relativamente fácil en un laboratorio especializado, lo que permite disponer de técnicas propias (fundamentalmente IFI y ELISA), con una notable reducción en los costes de análisis, en particular en aquellos casos en los que se realiza un elevado número de determinaciones. Sin embargo, la posibilidad de reacciones cruzadas, fundamentalmente entre diversas especies de tripanosomátidos es uno de sus principales inconvenientes.
- Los antígenos de secreción-excreción, obtenidos a partir de cultivos de tripomastigotes, aportan un mayor grado de sensibilidad y especificidad, frente al antígeno convencional, a las técnicas que los utilizan (ELISA, Western Blot). Sin embargo son de preparación más compleja².
- Los antígenos recombinantes y/o péptidos sintéticos son en la actualidad ampliamente usados, fundamentalmente en kits comerciales, al poder ser obtenidos en grandes cantidades, con un alto grado de pureza y calidad estandarizada. Son altamente específicos y su sensibilidad mejora al ser usados en mezclas antigénicas o antígenos quimera que incluyan diversos epitopos³.

Por ello se recomienda que para la detección de la enfermedad de Chagas en bancos de sangre y en encuestas epidemiológicas, se realice una única

prueba con una técnica serológica en la que prime la sensibilidad sobre la especificidad, confirmándose posteriormente las determinaciones que resulten positivas mediante una segunda técnica. La recomendación en caso de diagnóstico es la de realizar dos pruebas serológicas que utilicen antígenos distintos de forma simultánea⁴.

Se ha efectuado el análisis serológico de 275 muestras de sangre de inmigrantes procedentes de zona endémica atendidos en diversas consultas barcelonesas (Hospital Clínic i Provincial, Hospital de Sant Joan de Deu, Unitat de Medicina Tropical i Salut Internacional de Drassanes) mediante dos técnicas ELISA que utilizan antígenos distintos, BioELISA Chagas (BioKit SA, Lliçà d'Amunt, España), con antígenos recombinantes y un test ELISA de desarrollo propio, que utiliza un antígeno convencional obtenido a partir de un cultivo de *T. cruzi* en medio NNN (Tabla 1). Las dos técnicas proporcionaron resultados similares y las pocas discrepancias observadas lo fueron siempre a partir de valores próximos al umbral de positividad establecido para ambas técnicas. Las muestras discordantes fueron analizadas mediante una tercera técnica de aglutinación de partículas, también mediante antígenos recombinantes, ID-PaGIA Chagas (DiaMed AG, Suiza), que proporciona en todos los casos resultados similares al test BioELISA.

El cribado serológico de la enfermedad de Chagas en donantes de sangre, colaboradores del Banc de Sang i Teixits, se ha realizado mediante los dos kits diagnósticos comerciales anteriormente citados. Todas las muestras que fueron positivas por una o ambas técnicas, fueron analizadas mediante el ELISA propio con antígeno convencional (Tabla 2), que tan sólo confirmó la infección en aquellas que habían resultado previamente positivas por ambos kits comerciales. También en este caso las discrepancias lo fueron siempre a partir de resultados cuantitativos cerca del umbral de positividad (BioELISA) o lecturas dudosas (ID-PaGIA). La forma como se realiza la lectura de las reacciones serológicas (visual o colorimétrica) y como se determina el umbral de positividad juegan un importante papel en la reproducibilidad e interpretación de estos valores dudosos. Los resultados obtenidos mediante los dos kits comerciales son muy similares, lo cual es lógico si tenemos en cuenta que, a pesar de basarse en técnicas inmunológicas de visualización distinta (hidrólisis enzimática y aglutinación), emplean antígenos recombinantes similares. El ELISA convencional presenta una mayor capacidad para detectar anticuerpos residuales y permanece positivo un periodo de tiempo superior al de las técnicas que utilizan antígenos recombinantes, en la detección de anticuerpos de transmisión materna. A pesar de la elevada especificidad de todas las técnicas serológicas aplicadas, su uso en el cribado de portadores entre la población supuestamente sana, en la que la prevalencia de la infección es moderada, confiere a las determinaciones positivas un bajo valor predictivo. Por ello es conveniente confirmar todas las determinaciones positivas con una segunda técnica serológica que utilice un antígeno distinto y complementario al de la técnica de cribado.

La técnica del *Western Blot*, mediante la utilización de antígenos de *T. cruzi* o de *Leishmania infantum* permite comparar los patrones antigénicos reconocidos por sueros distintos y diferenciar los de transmisión pasiva materna de los de producción propia en niños nacidos de madres chagásicas, por lo que son especialmente útiles en la detección de la infección congénita.

Tabla 1. Comparación de los resultados obtenidos en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en sueros procedentes de pacientes atendidos en diversas consultas de Medicina Tropical en Barcelona, al emplear un ELISA comercial con antígenos recombinantes (BioELISA) y un ELISA propio con antígeno convencional (ELISAc). En caso de discordancia se realizó un test de aglutinación de partículas (ID-PaGIA)

BioELISA	ELISAc	Nº muestras	ID-PaGIA
pos	pos	126	
pos	neg	6	6 pos
neg	pos	2*	2 neg
neg	neg	141	

*Se trataba en ambos casos de sueros procedentes del seguimiento serológico de niños nacidos de madres chagásicas.

Tabla 2. Resultados obtenidos en el cribado de la enfermedad de Chagas en donantes de sangre mediante dos kits comerciales (ID-PaGIA y BioElisa) que utilizan antígenos recombinantes y confirmación de la positividad serológica mediante un ELISA propio con antígeno convencional (ELISAc)

ID-PaGIA	BioElisa	Nº muestras	ELISAc
pos	pos	6	6 pos
pos	neg	5	5 neg
neg	pos	7	7 neg
neg	neg	612	
S=1	S=1		
E=0,99	E=0,99		
Vp+=0,54	Vp+=0,46		
Vp-=1	Vp-=1		

S: sensibilidad de la técnica; E: especificidad, Vp+: valor predictivo positivo y Vp-: valor predictivo negativo

Bibliografía

- Gomes ML, Galvao LMC, Macedo AM, Pena SDJ, Chiari E. Chagas' disease diagnosis: comparative analysis of parasitologic, molecular, and serologic methods. *Am J Trop Med Hyg* 1999;60:205-10.
- Umezawa ES, Nascimento MS, Kesper N, et al. Immunoblot assay using excreted-secreted antigens of *Trypanosoma cruzi* in serodiagnosis of congenital, acute, and chronic Chagas' Disease. *J Clin Microbiol* 1996;34:2143-7.
- Silveira JF da, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends Parasitol* 2001;17:286-91.
- Gascón J. Diagnóstico y tratamiento de la enfermedad de Chagas importada. *Med Clin (Barc)* 2005;125:230-5.