

Título del trabajo: Evaluación de un equipo comercial de ELISA Ag Recombinante para la detección de Anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*

Autores: Guignard, S; Lucero, A; Moretto, H; Borletto, N; Ferrero, O; Giammarili, M; De León, J; Cudolá, A

Lugar: Laboratorio de Parasitología y Micología del Laboratorio Central de la Provincia de Córdoba

Dirección: Tránsito Cáceres de Allende 421, barrio Nva Córdoba. CP: 5000

Dirección Electrónica: suguignard@yahoo.com.ar, amlucero@hotmail.com

Teléfonos: Susana Guignard 0351-156340263, Ariel Lucero 0351-155448335

RESUMEN

La Enfermedad de Chagas es un problema de Salud Pública ampliamente distribuido en América Latina. El objetivo del presente trabajo es evaluar el desempeño de un reactivo comercial de ELISA. Se utilizó un panel constituido por 80 muestras de suero de pacientes, previamente clasificadas como positivas y negativas. Las muestras se procesaron con el reactivo a evaluar y se establecieron los parámetros Sensibilidad, Especificidad, Valor Predictivo Positivo (VPP), Valor Predictivo Negativo (VPN) y Valor Global de la Prueba (VGP). El análisis estadístico de los datos arrojó Sensibilidad de 100 % (98.75 – 100; IC 95%), Especificidad de 100 % (98.75 – 100; IC 95%). Los VPP y el VPN obtenidos fueron de 98.75 %. El VGP del reactivo fue de 100 %. Se concluye que el reactivo evaluado es apto para ser utilizado en la investigación de Ac anti *T cruzi* en muestras de pacientes.

Palabras Clave: Chagas, *Tripanosoma cruzi*, Elisa, Evaluación.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad Chagas Mazza o Tripanosomiasis Americana, es una infección parasitaria, endémica en América, producida por un protozooario flagelado denominado *Trypanosoma cruzi*, transmitida al humano y otros mamíferos por insectos triatomíneos infectados con tripanosomas, transfusión de sangre infectada, transplacentariamente, transplante de órganos, vía digestiva y otras. Los reservorios del parásito son mamíferos domésticos o silvestres (1, 2, 3, 4).

La Enfermedad de Chagas es uno de los problemas de Salud Pública de mayor distribución en América Latina, estimándose que en el continente Americano 10 millones de personas están infectadas por el parásito (5). La importancia de la enfermedad radica en los daños que ocasiona a nivel del sistema nervioso, cardiovascular y digestivo (6, 7, 8).

La enfermedad de Chagas presenta tres etapas clínicas: aguda, indeterminada y crónica.

En la etapa inicial o aguda de la infección se presentan parasitemias, las que van disminuyendo a medida que transcurre el tiempo, hasta hacerse mínimas o aleatorias. Por lo tanto, en la etapa aguda el diagnóstico de laboratorio debe centrarse en la búsqueda del parásito, mientras que en las etapas indeterminada y crónica el diagnóstico se realiza mediante la demostración de anticuerpos específicos anti *Trypanosoma cruzi* (9, 10).

En nuestro país, el diagnóstico serológico debe efectuarse por dos reacciones en paralelo, y en caso de discordancia se debe recurrir a una tercera prueba a fin de definir el resultado (11).

Para lograr un diagnóstico confiable, el laboratorio debe realizar una elección adecuada de los reactivos, antes de implementar su utilización en la rutina diagnóstica diaria (4, 12, 13).

El objetivo del presente trabajo es evaluar el desempeño del equipo Chagatek ELISA recombinante Laboratorio Lemos SRL, a fin de determinar su eficacia para ser utilizado como técnica de ELISA, para la detección de Anticuerpos Anti *T cruzi* en nuestros pacientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente trabajo se utilizó un panel constituido por 80 muestras de suero de pacientes, derivadas de distintos hospitales de capital e interior de la provincia de Córdoba, Argentina, para investigación de Ac anti *Trypanosoma cruzi*.

Las muestras habían sido procesadas por las siguientes metodologías: ELISA (Chagatek ELISA recombinante v.3.0 Wiener lab), HAI (Chagatest HAI Wiener lab) e IFI (Inmunofluor Chagas Biocientífica SA). De acuerdo a los resultados obtenidos, el panel de muestras quedó constituido de la siguiente manera:

Muestras positivas: 40 muestras, clasificadas según el criterio establecido por el Centro Nacional de Referencia, 2 reacciones reactivas de 3 reacciones efectuadas. (11)

Muestras negativas: 40 muestras, cuando al menos 2 reacciones en paralelo fueron no reactivas.

La totalidad de las muestras del panel se procesaron con el reactivo a evaluar, desarrollando el protocolo técnico, según las instrucciones del fabricante.

Paralelamente, se efectuaron 20 determinaciones de los sueros controles negativo y positivo del equipo comercial, a fin de calcular la Media (M), Desvío Standard (DS) y Coeficiente de Variación (CV) y la relación óptica/cut off (DO/CO) (14).

El cálculo de la sensibilidad, especificidad, Valor Predictivo Positivo (VPP), Valor Predictivo Negativo (VPN) y Valor Global de la Prueba (VGP), se realizó mediante el programa Epidat 3.1. (15, 16,17)

RESULTADOS

La totalidad de las muestras positivas del panel arrojaron resultado reactivo al ser procesadas con el equipo Chagatek ELISA recombinante (Laboratorio Lemos SRL) y las 40 muestras negativas resultaron no reactivas, no observándose resultados falsos negativos, ni falsos positivos.

El análisis estadístico de los datos mostró una Sensibilidad de 100 % (98.75 – 100; IC 95%), Especificidad de 100 % (98.75 – 100; IC 95%). Los VPP y el VPN obtenidos fueron de 98.75 %.

El VGP del reactivo anilizado fue de 100 %.

Los valores de Media (M), Desvío Standard (DS), Coeficiente de Variación (CV), y la relación óptica/cut off (DO/CO) obtenidos del procesamiento de los controles del equipo se muestran en la tabla 1.

DISCUSIÓN

A 100 años del descubrimiento de la Enfermedad de Chagas, el avance en el desarrollo de reactivos diagnósticos ha sido muy lento (18), si bien, en los últimos años ha aumentado la oferta de equipos comerciales para detección de Ac anti *T. cruzi*.

La implementación del uso de un reactivo en la rutina diagnóstica de un laboratorio, requiere la evaluación previa del mismo, a fin de establecer su desempeño y, por ende su aptitud para ser utilizado de manera segura y confiable (19, 20).

En el presente trabajo se evaluó el desempeño de un reactivo comercial de ELISA, para detección de Ac anti *Trypanosoma cruzi*, mediante el procesamiento de un panel de muestras previamente clasificadas como positivas y negativas. Los parámetros considerados fueron: Sensibilidad, Especificidad, Valor Global de la Prueba y Reproducibilidad.

La totalidad de las muestras del panel fueron correctamente identificadas por el reactivo a evaluar, arrojando un buen Valor Global de la Prueba, el cual constituye un índice adecuado para determinar la performance de un reactivo a utilizar.

Con respecto a la precisión del reactivo Chagatek ELISA recombinante, el Coeficiente de Variación (CV) en 20 determinaciones de cada uno de los controles del equipo (positivo y negativo) fueron, 12.85 % y 8.49 % respectivamente, los cuales indican un bajo índice de dispersión.

Los resultados obtenidos en el presente trabajo nos permiten concluir que el reactivo Chagatek ELISA recombinante (Laboratorio Lemos SRL), cumple satisfactoriamente los requisitos evaluados, y por lo tanto, es apto para la investigación de Ac anti *T. cruzi* en muestras de pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Dubner S, Schapachnik E, Perez Riera A, Valero E. *Chagas disease: State-of-the-art of diagnosis and management*. *Cardiol. J.* 2008; 15, (6): 493–504.
- 2) OPS. *Enfermedad de Chagas. Guía para vigilancia, prevención, control y manejo clínico de la enfermedad de Chagas aguda transmitida por alimentos*. Rio de Janeiro: PANAFTOSA-VP/OPAS/OMS, 2009.
- 3) Rojas de Arias, A. *Manejo de las vías alternativas de transmisión. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. OPS/CD/426-06. Buenos Aires, Fundación Mundo Sano; Julio 2007: 179 – 186.
- 4) OPS. *Taller del Cono Sur sobre Enfermedad de Chagas. Conceptualización de la vigilancia epidemiológica*. Buenos Aires, Argentina, Setiembre 2003 – Montevideo 2004 . OPS/DPC/CD/290/04.
- 5) OPS. *Chagas: one hundred years later*. *Bull World Health Organ* [online]. Ginebra, 2009; 87 (7): 491 - 492. ISSN 0042-9686.
- 6) Gutiérrez-Sotelo O, Molina-Solís S, Calvo-Fonseca N, Romero-Triana L, Esquivel-Alfaro L, Campos E.. *Enfermedad de Chagas en pacientes con miocardiopatía dilatada idiopática en Costa Rica*. *Acta Médica Costarricense*. 2007; 49 (2): 97 - 101.
- 7) Padgett-Moneada D, Ponce C, Félix Rivera M. *Enfermedad de Chagas Digestiva en Honduras. Reporte de casos*. *Revista Médica Homdureña* - 1993; 61: 139 - 141
- 8) Topico I: *Enfermedad de Chagas con parasitemia evidente*. *Revista Argentina de Cardiología*. 2002; 70 (1): 15 - 38.
- 9) Manzullo, E. *Chagas agudo vectorial. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. OPS/CD/426-06. Buenos Aires, Fundación Mundo Sano; Julio 2007: 57- 64.

- 10) Lazzari, J. *Enfermedad de Chagas en el adulto. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. OPS/CD/426-06. Buenos Aires, Fundación Mundo Sano, Julio 2007: 7 - 96.
- 11) *Normas para el diagnóstico de la Infección Chagásica*. Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud “Dr Carlos G Malbran”. Instituto Nacional de Parasitología “Dr Mario Fatala Chabén”. 2ª Ed. Buenos Aires; 1999.
- 12) Bellmunt-Montoya, S. *Validación de Pruebas Diagnósticas*. *Angiología* 2007; 59 (6): 433-438.
- 13) Illa C, D'Agostino L, Willie JC, Mazziotta D. *Evaluación externa de calidad para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas: 3 años de evolución*. *Acta bioquím. clín. latinoam*. [revista en la Internet]. 2005 Sep [citado 2010 Mayo 08] ; 39(3): 355-357. Disponible en: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0325-29572005000300011&lng=es>.
- 14) Delgado M, Lorca J, Doménech Jm. *Estudio para pruebas diagnósticas y factores pronósticos*. Barcelona: Signo; 2005.
- 15) Ruiz de Adana Pérez, R. *Eficacia de una prueba diagnóstica: parámetros utilizados en el estudio de un test*. www.jano.es. Mayo 2009.
- 16) Ávalos, O. *Las pruebas diagnósticas. Su aplicación en los estudios epidemiológicos*. *Nefrología*; 2000; XX (5): 403 - 407.
- 17) Organización Panamericana de Salud (OPS/OMS). Dirección Xeral de Saúde Pública – Consellería de Sanidade – Xunta de Galicia. Área de Análisis de Salud y Sistemas de Información Sanitaria – EPIDAT. *Programa para Análisis Epidemiológico de los datos tabulados versión 3.1*. Enero 2006.

- 18) Salvatella, R. *Una visión de la enfermedad de Chagas desde su propia historia. La enfermedad de Chagas a la puerta de los 100 años del conocimiento de una endemia americana ancestral*. OPS OPS/CD/426-06. Buenos Aires, Fundación Mundo Sano, Julio 2007: 19 – 22.
- 19) Gómez de la Cámara, A. *Caracterización de Pruebas Diagnósticas. Epidemiología Clínica y Bioestadística*. Madrid: IDEPSA 1999: 43 - 46.
- 20) Segura, E. *Mitos y realidades de la utilización de sangre segura para transfusiones*. Gac Méd Méx 2003;139, (3): 875 - 877.

ICONOGRAFÍA

Controles del Kit de Ensayo

Chagatek ELISA Recombinante

	Positivo (DO/CO)	Negativo (DO/CO)
Media	4.220	0.568

Tabla 1: estudio de reproductibilidad en los controles del kit de ensayo