

Valdi, Elba Mercedes

# Comparación de métodos inmunoserológicos en muestra de pacientes derivados de unidades sanitarias y HEC

2020

*Instituto: Ciencias de la Salud*

*Carrera: Bioquímica*



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Argentina.  
Atribución - No Comercial - Compartir Igual 4.0  
<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

Documento descargado de RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital de la Universidad Nacional Arturo Jauretche

*Cita recomendada:*

Valdi, E. M. (2020) Comparación de métodos inmunoserológicos en muestra de pacientes derivados de unidades sanitarias y HEC [tesis de grado Universidad Nacional Arturo Jauretche]

Disponible en RID - UNAJ Repositorio Institucional Digital UNAJ <https://biblioteca.unaj.edu.ar/rid-unaj-repositorio-institucional-digital-unaj>



***Comparación de métodos inmunoserológicos en muestras de pacientes derivados de unidades sanitarias y HEC.***

**Universidad:** Universidad Nacional Arturo Jauretche.

**Instituto:** Ciencias de la Salud.

**Carrera:** Bioquímica.

**Estudiante:** Valdi, E. Mercedes.

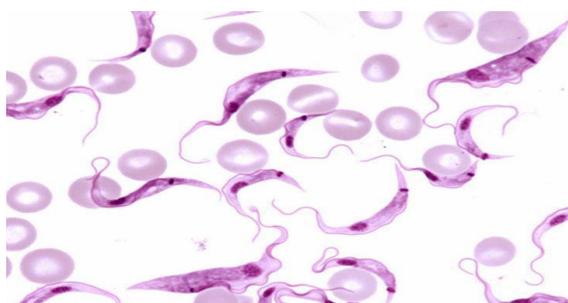
**Directora:** Villagra, Andrea Patricia Magdalena.

**Mail:** valdimercedes@hotmail.com

**Legajo:** 18347.

**Lugar de Trabajo:** Hospital Alta Complejidad en Red El Cruce.

**Fecha de entrega:** 6 de Marzo de 2020.





## Índice

● Agradecimientos.....	3
● Abreviaturas .....	4
● Resumen .....	5
● Introducción e importancia del tema	
1. Epidemiología.....	6
2. Características del parásito <i>T. Cruzy</i> .....	9
3. Ciclo de vida y transmisión.....	10
4. Fases de la enfermedad.....	12
5. Reacción inmunitaria.....	13
6. Chagas Agudo	
Signos y Síntomas.....	14
Diagnóstico.....	15
7. Chagas Crónico	
Signos y síntomas.....	16
Diagnóstico.....	17
Embarazo y Trasplante.....	18
● Objetivos.....	20
● Materiales y Métodos .....	21
● Resultados.....	32
● Discusión.....	41
● Conclusión.....	43
● Referencias bibliográficas.....	45

## **Agradecimientos**

Quiero agradecer a todas las personas que fueron parte e hicieron que esto resulte posible, a quienes directa e indirectamente formaron parte en estos 6 años, y si bien esta etapa concluye con una formación académica, también una alegría enérgica de cumplir el objetivo.

En primera instancia debo agradecer a la UNAJ y todos sus integrantes. A mis formadores durante estos años, personas que gracias a sus conocimientos y sus ganas de compartirlos hicieron que llegué hasta este lugar en el que hoy me encuentro. Fueron y serán mi inspiración, y el ejemplo profesional que quiero replicar.

Doy infinitas gracias al Hospital Evita de Lanús, Alejandra Musto y todos los profesionales que trabajan en él, por brindarme la oportunidad de ser partícipe activa, capacitarme, enseñarme, brindarme apoyo y enriquecer mi formación a su par.

Al HEC y sus profesionales por permitir realizar mi trabajo ahí, recibirme y ayudarme. Principalmente a mi directora de Trabajo Final Andrea Villagra, por su gran ayuda, paciencia y colaboración en cada momento de consulta, por ser soporte, enseñarme, aconsejarme y guiarme para la realización de este trabajo. Trabajar con ella fue muy gratificante y profesional.

Agradezco a las personas que conocí durante el transcurso de la carrera, con los cual genere lazos de amistad y hoy considero que son mis amigos. Sol merece una mención especial, por ser la mejor amiga que puedo tener, con quien nos conocimos en nuestro primer año universitario y sin ella nada sería igual, siempre confiando en mí y apoyándome.

A mis amigos de la vida, por hacerme reír cada vez que lo necesite y darme mi espacio sea cual sea nuestro lugar de reunión y tenía que estudiar. A los que me apoyaron durante esta última etapa, que aportaron su granito de arena, tanto con consejos como palabras motivacionales.

Para concluir, a mi papá que está en el cielo, a mi mamá que me cuida siempre, y brindó lo mejor que estuvo a su alcance y quien me transmitió sus valores. Confiando en que llegaría a la meta, apoyándome cuando estaba nerviosa y alentándome siempre.

Mathias, mi amor, mi gran compañero, mi pilar estos años, que desde el día cero me llevó de la mano, me apoyó, ayudó en todo, siempre ahí, firme, confiando en mi capacidad y dándome fuerza para poder lograrlo.

## Abreviaturas

**ACV:** Accidente cerebrovascular.

**CAPS:** Centros de atención primaria de la Salud.

**CMIA:** Inmunoensayo Quimioluminiscente de Micropartículas.

**ELISA:** Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay (Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas).

**FN:** Falso Negativo.

**FP:** Falso Positivo.

**HAI:** Hemaglutinación Indirecta.

**HEC:** Hospital Alta Complejidad en red El Cruce.

**IFI:** Inmunofluorescencia indirecta.

**LHR+:** Cociente de probabilidad para pruebas positivas.

**LHR-:** Cociente de probabilidad para pruebas negativas.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**SAMIUC:** Sociedad Andaluza de Medicina Intensiva y Unidades Coronarias.

**SIGEHOS:** Sistema de Gestión Hospitalaria.

**SNP:** Sistema Nervioso Periférico.

**TR:** Test rápido inmunocromatográfico.

**URL:** Unidades relativas de luz.

**VN:** Verdadero Negativo.

**VP:** Verdadero Positivo.

**VPN:** Valor predictivo negativo.

**VPP** valor predictivo positivo.

## Resumen

La enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, constituye un grave problema de salud en casi todo el continente americano. La forma de transmisión puede ser vectorial, transfusional, congénita, mediante trasplante, accidentes de laboratorio y a través de la ingesta. En nuestro país esta enfermedad es endémica pero hay diferentes niveles de riesgo de transmisión vertical dependiendo de la provincia. La infección producida por la vinchuca evoluciona en dos fases: aguda y crónica. La primera caracterizada por aspectos clínicos como chagoma de inoculación, complejo oftalmoganglionar, meningoencefalitis, fiebre y hepatoesplenomegalia.<sup>10</sup>

La fase crónica se caracteriza por arritmias e insuficiencia cardíaca, megavisceras, ACV y alteraciones del SNP; donde en el 70% de los casos es sin patología demostrable y un 30% con patología demostrable.<sup>10</sup> La mayoría de los pacientes no son diagnosticados en la fase aguda y como consecuencia de ello pasan a ser pacientes crónicos, por eso la importancia tanto del diagnóstico temprano como también de verificar la sensibilidad y especificidad de los métodos utilizados. Por lo anterior nombrado, el objetivo del presente trabajo fue la comparación de métodos inmunoserológicos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. En particular CMIA, inmunocromatografía, HAI e IFI, y así determinar la frecuencia de chagas reactivo, tanto de pacientes derivados de CAPS al Hospital de Alta complejidad en Red el Cruce-SAMIC, como de los que son ambulatorios e internados del hospital. Se procesó 1187 muestras por las técnicas de CMIA y TR. Las muestras discordantes fueron procesadas por un tercer método que en este caso fue HAI ya que por motivos de costos no se pudo realizar IFI como estaba estipulado. Con los datos recopilados se observó que del total de muestras, el 2,11% de ellas fueron reactivas. De este total, el 19,29% perteneció a Quilmes y 7,59% del HEC, donde el primero tuvo 1,31% de Chagas reactivos y el segundo 3,33%. Además, se encontró 1,09% de muestras que resultaron indeterminadas y 0,25% no concluyentes.

Finalmente, la sensibilidad y especificidad calculada del CMIA resultó mayor que la de la inmunocromatografía, con 97% respecto al 90%, mientras que la especificidad fue 100% para el primero y 99% para el segundo. Valores comparables con los declarados por el fabricante.

## Introducción e importancia del tema

### 1. Epidemiología:

La enfermedad de Chagas fue descubierta en 1909 por el Dr. Carlos Ribeiro Justiniano das Chagas (1879-1934) en Brasil. Carlos Chagas identificó el parásito que provoca la enfermedad, descubrió a los insectos que la transmiten y detalló síntomas que causa en los seres humanos como las alteraciones cardíacas y a nivel del sistema nervioso.

En nuestro país, dicha enfermedad fue estudiada a partir de 1926 por el Dr. Salvador Mazza (1886-1946) retomando las investigaciones de Carlos Chagas y así logró mostrar la gran importancia sanitaria y describir las formas clínicas de la nombrada <sup>1</sup>

La enfermedad de Chagas causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, constituye un grave problema de salud en casi todo el continente americano debido a las complicaciones en un alto porcentaje de las personas que la padecen, por las consecuencias sociales y laborales para los afectados y por el alto costo que representa para los servicios de salud el manejo de esta. <sup>2</sup>

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se calcula que a nivel mundial 10 millones de personas están infectadas y más 25 millones en riesgo de adquirir la enfermedad.<sup>3</sup>

En nuestro país la enfermedad de Chagas es endémica, pero hay diferentes niveles de riesgo de transmisión vectorial en las distintas provincias (Imagen 1)

- Provincias de alto riesgo: Chaco, Formosa, Santiago del Estero, La Rioja, Salta, Mendoza y San Juan.
- Provincias de mediano riesgo: Córdoba, Tucumán, San Luis, Catamarca, Santa Fe, Corrientes y Misiones.
- Provincias de bajo riesgo: Jujuy, Neuquén, Río Negro, La Pampa y Entre Ríos.
- Las provincias de Buenos Aires, Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego se consideran sin riesgo de transmisión a través de la vinchuca. Han sido certificados por la OMS como libres de transmisión domiciliar por vector. <sup>4</sup>

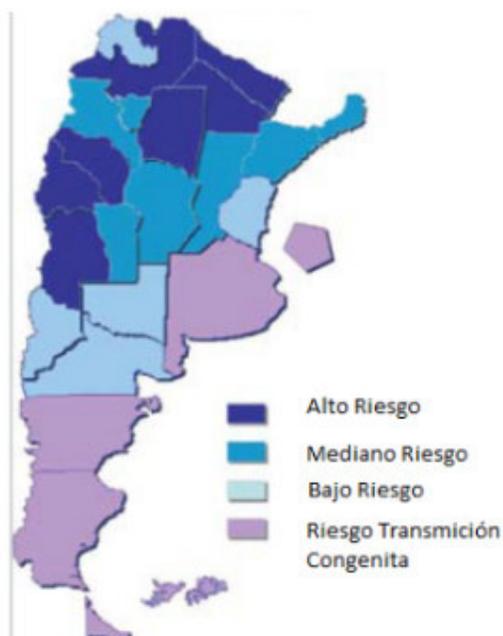


Imagen 1 Provincias según riesgo de trasmisión.

(Fuente: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf>)

Según un estudio de “Tendencia temporal y distribución espacial de la mortalidad por enfermedades tropicales desatendidas en Argentina entre 1991-2016” cuyo objetivo fue conocer la mortalidad por estas enfermedades, su tendencia temporal y las causas más frecuentes, respecto al tema que incumbe a este trabajo se llegó a la conclusión que la tendencia general de Chagas en el tiempo fue dada por dos periodos. Uno de ellos con un descenso significativo, el cual fue entre 1991-2008 y otro en el cual no se determinó un descenso marcado que fue entre el año 2008-2016.

Un dato importante es que en todas las provincias del país se produjeron defunciones por enfermedad de Chagas, fenómeno que no se observó en el resto de las enfermedades del trabajo y si bien los óbitos por la enfermedad son los únicos distribuidos en todas las jurisdicciones, las tasas de mortalidad fueron mayores en la región noroeste y noreste

(esto coincide con el mapa expuesto con anterioridad de áreas de alto y mediano riesgo), a semejanza de las otras enfermedades analizadas.

Sin embargo del total de provincias, 6 jurisdicciones del país han logrado la interrupción vectorial de la enfermedad y su distribución en todo el territorio nacional se explica por transmisión vertical y las corrientes migratorias internas.<sup>5</sup>

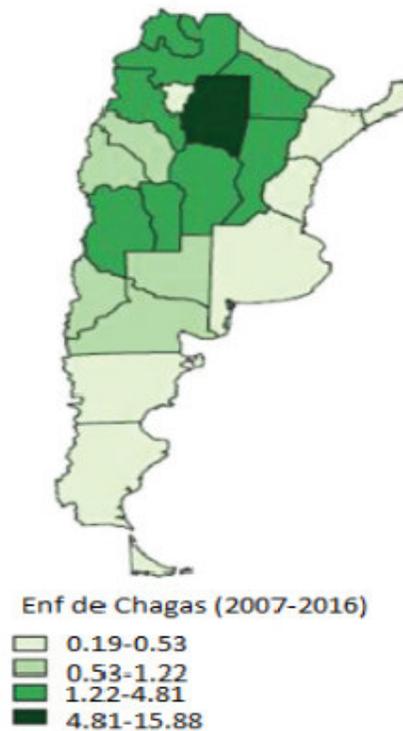


Imagen 2: Distribución de la tasa de mortalidad en el país por la enfermedad de chagas entre el año 2007-2016<sup>5</sup>

(Fuente: Macías G, Hernández H. Tendencia temporal y distribución espacial de la mortalidad por enfermedades tropicales desatendidas en Argentina entre 1991 y 2016. Rev Panam Salud Publica. 2019;43:e67. <https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.67>)

Las vías de transmisión no vectoriales son: a) de la madre infectada a su hijo durante el embarazo (transmisión vertical) b) transfusión de sangre de donante infectado c) trasplante de órganos (donante Infectado) d) ingesta de parásitos, principalmente por consumo de alimentos contaminados con heces del vector (aún no se han demostrado casos por esta vía en nuestro país) y e) accidente de laboratorio. También se debe tener presente el potencial riesgo de la práctica de compartir jeringas entre usuarios de drogas inyectables. <sup>6</sup>

## **2. Características del parásito *T. cruzi*:**

*Trypanosoma cruzi* es un parásito flagelado perteneciente a la familia de los tripanosomatídeos, incluida en el orden de los cinetoplástidos de la clase Zoomastigina. Posee un ciclo de vida complejo que incluye tres fases morfológicas comprendidas en dos huéspedes: el vector intervertebrado y el huésped mamífero. Entre los estadios existen otros intermediarios que aumentan la complejidad del ciclo. Los estadios básicos se definen por su forma, la posición del cinetoplasto respecto del núcleo y la región por donde emerge el flagelo: epimastigote, amastigote y tripomastigote; este último puede ser metacíclico o sanguíneo. <sup>7</sup> La forma amastigote se la puede ver redondeada y sin flagelo libre (Imagen 4 A), mientras que la forma de epimastigote es alargada con cinetoplasto cerca y anterior al núcleo. Posee leve membrana ondulante (Imagen 4 B). Por último, la forma tripomastigote es alargada con cinetoplasto posterior al núcleo, el flagelo forma una extensa membrana ondulante y se hace libre en la parte anterior de la célula (Imagen 4 C). <sup>4</sup> Ver también Imagen 3

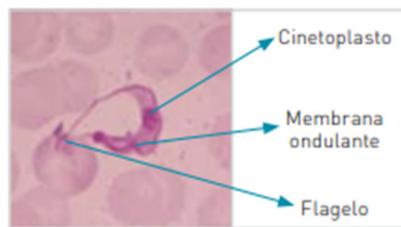


Imagen 3: Forma que adopta el parásito en el hombre y en los animales que son reservorios.

(Fuente: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf>)

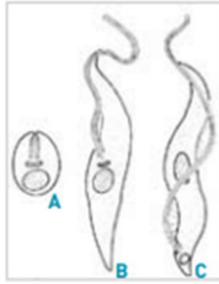


Imagen 4: A: Forma Amastigote, B: Forma Epimastigote, C: Forma Tripomastigote.

(Fuente: <http://www.msal.gob.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf>)

### 3. Ciclo de vida y transmisión:

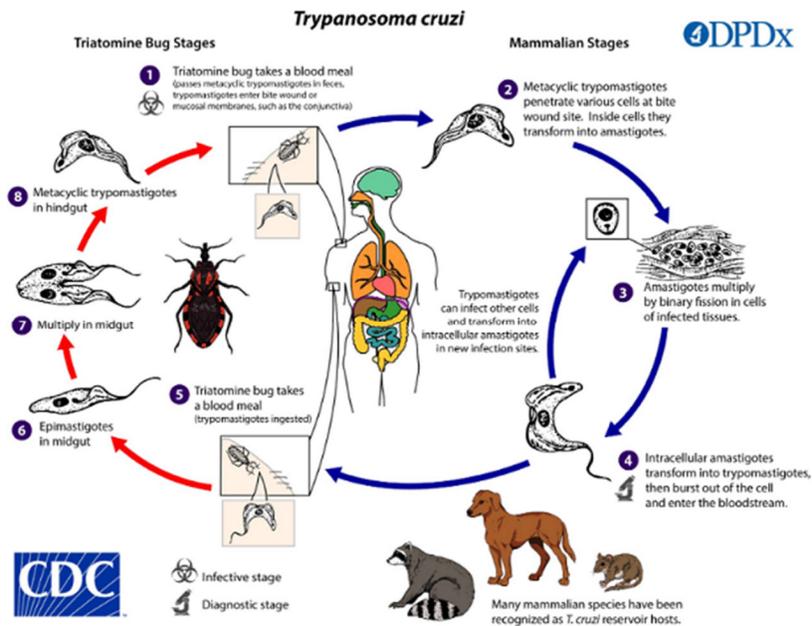


Imagen 5: Ciclo de vida del *Trypanosoma cruzi*

(Fuente: <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamericana/index.html>)

- 1) El insecto vector triatoma infectado se alimenta de sangre y libera a los tripomastigotes en las heces cerca del sitio de mordedura del insecto. Los tripomastigotes penetran al hospedador a través de la herida o de la membrana mucosa intacta, como la conjuntiva.
- 2) Dentro del huésped, los tripomastigotes invaden a las células, donde se diferencian en amastigotes intracelulares.
- 3) Los amastigotes se multiplican por fisión binaria
- 4) Se diferencian en tripomastigotes y se liberan a la circulación sanguínea.
- 5) Los tripomastigotes infectan una gran variedad de tejidos y se transforman en amastigotes intracelulares en los nuevos sitios de infección. Las manifestaciones clínicas pueden resultar en el ciclo infectante. Los tripomastigotes circulantes en sangre no se replican. La replicación se inicia cuando el parásito entra a otra célula o es ingerida por otro vector. La vinchuca se infecta al alimentarse de la sangre humana o animal conteniendo parásitos circulantes.
- 6) Los tripomastigotes ingeridos se transforman en epimastigotes en el estómago del vector.
- 7) Los parásitos se multiplican y se diferencian en el estómago
- 8) y se transforman en tripomastigotes metacíclicos infectantes en el intestino grueso.<sup>7,8</sup>

Una vez que el parásito penetra a las células que circundan el sitio de la infección, y completa uno o varios ciclos de replicación intracelular, pasa al torrente sanguíneo, en donde puede alcanzar diversas células del huésped, sobre todo las del bazo, hígado y músculo cardíaco. También puede establecer un primer contacto con los macrófagos y fagocitarse, aunque puede evadir este primer contacto con la respuesta inmunitaria, escapar de la vacuola fagocítica y replicarse en el citoplasma de los macrófagos.<sup>9</sup>

Los mecanismos lesivos de este parásito no se han establecido con certeza hasta el momento, pero se han propuesto tres teorías que son:

- **Daño directo** donde el daño principal ocasionado se debe a la lesión directa que produce el parásito al invadir a las células del huésped, y al consiguiente proceso inflamatorio localizado. Con el paso de los años, se produce la extensión de las

zonas afectadas, además del compromiso de células del SNP que inervan estos órganos.

- **Teoría autoinmunitaria** donde se han descrito anticuerpos circulantes en pacientes con enfermedad de Chagas crónica que reaccionan contra proteínas de tejido conjuntivo, endocardio, laminina y proteínas de músculo estriado, entre otras.
- **Teoría neurógena** asume que el daño del parásito se ve principalmente en las células del sistema parasimpático que inerva los órganos afectados. Como consecuencia se observa una estimulación simpática excesiva, que a través de los años causa una lesión irreversible por sobrecarga de trabajo.<sup>9</sup>

#### **4. Fases de la enfermedad:**

La infección producida evoluciona en dos fases: aguda y crónica.

- Fase aguda: se caracteriza por la presencia de concentración elevada de parásitos en sangre, la cual puede ser detectada por **métodos parasitológicos directos** como los de concentración. Como regla general, la fase aguda se inicia en el momento de adquirir la infección por cualquiera de sus vías. La duración y presentación clínica de esta fase varía dependiendo del paciente (edad, estado inmunológico, la existencia de comorbilidades y la vía de transmisión). Respecto a la presentación clínica, puede ser sintomática, oligosintomática o asintomática, siendo esta última la forma clínica más frecuente.<sup>6</sup>

*La aparición de un caso de infección aguda por T. cruzi, independientemente de la vía de transmisión, constituye un Evento de Notificación Obligatoria (ENO).*<sup>6</sup>

- Fase crónica: esta etapa comienza cuando la parasitemia se vuelve indetectable principalmente por métodos parasitológicos directos; y se detecta por **métodos serológicos y moleculares.**<sup>6</sup>

El diagnóstico de la enfermedad se basa en los signos y síntomas clínicos, los datos epidemiológicos y los resultados de las técnicas nombradas con anterioridad tanto para la fase aguda como crónica.

## 5. Reacción inmunitaria:

La respuesta inmunitaria humoral del paciente infectado incluye la producción de inmunoglobulinas del tipo IgM durante la fase aguda de la infección; las cuales decrecen después para aumentar la producción de IgG subclases 1, 2 y 3 e IgA, que pueden perdurar durante toda la vida del paciente. Sin embargo, según la bibliografía consultada se ha demostrado que los títulos elevados de anticuerpos no se relacionan directamente con la gravedad de la enfermedad causada por el *T. cruzi*.

Los macrófagos activados son una línea de defensa importante durante la infección temprana y se debe tener en cuenta, que en algunas personas las células NK son fundamentales para el control de la infección. Ambos tipos celulares se asocian para este control, ya que los macrófagos secretan IL-12 y ello lleva al incremento en la producción de INF- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ , lo que da como resultado un control de la parasitemia, pero no logra su erradicación completa.

Cabe destacar que se ha descrito inmunidad celular mediada por linfocitos CD4<sup>+</sup> y CD8<sup>+</sup> pero no se ha establecido cuál es la importante para el control de la infección causada por el parásito.<sup>9,10</sup> (Imagen 6)

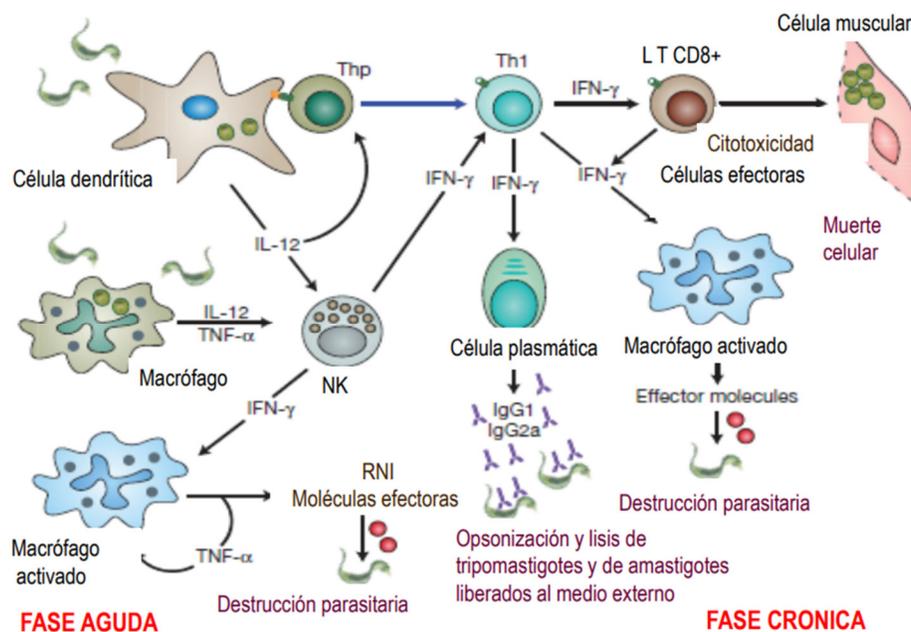


Imagen 6: Respuesta inmunitaria durante la infección por *T. cruzi*.

(Fuente: <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2018-02/2t26.pdf>)

## 6. Chagas Agudo:

### Signos y síntomas:

Los signos y síntomas pueden presentarse dentro de las primeras semanas luego de producirse la transmisión y son clasificados como:

- **Específicos:** propios de la enfermedad, pero de presentación menos frecuente (sólo en el 5% de los casos agudos). Estos son:
  - *-Chagoma de inoculación:* este puede presentarse en cualquier parte del cuerpo, pero es más frecuente en cara, brazos y piernas (Imagen 7).
  - *-Complejo oftalmoganglionar o Signo de Romana:* es una forma particular de chagoma de inoculación. Indicativo de puerta de entrada de la vía de transmisión vectorial (Imagen 8).
  - *-Chagoma hematógeno:* por lo general son indoloros y de localización más frecuente en el abdomen inferior, nalgas y muslos.
  - *-Lipochagoma geniano:* se caracteriza por ser generalmente doloroso.
- **Inespecíficos:** de presentación más frecuente pero no exclusiva de la infección aguda, pudiendo estar presentes en casos agudos adquiridos por otras vías de transmisión (fiebre, hepatoesplenomegalia, adenomegalias, anemia, edema, irritabilidad o somnolencia, convulsiones, meningoencefalitis y manifestaciones de miocarditis).<sup>6</sup>



Imagen 7: Chagoma de inoculación

(Fuente: <https://es.slideshare.net/qpineda/trypanosoma-27470852>)



Imagen 8: Signo de Romaña.

(Fuente: [https://www.cdc.gov/parasites/images/chagas/romana\\_sign.jpg](https://www.cdc.gov/parasites/images/chagas/romana_sign.jpg))

Las manifestaciones clínicas más graves de esta fase son la miocarditis y meningoencefalitis, que pueden provocar la muerte de las personas afectadas; mientras que aspectos como hepatoesplenomegalia, anemia y edemas son más frecuente en lactantes y niños menores de 4 años.<sup>6</sup>

### **Diagnóstico:**

En fase aguda uno de los métodos de diagnóstico es por medio de microscopía que se basa en la visualización del parásito en circulación. Con el fin de aumentar la probabilidad de detección se puede realizar un frotis de sangre delgado y otro grueso, utilizando la tinción de May Grunwald Giemsa.<sup>11</sup>

La técnica de Strout se aplica en pacientes adultos agudos contagiados por vía vectorial o por trasplante de órgano o tejido de donante chagásico.

En los pacientes pediátricos para determinar la transmisión congénita se aplica la técnica de Microstrout o buffy coat. Respecto al Chagas congénito, se estima que esta vía de infección sería la más frecuente en la generación de nuevos sucesos y produce el “mayor número de casos notificados anualmente en Argentina”, según la información disponible del Sistema Nacional de Vigilancia de la Salud (Ministerio de Salud 2014, Gurtler 2003).

6

Junto a estas metodologías, se ha desarrollado métodos moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), la cual se ha demostrado que es simple y confiable para detección de infección de *T. cruzi* en sangre neonatal.<sup>12</sup>

La mayoría de los pacientes no son diagnosticados en el estado agudo pasando a ser pacientes con chagas crónico, por eso su importancia del diagnóstico mediante la combinación de la clínica del paciente y epidemiología con las técnicas de laboratorio, para utilizar los métodos adecuados según el estadio en el que se encuentre el paciente.

## **7. Chagas Crónico:**

### **Signos y síntomas**

La fase crónica puede ser con patología demostrada (arritmias e insuficiencia cardíaca, megavisceras como se muestra en la Imagen 9, ACV y alteraciones del SNP) y sin patología demostrada (en la mayor parte de los casos).

- Sin patología demostrada (70%): esta forma clínica se caracteriza por serología reactiva; sin embargo la afectación orgánica no es detectable tanto clínicamente como tampoco al realizar estudios complementarios.
- Con patología demostrada (30%): caracterizada por presentar serología reactiva para esta enfermedad y también se acompaña por lesión orgánica cardíaca o digestiva, la cual es compatible con Chagas.

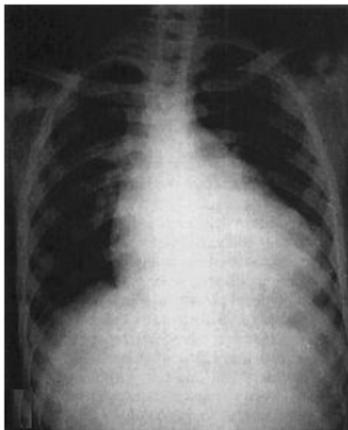


Imagen 9: Cardiomegalia, característica de la enfermedad de Chagas.

(Fuente: <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2018-02/2t26.pdf>)

### **Diagnóstico:**

Es la etapa que continúa a la fase aguda y como ya se mencionó con anterioridad se caracteriza por parasitemia indetectable por métodos parasitológicos directos por concentración, por lo que el diagnóstico de la fase crónica se corrobora al demostrar la respuesta inmunológica del paciente frente al parásito (unión antígeno-anticuerpo) siendo necesaria la utilización de métodos serológicos o moleculares.<sup>6</sup>

Debería realizarse el estudio de Chagas y considerarse la fase crónica en cualquier persona que resida o haya residido en zonas endémicas, su madre biológica esté infectada por el parásito, haya recibido transfusión de sangre, este embarazada, sea usuario de drogas inyectables, refiera síntomas o signos, tuviera familiar cercano con enfermedad cardíaca, muerte súbita y/o antecedentes de serología reactiva, donante o receptor de órganos, y pacientes a tratar y bajo tratamiento (con diagnóstico previo positivo) con drogas inmunosupresoras.<sup>10</sup>

Esta acción es oportuna por la escasa sintomatología de la mayoría de las infecciones agudas, lo que retrasa el diagnóstico a tiempo y conlleva a la detección tardía.

En relación con el diagnóstico inmunológico existe consenso en recomendar al menos 2 técnicas realizadas con la misma muestra de suero, con la finalidad de tener un alto grado de confiabilidad y alcanzar alta sensibilidad. Necesario además utilizar por lo menos una de las pruebas de mayor sensibilidad como el método de ELISA o IFI, siendo importante que el resultado de ambas sean coincidentes tanto para confirmar la infección como para descartarla (siendo las dos reactivas o no reactivas), sugiriendo una tercera prueba en caso de discrepancia entre ellas.

Las técnicas más comúnmente utilizadas son: hemaglutinación indirecta (HAI), inmunofluorescencia indirecta (IFI), ensayos inmunoenzimáticos (ELISA) y otros inmunoanálisis como CMIA, basándose todas en la detección de las inmunoglobulinas G (igG) anti-*T cruzi* en la sangre de los pacientes. Se debe tener en cuenta que la igG específica generalmente puede detectarse antes de los 30 días de ocurrida la infección aguda, alcanzando su nivel máximo al tercer mes.<sup>6,10,13,14,15</sup>

Estas técnicas mencionadas dependen de una alta sensibilidad analítica, que es la capacidad de identificación de muy pequeñas cantidades de analitos y al igual que

cualquier prueba diagnóstica se fundamentan en su valor predictivo, en donde los términos básicos son la sensibilidad y la especificidad.

En los últimos años, se han desarrollado pruebas rápidas inmunocromatográficas basadas en antígenos recombinantes. Por su simpleza y rapidez, estas pruebas constituyen una herramienta de gran utilidad, tanto para ensayos epidemiológicos de campo como para el diagnóstico clínico, facilitando de esta manera la detección precoz de la infección, evitando así que el paciente desencadene la enfermedad crónica con todas sus consecuencias.<sup>16</sup>

### **Embarazo y trasplante:**

Es importante destacar la trascendencia de realizar screening en dos tipos de pacientes: mujeres embarazadas y pacientes donadores o receptores de órganos.

Por ley nacional (ley 26.281/07), toda mujer embarazada debe estudiarse (preferentemente en su primer control prenatal) mediante serología, con el fin de descartar o confirmar infección por *Trypanosoma cruzi*.<sup>6</sup>

Respecto a la transmisión mediante órgano, todo donante o receptor debe tener el respectivo estudio serológico para esta enfermedad mediante dos estudios simultáneos, al igual que se realiza para el diagnóstico de la fase crónica. “Cualquiera sea la indicación de intervención terapéutica por la patología de base sobre el paciente, debería seguirse un protocolo estandarizado recomendado por expertos para el diagnóstico, tratamiento y seguimiento de la potencial reactivación en un paciente con infección crónica que será inmunodeprimido, así como de la infección aguda transmitida por el órgano donado o trasplantado” se manifiesta en la Guía para equipos de salud (Ministerio de Salud y Desarrollo Social, Tercera edición 2018). Considerándose reactivación, cuando el receptor es reactivo y esto quiere decir que posee infección crónica previa al trasplante. En cambio; la transmisión por el órgano se considera cuando el receptor es no reactivo frente a un donante reactivo y se detecta la parasitemia.<sup>6</sup>

La técnica de PCR localiza el DNA del parásito que se encuentra en la sangre de los pacientes, siendo más sensible que la microscopía ya que puede detectar cantidades pequeñas expresadas como copias del DNA de *T. cruzi* en sangre y puede ser positiva en una infección crónica por parasitemia transitoria. Debido a que posee mayor sensibilidad que los métodos tradicionales directos, resulta significativa tanto en pacientes chagásicos

trasplantados como en pacientes receptores de órganos chagásicos, siendo imprescindible para la detección temprana de la reactivación o primo infección de la enfermedad y así aplicar el tratamiento en forma rápida y mejorar la evolución del paciente post trasplantado.<sup>17</sup>

Sin embargo, no se ha realizado ninguna validación de esta técnica para su utilización estandarizada en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas y su costo es elevado desde el punto de materiales e instrumental siendo poco accesible para los sitios de salud de primer y segundo nivel de atención.

Por último, en algunos casos particulares, como en reactivaciones cerebrales y lesiones dérmicas, la biopsia es de gran utilidad para el diagnóstico de la enfermedad en cuestión.<sup>6</sup>

## Objetivos

Hasta no hace mucho tiempo, el Chagas era considerado un conflicto que se vinculaba únicamente a zonas endémicas, por lo que era un problema de salud latinoamericano y rural. En la actualidad hubo una redistribución de la problemática<sup>1</sup> debido a la creciente urbanización y los movimientos migratorios que han posibilitado otras formas de transmisión como donación de órganos, transfusión de sangre y de manera oral, pasando a ser también urbana-global ya que existen personas infectadas que no pertenecen solamente a poblaciones rurales o donde se afirmaba que se encontraban las vinchucas. Por este motivo es importante estudiar su dimensión y en el caso de este Trabajo Final de la carrera de Bioquímica nos centramos en la población de Quilmes y en pacientes del HEC con el fin de responder preguntas:

- ¿Cuántas personas tienen serología reactiva para Chagas en la zona de estudio?
- ¿Cómo es la distribución según grupos etarios?
- ¿Cuál es la frecuencia de serología reactiva en pacientes con patologías de alta complejidad?
- ¿Las técnicas diagnósticas cumplen con la sensibilidad y especificidad?

Por lo detallado, los objetivos de este trabajo final son:

### **Objetivo general:**

Evaluar los métodos inmunoserológicos para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en muestras provenientes de CAPS de Quilmes y de pacientes del HEC.

### **Objetivos específicos:**

- Determinar la frecuencia de Chagas reactivo en muestras provenientes de los CAPS de Quilmes y de pacientes del HEC.
- Determinar el número de muestras con resultados discordantes al utilizar dos técnicas.
- Determinar la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas.



Los pacientes ambulatorios e internados del HEC provienen de los servicios de alta complejidad donde son ingresados y atendidos hasta su recuperación.

**Este trabajo se dividió en tres etapas:**

1° Procesamiento de las muestras por las técnicas de CMIA e Inmunocromatografía (TR)

2° Separación de las muestras discordantes y procesamiento por un 3° método: IFI y/o HAI.

3° Comparar la sensibilidad y especificidad de las técnicas empleadas, así como la determinación de la frecuencia de pacientes con Chagas reactivo y el número de muestras que fueron discordantes.

**1. Procesamiento de las muestras**

En esta etapa se procesaron todas las muestras por dos técnicas:

**Test inmunocromatográfico:**

Se utilizó WL Check Chagas, que es un ensayo inmunocromatográfico para la detección cualitativa de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera. La prueba consta de un cassette plástico que contiene:

- una membrana de nitrocelulosa sensibilizada, en la zona de prueba "T", con antígenos recombinantes específicos de los estadios epimastigote y tripomastigote (**Imagen 11**).
- un parche impregnado con antígenos recombinantes específicos de *T. cruzi* conjugados a oro coloidal.



**Imagen 11:** Interior de cassette inmunocromatográfico.

*Técnica:*

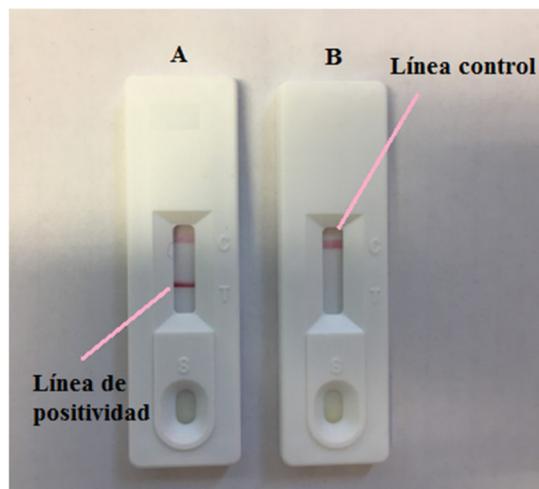
Se agregaron 40 ul de muestra y luego 3 gotas de buffer en el pocillo de muestra "S" solubilizando y mezclándose con el conjugado de antígenos recombinantes. Seguidamente la mezcla migra por capilaridad a través de la membrana de nitrocelulosa. Si la muestra es reactiva, los anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* presentes, formarán un complejo con los anticuerpos conjugados a oro coloidal. Posteriormente este complejo se unirá a los antígenos inmovilizados en la zona de prueba "T" de la membrana de nitrocelulosa, formando así una línea de color rosa-rojo púrpura (**Imagen 12 A**).

La ausencia de dicha línea indica un resultado negativo. Como control de procedimiento, la prueba incluye una zona de control "C" de color amarillo que cambia dicho color a rosa-rojo púrpura tras el paso de la muestra (**Imagen 12 B**). La ausencia de esta línea invalida los resultados.<sup>16</sup>

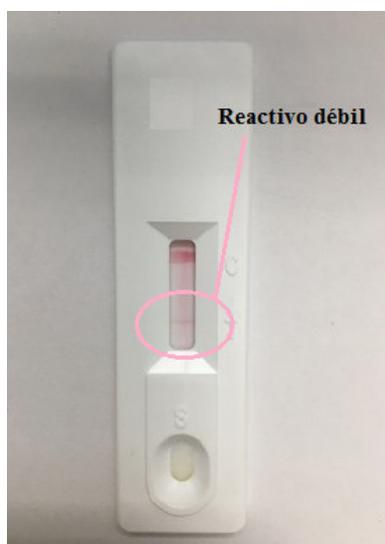
La sensibilidad y especificidad declarada por el fabricante es de 93,8% y 97,89% respectivamente.<sup>16</sup>

Lectura de los resultados<sup>16</sup>: ver **Imagen 12** y **13**.

- No Reactivo
- Reactivo
- Reactivo débil



**Imagen 12:** A: Chagas reactivo. B: Chagas no reactivo



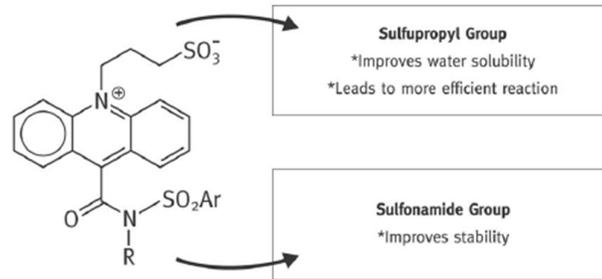
**Imagen 13:** TR con lectura Chagas reactivo débil.

### **Inmunoanálisis:**

Se procesaron las muestras en el equipo Architect ci 4100 marca Abbott con reactivo de la misma marca. Éste es un inmunoensayo quimioluminiscente de micropartículas de antígeno recombinante (CMIA) para la detección cualitativa de anticuerpos frente a *Trypanosoma cruzi* en suero y plasma humanos.<sup>18</sup>

En el caso de este ensayo la marca es un derivado de acridina patentado y esta marca produce alta emisión, por lo que obtiene elevada sensibilidad. Al ser un ensayo de tipo

sándwich no competitivo la concentración de la señal medida es directamente proporcional a la concentración de analito presente en la muestra.<sup>19</sup> Ver **Imagen 14** y **15**.



**Imagen 14:** Principio químico para CMIA de Abbot Architect.



**Imagen 15:** Reacción del ensayo (inmunoensayo no competitivo)

(Fuente: <https://es.slideshare.net/geraldgadea/1-d-inmunoensayos>)

Como se explica en este trabajo, existen tres formas morfológicas en el ciclo del *T. cruzi* (epimastigote, amastigote y tripomastigote) y la mayoría de las proteínas de este parásito se expresan en las tres formas morfológicas. El ensayo ARCHITECT Chagas se basa en las proteínas recombinantes FP3, FP6, FP10 y TcF.

En total, estas proteínas recombinantes híbridas incluyen 14 regiones antigénicas distintas que representan ampliamente las 3 formas morfológicas. Cabe destacar, que estas proteínas recombinantes contienen tanto antígenos reconocidos por los anticuerpos que están en personas en el estadio de la enfermedad aguda como los que están en personas que padecen Chagas crónico.<sup>18</sup>

Ésta determinación consta de 2 pasos: en el primer paso se combinan la muestra y el diluyente de ensayo. Después, se combinan la mezcla de muestra con las

micropartículas paramagnéticas recubiertas de antígeno recombinante de *T. cruzi* presentes en la muestra. Los anticuerpos frente al parásito presentes en la muestra se unen a las micropartículas recubiertas de antígenos recombinante. Luego del lavado que se realiza, se añade el conjugado de anticuerpos anti-igG humana marcados con ácido acridinio para crear una mezcla de reacción. A esta mezcla de reacción luego de otro ciclo de lavado se añade las soluciones pre activadoras y activadoras, la reacción quimioluminiscente resultante se mide en unidades relativas de luz (URL). Como ya se mencionó, existe una relación directamente proporcional entre la cantidad de anticuerpos frente a *T. cruzi* presentes en la muestra y las URL detectadas por el sistema óptico del equipo utilizado.<sup>18</sup>

El fabricante detalla sensibilidad  $\geq 99,0 \%$  y especificidad  $\geq 99,5 \%$ .<sup>18</sup>

Los puntos de corte utilizados fueron los del inserto:

- No reactivo:  $< 0,80$
- Zona gris  $0,80$  a  $< 1,00$
- Reactivo  $> 1,00$



**Imagen 16:** Equipo ARCHITECT ci 4100 Abbott

(Fuente: <https://www.corelaboratory.abbott/int/es/offerings/brands/architect/architect-c4000>)

## 2. Separación de las muestras discordantes y procesamiento por un 3º método: IFI y/o HAI.

### HAI:

La hemaglutinación indirecta o hemaglutinación reversa pasiva para *T. cruzi*, se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* de producir aglutinación con los correspondientes antígenos.

En el suero existen anticuerpos inespecíficos (heterófilos) que son capaces de aglutinar glóbulos rojos de distintas especies y por ello lo que se realizó en uno de los pasos de la técnica es enfrentar el suero con glóbulos rojos no sensibilizados con el fin de descartar la presencia de heterofilia. Es importante señalar que existen interferentes en esta técnica, pero es posible eliminarlos mediante 2-mercaptoetanol.<sup>20</sup>

Este método tiene sólo anticuerpos frente a la membrana, por lo cual únicamente posee un sitio de unión.

En este caso el fabricante declara sensibilidad entre 95-98% y especificidad 100 %.<sup>20</sup>

Se realizó titulación sin 2-ME ya que en ninguna muestra se observó presencia de heterofilia.

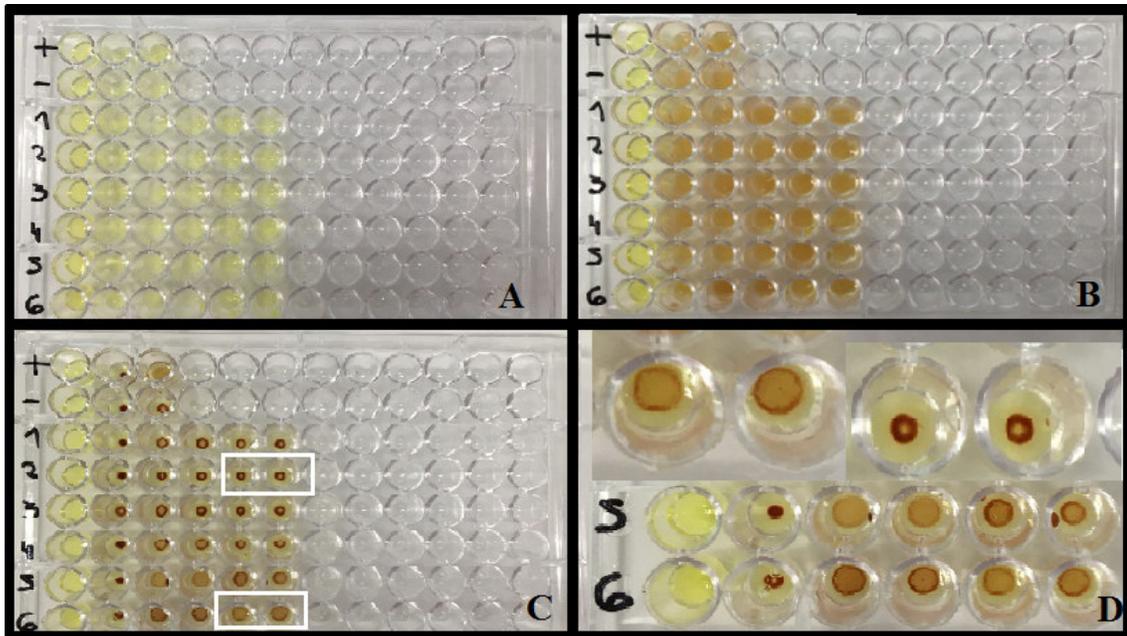
- Se colocó 75 ul del diluyente de muestra previamente preparado en el primer pocillo y 25 ul en el resto, luego se agregó 25 ul de muestra y se realizó diluciones seriadas (**Imagen 17 A**).
- Se colocó 25 ul de glóbulos rojos no sensibilizados en el segundo pocillo y luego 25 ul de antígeno desde el tercer pocillo a los restantes (**Imagen 17 B**).
- Se lo dejó en reposo y la lectura se realizó a partir de los 90 minutos.

Lectura<sup>20</sup>:

**No reactivo:** presencia de un sedimento en forma de botón o pequeño anillo de bordes regulares.

**Reactivo:** formación de una película o manto que cubre el 50% o más del fondo de los pocillos.

Al realizar diluciones seriadas fue posible asignarles un título a las muestras.



**Imagen 17:** Técnica de HAI. **A:** diluciones tras el agregado de diluyente de muestra y suero, **B:** pocillos con glóbulos rojos no sensibilizados para control de heterofilia y antígeno, **C:** luego de 90 minutos, donde ya puede ser interpretado, **D:** en el cuadrante superior izquierdo se ve una ampliación de C donde se aprecia la positividad de la prueba, en el cuadrante superior derecho también se ve una ampliación de C pero se aprecia la negatividad de la misma y en el cuadrante inferior se ve dos muestras positivas. Muestra 5 título 1/64 y muestra 6 título mayor 256.

### **Inmunofluorescencia:**

Esta técnica es considerada gold standard y consta en poner en contacto el suero del paciente en una impronta que contiene un preparado de antígeno parasitario, y luego de lavar se añade la fluoresceína conjugada o unida a un anticuerpo antiinmunoglobulina humana. Se observa bajo microscopio de fluorescencia para determinar si la prueba resulta positiva. El resultado que se obtiene es cualitativo, sin embargo se puede obtener semicuantitativos al diluir el suero del paciente hasta determinar la dilución a la cual todavía hay resultados positivos.<sup>9</sup>

**3. Comparar la sensibilidad y especificidad de las técnicas, determinación de la frecuencia de pacientes con Chagas reactivo y el número de muestras que fueron discordantes.**

**Validez de los métodos:**

El término validez se refiere al grado en que una variable mide realmente aquello para o que está destinada, cuanto menos válida sea una medida, más probabilidades hay de cometer error sistemático o sesgo. El análisis de la validez de los métodos empleados se puede evaluar obteniendo los valores de sensibilidad y especificidad, donde una depende de la otra ya que cuando la sensibilidad aumenta, la especificidad disminuye y lo mismo de manera inversa.

Un adecuado método de diagnóstico es aquel que ofrezca resultados positivos en enfermos y resultados negativos en personas sanas, por eso la importancia de definir dos parámetros analíticos <sup>21,22</sup> :

Sensibilidad: es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un paciente enfermo la prueba realizada logre un resultado positivo. La prueba ideal debe ser 100 % sensible, es decir, no debe tener resultados falsos negativos. Este parámetro posee una ecuación que relaciona los VP y FN:

$$\frac{VP}{VP + FN}$$

Especificidad: Es la capacidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un paciente sano la prueba logre un resultado negativo. La prueba ideal debe ser 100 % específica, es decir, no debe tener resultados falsos positivos. La ecuación de la especificidad relaciona los VN y FP: <sup>21</sup>

$$\frac{VN}{VN + FP}$$

De estos dos parámetros derivan otros indicadores como:

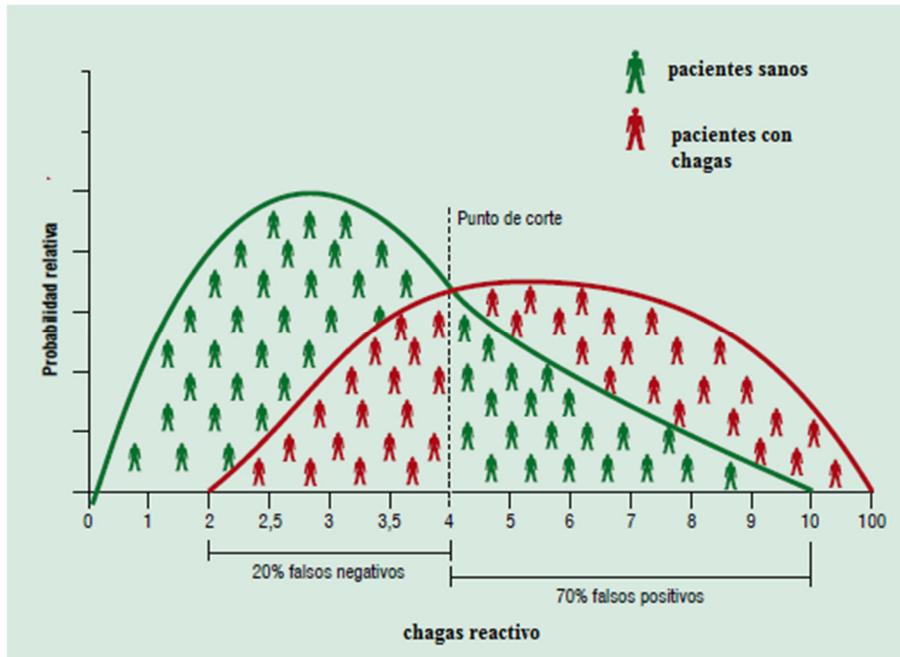
Valor predictivo positivo: es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en la prueba. Puede estimarse a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo, que finalmente resultaron estar enfermos.

Valor predictivo negativo: es la probabilidad de no padecer la enfermedad si se obtiene un resultado negativo en la prueba y puede estimarse a partir de la proporción de pacientes con un resultado negativo que finalmente resultaron sanos. <sup>21</sup>

Esquematisando en un histograma el resultado dado por los métodos diagnósticos (**Imagen 18**), se ve que no existe un comportamiento ideal donde se observe dos poblaciones bien definidas, lo que sucede es que la población sana se mezcla con la población enferma generando resultados falsos positivos, y la población enferma con la sana generando falsos negativos: <sup>21</sup>

Resultados falsos positivos: es el resultado que indica que una persona padece una enfermedad cuando en realidad no la padece, y se relaciona con la sensibilidad de la prueba.

Resultados falsos negativos: resultado de una prueba que indica que una persona no padece una determinada enfermedad (en el caso de este trabajo, chagas), sin embargo la padece. Los FN se relacionan con la especificidad de la prueba.



**Imagen 18:** Comportamiento de los métodos diagnósticos.

(Fuente: *Medicina & Laboratorio*, Volumen 16. Números 9-10 (2010), Germán Campuzano Maya. Unidad clínica de los marcadores tumorales página 417.)

**Análisis de Datos:**

Se evaluó de forma general los resultados de los pacientes que asistieron a los CAPS de Berazategui, Florencio Varela, y de manera específica y particular los del partido de Quilmes y los pacientes ambulatorios e internados del HEC.

La historia clínica de los pacientes del HEC se obtuvo utilizando el programa del hospital SIGEHOS y el sistema informático de laboratorio (LIS).

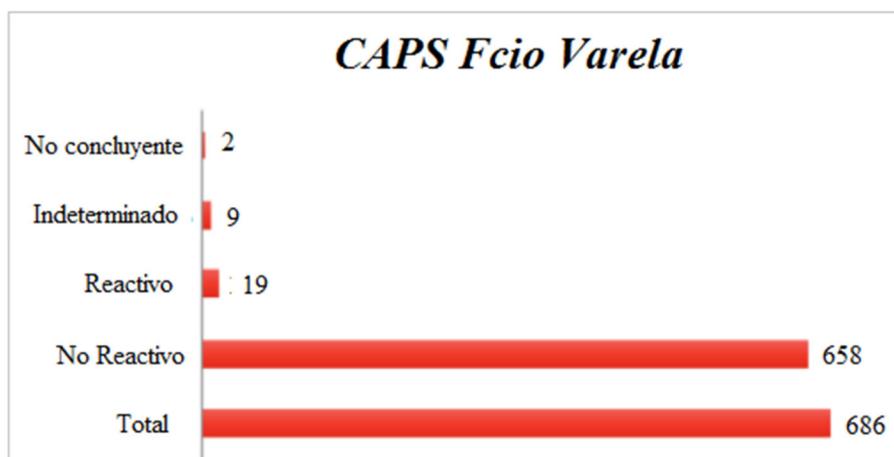
Con el fin de definir las características de la población y según los datos disponibles se evaluó edad, sexo, distrito y CAPS al que pertenecen. En caso de ser paciente del HEC se tuvo en cuenta edad y sexo, pero también servicio solicitante. Si la solicitud era del servicio de trasplante se develó el órgano a trasplantar y de ser pacientes ambulatorios se observó la patología de base.

Los datos fueron cargados a una planilla Excel al final de cada día de procesamiento de las muestras para el procesamiento final de los resultados. Los valores de sensibilidad, especificidad, VPP, VPN se obtuvieron mediante la página de SAMIUC. <sup>23</sup>

## Resultados

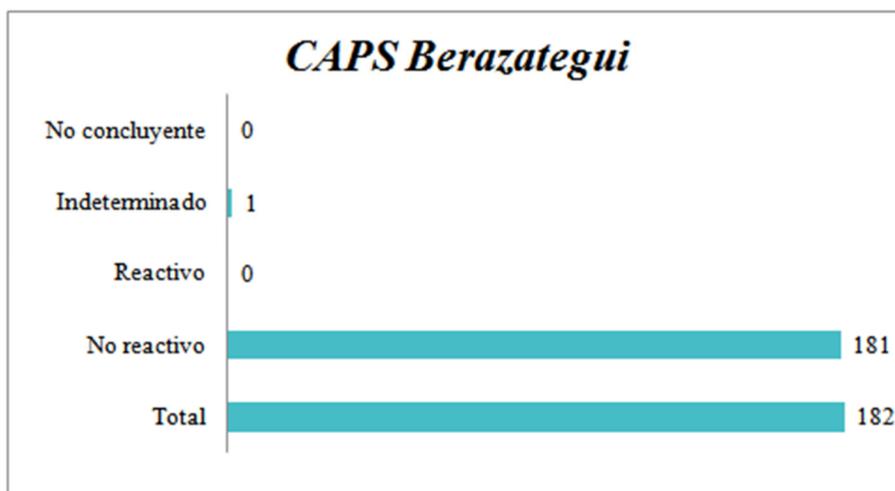
Se procesaron 1187 muestras durante el mes de enero y febrero del año 2020 (desde el 15 de enero al 3 de febrero), provenientes tanto de los CAPS como de pacientes del HEC, distribuidas de la siguiente manera: 686 muestras (57,79%) fueron de los CAPS de Florencio Varela, 182 (15,33%) de los CAPS de Berazategui, 229 (19,29%) pertenecen a los CAPS del partido de Quilmes y 90 muestras (7,58%) fueron de pacientes del HEC. Del total, 25 fueron reactivas (2,11%), 1146 no reactivas (96,55%), 13 indeterminadas (1,09%) y 3 fueron no concluyentes (0,25%) .

La distribución de muestras reactivas, no reactivas e indeterminadas para los CAPS de Varela, Berazategui y Quilmes, además del HEC fue: ver Gráfico 1 al 4.



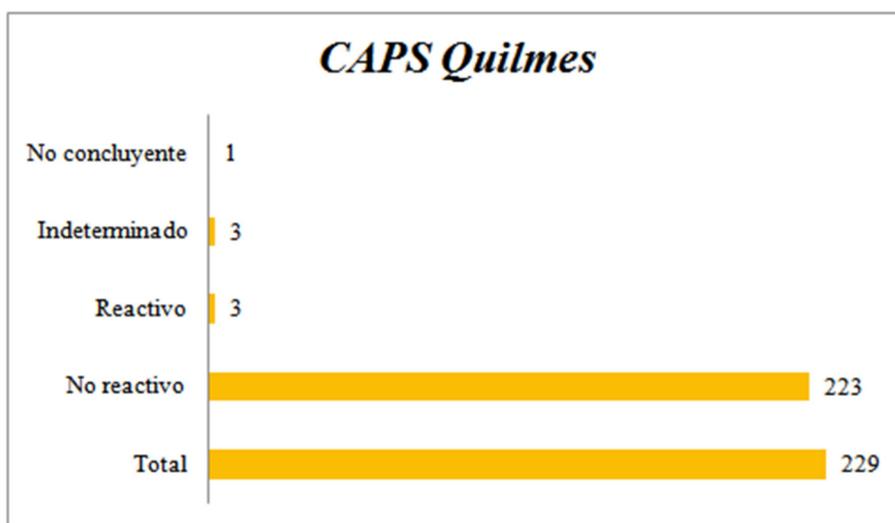
**Gráfico 1:** Distribución de resultados: No Concluyentes, Indeterminados, Reactivos y No reactivos de Florencio Varela.

En el **Gráfico 1** se observa los resultados tras el procesamiento de las muestras pertenecientes a los CAPS de Florencio Varela donde de las 686 muestras 19 (2,77%) resultaron reactivas, 658 (95,92%) no reactivas y 9 (1,31%) de ellas resultaron indeterminadas. De las muestras indeterminadas 2 (22,22%) fueron no concluyentes.



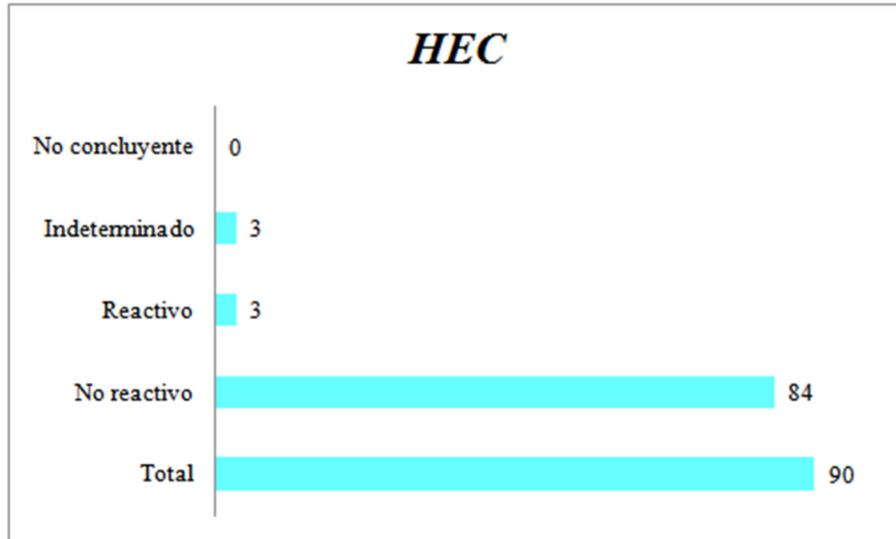
**Gráfico 2:** Distribución de resultados: No concluyentes, Indeterminados, Reactivos y No reactivos de Berazategui.

En el **Gráfico 2** se observan los resultados de los CAPS de Berazategui, donde de un total de 182 muestras no se observó muestras reactivas, 181 (99,45%) fueron no reactivas y 1 muestra (0,55%) indeterminada, no se registró muestras no concluyentes para este distrito.



**Gráfico 3:** Distribución de resultados: No concluyentes, Indeterminados, Reactivos y No reactivos de Quilmes.

Respecto al municipio de Quilmes, el **Gráfico 3** muestra que de las 229 muestras; 3 (1,31%) fueron reactivas, 223 (97,38%) fueron no reactivas y 3 (1,31%) resultaron indeterminadas. De las muestras indeterminadas 1 (33,33%) resultó no concluyente

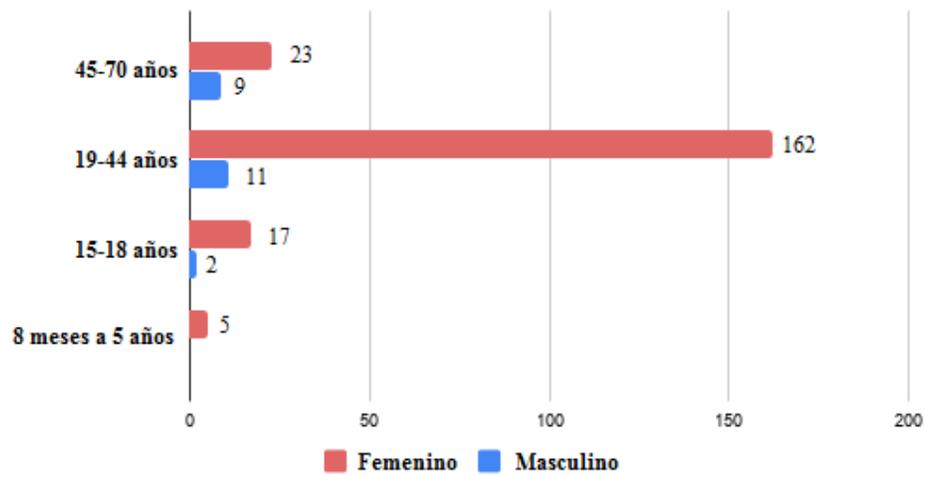


**Gráfico 4:** Distribución de resultados: No concluyentes, Indeterminados, Reactivos y No reactivos del HEC.

Y en cuanto al HEC, en el **Gráfico 4** se muestra que tuvo un total de 90 muestras, de las cuales 3 (3,33%) fueron reactivas, 84 (93,33%) no reactivas y 3 (3,33%) fueron indeterminadas. De estas últimas ninguna fue no concluyente.

Al analizar particularmente el partido de Quilmes, la distribución por edad-sexo mostró que la población femenina fue la más estudiada, siendo 207 mujeres (90,39%) sobre 22 hombres (9,61%) y que la mayoría están en el grupo etario de edad reproductiva, que según la bibliografía consultada es entre 15-44 años.<sup>24</sup> Del total de mujeres 179 (86,47%) se encuentran en esta categoría según el rango de edad. Ver **Gráfico 5** y **Tabla 1**.

### Distribución por edad-sexo muestras CAPS Quilmes

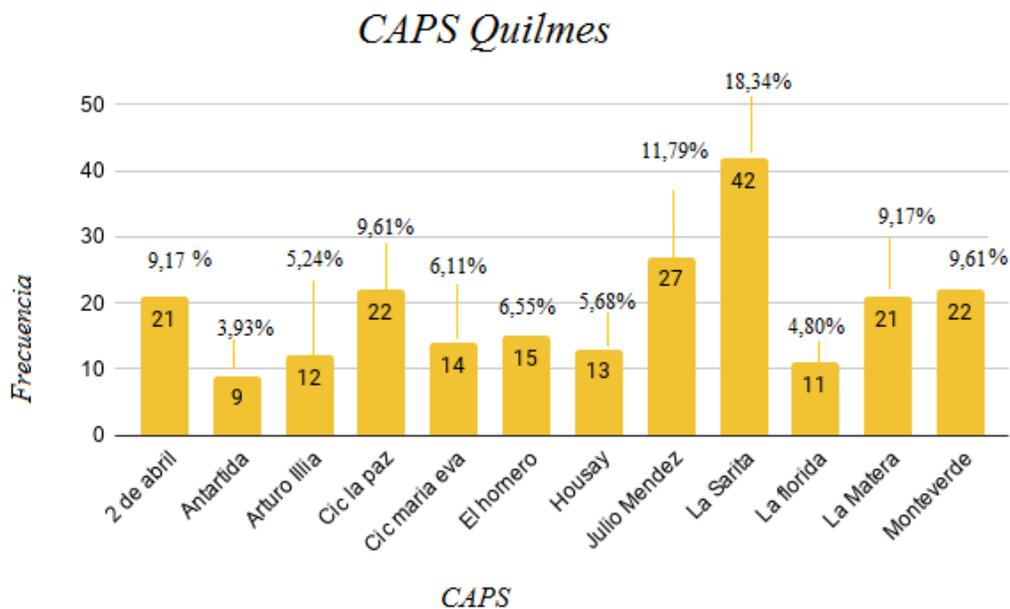


**Gráfico 5:** Distribución por edad y sexo de las muestras de los centros de atención primaria pertenecientes a Quilmes.

Rango etario	Femenino	%	Masculino	%
8 meses a 5 años	5	2,18%	0	0
15-18 años	17	7,42%	2	0,87%
19-44 años	162	70,74%	11	4,80%
45-70 años	23	10,04%	9	3,93%

**Tabla 1:** Distribución por rango etario y sexo CAPS Quilmes

La frecuencia de muestras derivadas por los 12 CAPS de Quilmes durante el periodo estudiado fue: ver **Gráfico 6**



**Gráfico 6:** Frecuencia muestras derivadas desde los CAPS de Quilmes en el periodo estudiado.

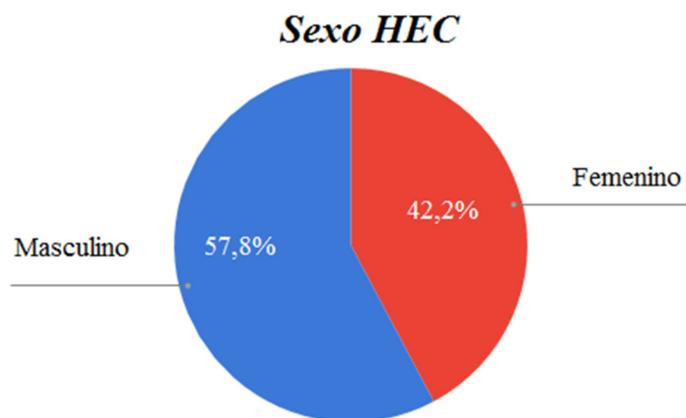
De este gráfico destaca el centro de atención primaria La Sarita como el centro con mayores derivaciones, con 42 muestras (18,34%) y Antártida Argentina con 9 muestras (3,93%) como el centro con menor número de derivaciones.

Al analizar la frecuencia de reactivos, indeterminados y no concluyentes por CAPS, se observó que las 3 muestras reactivas (1,31%) se distribuyeron entre los CAPS pertenecientes a Antártida Argentina, El Hornero y La Sarita. Mientras que tanto las muestras indeterminadas, como la no concluyente pertenecen al CAPS La Sarita (**Tabla 2**).

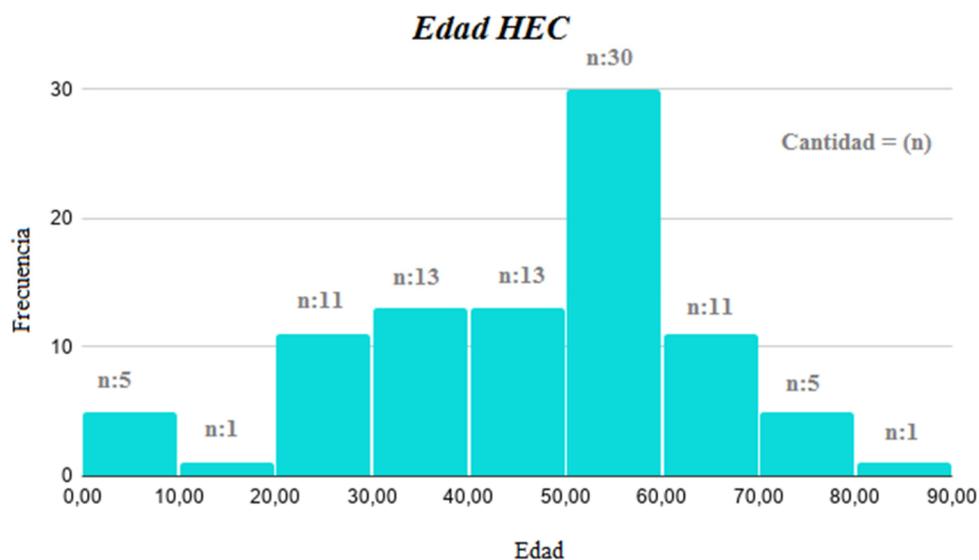
CAP	Reactivo	Indeterminado	No Concluyente
<b>2 de abril,</b> <b>Arturo Illia</b> <b>Cic la paz</b> <b>Cic Maria Eva</b> <b>Housay</b> <b>Julio Mendez</b> <b>La Florida</b> <b>La Matera</b> <b>Monteverde</b>	0	0	0
<b>Antártida</b>	1	0	0
<b>Argentina</b>			
<b>El Hornero</b>	1	0	0
<b>La Sarita</b>	1	2	1
<b>TOTAL</b>	3	2	1

**Tabla 2:** Distribución de las muestras reactivas, indeterminadas y no concluyentes según CAPS.

Al analizar la frecuencia de edad y sexo que predomina en los pacientes ambulatorios como internados del HEC, se observó que de 90 (que es el total de muestras procesadas), 38 (42,2 %) son del sexo femenino, mientras que 52 de ellas (57,8%) pertenecen al sexo masculino (**Gráfico 7**). Respecto a la frecuencia de edad, en el **Gráfico 8** que se construyó con un rango de edad entre 1-85 años, se observó que el intervalo de edad de mayor predominio es entre 50-60 años con 30 muestras (33,33%).



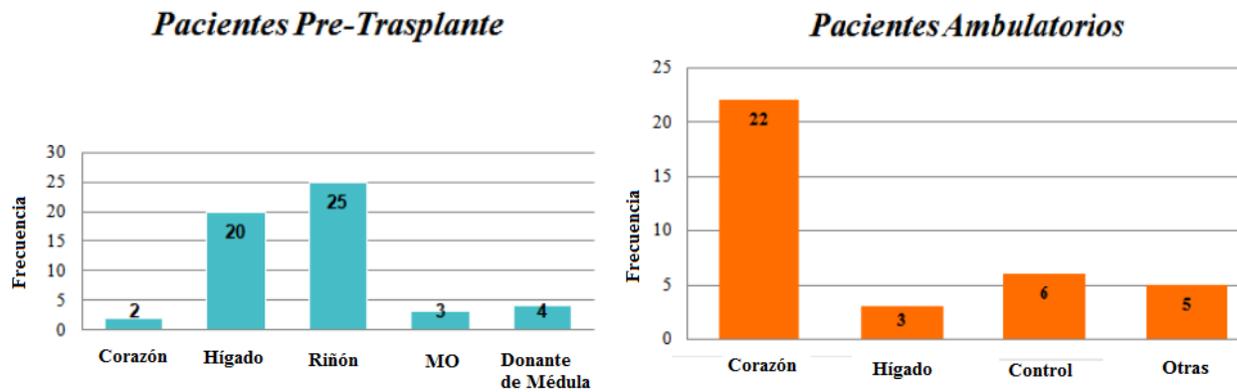
**Gráfico 7:** Frecuencia de sexo de las muestras de pacientes ambulatorios e internados del HEC.



**Gráfico 8:** Frecuencia de edad de las muestras provenientes del HEC.

En relación a los pacientes internados (pacientes pre-trasplante) y los ambulatorios se observó que, en los primeros, de un total de 54 (60 %), el órgano predominante a trasplantar es el riñón con 25 pacientes (46,30%), seguido del hígado con 20 pacientes (37,04%). El resto proviene de donantes de médula ósea que son 4 (7,41%), 3 pacientes a trasplantar de médula ósea (5,55%) y 2 de corazón (3,70%). Con respecto a los 36 pacientes ambulatorios (el 40%), según la patología de base fue: 22 pacientes (61,11%)

padecían patologías cardíacas crónicas, 6 (16,67%) asistieron a control, 5 (13,89%) se clasificaron como “otras patologías” que iban desde neurológicas, gástricas y metabólicas, y 3 pacientes (8,33%) padecían patologías hepáticas crónicas: ver **Gráfico 9 y 10**.



**Gráficos 9 y 10:** Frecuencia de órganos a ser trasplantados y de afecciones en los pacientes ambulatorios.

Por último, al calcular la sensibilidad y especificidad de CMIA y TR, se obtuvo que la primera técnica posee sensibilidad de 97% y especificidad de 100%, mientras que el TR posee sensibilidad de 90% y la especificidad es 99% (**Tabla 3**). Además, según lo calculado, tanto el método diagnóstico CMIA como el TR tienen VPN de 100%; sin embargo, el VPP es 90% para el primer método y 81% para el segundo (**Tabla 4**).

Método	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)
CMIA	97%	100%
TR	90%	99%

**Tabla 3:** Sensibilidad y Especificidad de CMIA y TR.

<b>Método</b>	<b>VPP (%)</b>	<b>VPN (%)</b>
<b>CMIA</b>	90%	100%
<b>TR</b>	81%	100%

**Tabla 4:** Valor Predictivo Positivo y Valor Predictivo Negativo de CMIA y TR.

## Discusión

Acorde a la bibliografía consultada, es propicio realizar el screening a toda mujer embarazada y pacientes donadores o receptores de órganos.<sup>6</sup> Sin embargo en el presente trabajo no se contó con la información necesaria para determinar si las pacientes ingresadas en edad fértil provenientes de los CAPS de Quilmes estaban embarazadas.

La técnica de PCR detecta pequeñas cantidades del DNA del parásito en sangre, si bien esto sería lo ideal para el diagnóstico de los pacientes, por motivos relacionados con el costo el HEC solo realiza la técnica en pacientes receptores chagásicos crónicos previo y posterior al trasplante y en receptores sanos posterior al trasplante de órgano chagásico.

A pesar de que la prueba inmunocromatográfica resulta ser de gran utilidad por su simpleza y rapidez, se comprobó que dicha técnica está condicionada a la subjetividad del operador al momento de realizar la lectura y determinar la positividad de la misma; ya que existieron varias muestras con resultados "reactivo débil", lo cual queda a criterio del operador su interpretación.

En relación al método CMIA, se debe mencionar que dicha prueba diagnóstica posee una zona gris, que es una brecha de incertidumbre en la que los valores obtenidos no definen si la prueba es reactiva o no reactiva, la interpretación en este caso es "no concluyente". La importancia de mencionar esto es que durante el procesamiento de las muestras se obtuvieron 3 con este resultado, las cuales fueron excluidas de la estadística ya que no se las puede interpretar como reactivas o no reactivas y se debe solicitar una nueva muestra repitiendo la extracción en el paciente.

Al analizar la validez de los métodos empleados se realizó mediante los cálculos de la sensibilidad y especificidad, y de estos dos parámetros surgieron otros como el VPP, VPN. Sin embargo, se debe mencionar que los valores predictivo positivo y predictivo negativo dependen no solo de la sensibilidad y especificidad, sino también de la prevalencia de la enfermedad en la población. Este dato es el factor más determinante de los valores predictivos, porque la sensibilidad y especificidad, al ser características intrínsecas de una medida no sufrirá grandes variaciones según el lugar donde se apliquen

(siempre y cuando se realicen en condiciones similares). Sin embargo, la prevalencia es un dato que no siempre se conoce y que sufre variaciones, por lo que se recomienda la utilización de otros indicadores como el cociente de probabilidad (Likelihood ratio), el cual hay uno para pruebas positivas y otro para pruebas negativas (LHR+ o LHR-).<sup>22 y 25</sup>

Es importante destacar que uno de los objetivos de este trabajo final era la utilización de la técnica de IFI (la cual es considerada el método gold estándar para la detección de la enfermedad de Chagas) como una de las dos pruebas diagnósticas utilizadas para procesar las muestras que resultaron discordantes (indeterminadas), junto con la técnica de HAI. Sin embargo, por falta de inmunoglobulina total y costo no se pudo realizar, con lo cual la prueba confirmatoria en este trabajo fue hemaglutinación indirecta.

## Conclusión

A partir de los resultados se evidencia que la frecuencia de pacientes con Chagas reactivo en muestras de los CAPS de Quilmes fue 1,31% y para el HEC fue 3,33%. Si se comparan los valores obtenidos en Quilmes con los demás CAPS se observó que Fcio. Varela fue el que tuvo mayor cantidad de muestras reactivas (2,77%) y Berazategui el de menor número de Chagas reactivo (0,55%). Relacionado con esto se observó también que el número de muestras recibidas del partido de Fcio Varela fue mayor respecto a los otros dos municipios que derivan sus muestras, con 686 de 1187 muestras en total.

El número de muestras que resultaron discordantes fueron 13 (1,10%). Esto demostró que hay diferencias en los resultados de las técnicas utilizadas, por lo que es importante respetar el consenso en el cual se recomienda procesar la misma muestra de suero por dos métodos distintos. De las muestras discordantes, se destaca que del total de muestras procesadas, 3 de ellas (0,25%) resultaron no concluyentes, con lo cual no se las tuvo en cuenta como parte de ningún grupo de resultados. En estos casos se solicitó repetir muestra con el fin de ser procesadas nuevamente y poder informar un resultado concluyente.

Dentro de este marco, se ha determinado la sensibilidad y especificidad de las técnicas utilizadas con el fin de compararlas entre ellas y con lo declarado por el fabricante en los respectivos insertos. En este trabajo la sensibilidad para la técnica de CMIA fue 97% y la especificidad 100%, ambos parámetros comparables con lo declarado por el fabricante. Lo mismo ocurrió en el caso del inmunocromatografía (TR), el cual los resultados del trabajo revelaron sensibilidad del 90% y especificidad de 99%, también valores comparables con los del inserto.

Respecto a la comparación entre las técnicas, según los datos obtenidos, la sensibilidad y especificidad de CMIA resultó mayor que la de la inmunocromatografía, resultado que era el esperado ya que como dice el inserto, el TR tiene una variedad de limitaciones que conlleva a que un resultado negativo no excluye la posibilidad de infección por *T. cruzi*. y un resultado positivo debe ser verificado ya que puede tener resultados falsos positivos cuando se tiene otras enfermedades o parasitemias.

Para concluir, es importante el estudio de la enfermedad de Chagas ya que hace un tiempo era considerada exclusiva de zonas endémicas, ligado a las zonas rurales y a Latinoamérica. Sin embargo, la creciente urbanización y movimientos migratorios han posibilitado otras formas de transmisión, lo que hace que ya no sea un problema sólo latinoamericano y rural sino también urbano-global, que hacen la importancia de este trabajo final.



## Referencias Bibliográficas

1. <https://hablamosdechagas.org.ar/info-chagas-recorrido-historico/> consultado 26-02-2020
2. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf>. consultado 26-02-2020
3. [https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-\(american-trypanosomiasis\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/chagas-disease-(american-trypanosomiasis)) consultado 26-02-2020
4. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf> consultado 26-02-2020
5. Macías G, Hernández H. Tendencia temporal y distribución espacial de la mortalidad por enfermedades tropicales desatendidas en Argentina entre 1991 y 2016. Rev Panam Salud Pública. 2019;43:e67.  
<https://doi.org/10.26633/RPSP.2019.67> consultado 26-02-2020
6. Chagas Guía para equipos de salud. 3ra edición 2018.
7. <https://www.cdc.gov/dpdx/trypanosomiasisamerican/index.html> consultado 26-02-2020
8. <https://www.mcdinternational.org/trainings/malaria/spanish/DPDx/HTML/TrypanosomosisAmericana> consultado 26-02-2020
9. Becerril, Marco Antonio (2014). Parasitología Médica (4ta Edición). México:MacGrawHill. 437p Capítulo 10 p.95-110.
10. <https://www.fmed.uba.ar/sites/default/files/2018-02/2t26.pdf> consultado 27-02-2020
11. <https://www.cdc.gov/parasites/chagas/es/diagnostico.html>. consultado 27-02-2020
12. M. Virreira, F. Torrico, C. Truyens, C. Alonso-Vega, M. Solano, Y. Carlier, M. Svoboda “Comparison of polymerase chain reaction methods for reliable and easy detection of congenital *Trypanosoma cruzi* infection”. Año 2003.
13. <http://www.msal.gov.ar/images/stories/bes/graficos/0000000172cnt-08-2-3-3-I-modulo-Chagas.pdf> consultado 27-02-20

14. Organización Mundial de la Salud. *Control de la Enfermedad de Chagas*. Segundo Informe del Comité de Expertos de la OMS. 2002. Serie de Informes Técnicos 905. Ginebra: 2002. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/42738> consultado 27-02-20
15. Organización Panamericana de la Salud. *Guía para el diagnóstico y el tratamiento de la enfermedad de Chagas*. Washington, D.C.: OPS; 2018. Puede consultarse en <http://iris.paho.org>.
16. Inserto WL Check Chagas para la detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma y sangre entera.
17. F. M. Urinovsky, O. A. Salomone, R. Cordoba, A. J. Zazu, A. Martinez Colombes, J. C. Zlocowsky, T. Alvarellos, A. Diller, M. Amuchastegui (2003). “Morbimortalidad de los pacientes con miocardiopatía chagásica y trasplante cardíaco. Experiencia inicial “. Disponible en <https://www.sac.org.ar/wp-content/uploads/2014/04/703.pdf>
18. Inserto ARCHITECT System Chagas, Abbott.
19. Abbot, Introducción a los Inmunoensayos. Disponible en <https://es.slideshare.net/geraldgadea/1-d-inmunoensayos>
20. Inserto Chagatest HAI, prueba de hemaglutinación indirecta para la detección de anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*.
21. German Campuzano Maya. *Medicina & laboratorio*, Números 9-10 volumen 16 (2010) “Utilidad clínica de los marcadores tumorales” p 414-417
22. *Métodos de investigación clínica y epidemiológica*, 4ª ed. Elsevier España 522 p. Anexo 3, p 339-343
23. <http://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/> consultado 28-02-20
24. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/women-s-health> consultado 28-02-2020
25. <http://www.samiuc.es/estadisticas-variables-binarias/indicadores-pruebas-diagnosticas/> consultado 28-02-2020