

IMPORTANCIA DEL DIAGNOSTICO DE ANTICUERPOS PARA *Trypanosoma cruzi* EN DONANTES VOLUNTARIOS MEDIANTE METODOLOGÍA RECOMENDADA POR LA OMS COMPARADA CON LA UTILIZADA EN BANCO DE SANGRE “DR. JOSÉ JESÚS BOADA BOADA” Y SU RELACIÓN CON ANTECEDENTES EPIDEMIOLÓGICOS PARA ENFERMEDAD DE CHAGAS

* Monsalve Perdigón Yulibel; * Mujica Delgado María; * Silva Escalona Rosmell; * Mirolo Perozo Mónica; * Alvarez Carmen; * Rodríguez Bonfante Claudina; ** Gil Alexis; ** Bonfante Cabarcas Rafael; *** Andrade Robert; *** Rea Trina; **** Rodríguez Rómulo.

PALABRAS CLAVE: *Trypanosoma cruzi*. Transfusional. Diagnóstico.

RESUMEN

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal con la finalidad de diagnosticar anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* mediante metodología recomendada por la Organización Mundial de Salud (Aglutinación Directa, Inmunofluorescencia, Ensayo Inmunoenzimático) y la utilizada (Bioelisa Chagas) en Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” de Barquisimeto en 1077 donantes voluntarios que asistieron en el lapso Agosto - Septiembre de 2003 a dicha institución, de los cuales un 87% pertenecían al sexo masculino y 13% al femenino, el grupo de edad entre 18-28 años representó un 49,30%; seguido de los grupos 29-38 años con 29,90% y 39-48 años con 16,62%. La determinación de anticuerpos para *T. cruzi* según las recomendaciones de la OMS arrojó un 0,65%; mientras que Banco de Sangre en la misma muestra reportó 0,46%. Los seropositivos pertenecían al sexo masculino, predominando el grupo de edad entre 39-48 años, resaltando que todos ellos habían donado con anterioridad en este mismo centro. Del total de donantes estudiados, un 43,55% presentaron antecedentes epidemiológicos relacionados con la Enfermedad de Chagas, de los cuales 63,37% refirió conocimiento del vector; 42,99% habitó en el área rural y 1,11% refirió picadura del vector; estos datos no fueron relevantes para los seropositivos. Los resultados sugieren la necesidad de emplear técnicas con alta sensibilidad y especificidad e implementar medidas permanentes de control de calidad para la detección de anticuerpos para *T. cruzi* garantizando de esta forma a los usuarios del Banco de Sangre productos seguros.

KEY WORDS: *Trypanosoma cruzi*. Blood transfusion. Chagas disease diagnosis.

SUMMARY

In a descriptive cross-sectional study, we analyzed the *Trypanosoma. Cruzi* (*T. cruzi*) seroprevalence from 1077 volunteer donors visiting the “Dr. Jose Jesus Boada Boada” blood bank during August and September 2003. We compared the *T. cruzi* serological test used by the “Dr. Jose Jesus Boada Boada” blood bank detection method (Chagas ELISA bioassay) and those recommended by the WHO (Direct Agglutination, Immunofluorescence, and Immunoenzymatic Assay). The studied cohort, 87% males and 13% females, distributed in three age groups: 18-28 year old (49.30%), 29-38 years old (29.90%), and 39-48 (16.62%). Within the studied cohort only 0.65% was *T. cruzi*-seropositive according to “Dr. Jose Jesus Boada Boada” blood bank detection methodology and 0.46% by the WHO's recommended methodology. All *T. cruzi*-seropositive patients were males in the 38-48 years old group, who have been previously tested for *T. cruzi* seropositiveness, in the “Dr. Jose Jesus Boada Boada” blood bank. We also determined that 43.55% donors had epidemiological antecedents relevant to Chagas disease onset, such as knowing the *T. cruzi* vector (63.37%), living in a rural area (42.37%), and had been bitten by the vector (1.11%); these epidemiological criteria did not correlate with *T. cruzi*-seropositiveness as determined by either methodologies. Our results strongly argue for the necessity to implement highly sensitive and specific methods to detect *T. cruzi* antibody levels in the patient population tested in the “Dr. Jose Jesus Boada Boada” blood bank. This study also indicates the necessity to implement intra-laboratory quality controls to guaranty a better service to the blood bank users.

* Unidad de Investigación de Parasitología Médica.

** Unidad de Bioquímica. Centro de Investigaciones Biomédicas. Decanato de Medicina. UCLA.

*** Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” HCUAMP.

**** Medicina Integral del Medio Urbano.

Dirigir correspondencia a: Rodríguez - Bonfante Claudina. Decanato de Medicina, UCLA. Avenida Andrés Bello con Avenida Libertador. Barquisimeto, Estado. Lara. Venezuela. Teléfonos: 0251 – 2591965 Fax: 0251 – 2591918. E-mail: crvalenzuela@ucla.edu.ve

INTRODUCCIÓN

La Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una enfermedad parasitaria causada por el *Trypanosoma cruzi*, un protozoo flagelado, descrito en 1909 por Carlos Chagas y transmitido al hombre naturalmente a través de las deyecciones de insectos hematófagos de la familia Reduviidae, que después de alimentarse depositan sus heces en la piel, permitiendo la penetración del parásito al mamífero susceptible por soluciones de continuidad, tales como heridas o el propio orificio dejado por la picadura del vector (1).

En 1936, Salvador Mazza en Argentina, fue el primero en referirse a la posibilidad de transmisión de la Enfermedad de Chagas por transfusión de sangre en humanos. Sin embargo, en 1945 en ese mismo país, Bacigalupo alertó sobre el problema de Chagas Transfusional y luego Enmanuel Dias en Brasil recomendó excluir a los donadores de sangre portadores de *Trypanosoma cruzi* (2). En Venezuela; Salazar, Arends y Maekelt, señalaron en 1962 que de 23 individuos que recibieron sangre de donantes seropositivos, 3 adquirieron Chagas postransfusional (3).

La infección iatrogénica por transfusión sanguínea, aunque de menor impacto epidemiológico, se conocen como la segunda vía de infección en zonas endémicas y la primera en países no endémicos (4, 5). Teniendo presente que el riesgo de transmisión transfusional depende de: prevalencia de la infección entre los donantes, alcance del diagnóstico serológico, sensibilidad de las pruebas utilizadas, seguridad de los resultados obtenidos (6) y número de transfusiones recibidas por el receptor (7), estando más expuestos: individuos con trastornos hematológicos, neonatos o pacientes con compromiso inmune (HIV positivos, neoplasias en tratamiento con radioterapia o quimioterapia). Se estima que el riesgo de transmisión por cada unidad de sangre infectada es de 14 a 49% (8), mientras que con sangre de portadores crónicos es de 10 a 20 %, tal vez debido a la parasitemia intermitente (1).

En 1991 durante el encuentro del Programa Iniciativa del Cono Sur se definió el control serológico pre transfusional en todos los países, cuyo diagnóstico debería ser realizado a través de dos métodos serológicos con principios diferentes (2), resultados negativos en ambas pruebas lo clasificaran como no infectado, una disparidad entre los resultados, es considerado sospechoso, y esto hace necesario realizar un tercer método para definir el estado de dicha persona (3), ya que diferentes métodos aumentan la sensibilidad, disminuyendo el riesgo de transmisión (9). Ya

que no existe “patrón oro” la Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda para la determinación de anticuerpos anti *T. cruzi* la realización de tres pruebas serológicas: Ensayo Inmunoenzimático (ELISA), Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) y la técnica de Aglutinación Directa (TAD).

Venezuela esta entre los países que realiza al 100% de donantes detección de anticuerpos contra *T. cruzi*, en el Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” del Hospital Central Universitario “Antonio María Pineda” de la ciudad de Barquisimeto se realiza como única técnica diagnóstica el Ensayo Inmunoenzimático (ELISA); registros del año 2002 reportan 0,65% casos seropositivos entre los donantes voluntarios.

En este estudio se propuso evaluar la importancia de la utilización de métodos serológicos con diferentes principios recomendados por la OMS y el examen utilizado en de rutina por Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” y su relación con antecedentes epidemiológicos para la Enfermedad de Chagas.

MATERIALES Y METODOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal para el diagnóstico anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* según metodología recomendada por la OMS y la utilizada en el Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada” de Barquisimeto y su relación con antecedentes epidemiológicos para la Enfermedad de Chagas. El universo al igual que la muestra estuvo representado por 1077 donantes que asistieron al Banco de Sangre en el período Agosto – Septiembre de 2003.

Previo consentimiento de los donantes a participar en el estudio, se realizó la toma de la muestra de sangre por punción venosa, y el suero se almaceno a -70°C hasta su procesamiento, al mismo tiempo se aplicó un cuestionario estructurado, que constó de tres partes; datos personales, antecedentes epidemiológicos como: conocimiento y picadura del vector, residencia en área rural y donación sanguínea anterior, y una tercera parte contenía los resultados obtenidos en la muestra tanto en Banco de Sangre mediante BioELISA, como por los tres métodos recomendados por la OMS para la detección de anticuerpos anti *T. cruzi* (IgG): Aglutinación Directa (TAD), Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), Ensayo Inmunoenzimático (ELISA) (10) cuyo criterio de positividad fue la detección de anticuerpos en dos de las tres pruebas utilizadas.

Los resultados del estudio fueron representados en tablas y gráficos, utilizándose como medida de resumen los porcentajes y pruebas de contingencia para determinar la sensibilidad, especificidad y el valor predictivo.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos durante este estudio, determinaron que de los 1077 donantes que acudieron en el periodo agosto – septiembre 2003, de acuerdo al género 85,67% corresponden al sexo masculino, mientras 12,35% al sexo femenino. De acuerdo a la edad la muestra esta estuvo entre 18 y 58 años, representando 49,30% el grupo de edad de 18-28 años, seguido de los otros grupos 29 – 38 años 29,90%, 39 – 48 16,62% y 49 – 58 4,18%.

Independiente de los métodos diagnósticos utilizados todos los individuos con anticuerpos para *T. cruzi* pertenecen al género masculino, representando el 0,46% los resultados cuando se utilizo una prueba (BioEILISA) por Banco de Sangre (Tabla 1) y 0,65% cuando se utilizaron tres métodos (TAD, IFI, ELISA) como recomienda la OMS (Tabla 2), con predominio del grupo de 39-48 años.

Al contrastar los resultados de los dos esquemas de tamizaje, se obtuvo 100% de especificidad en la prueba empleada en el banco de sangre, con una sensibilidad del 71%, respecto a la metodología diagnóstica que emplea más de una prueba (Tabla 3).

En relación con los antecedentes epidemiológicos de los participantes del estudio 65,37% conocían el vector, de los cuales 1,11% manifestó haber sido picado, mientras que 42,99 % había estado residenciado en áreas rurales. De aquellos que resultaron seropositivos ninguno manifestó antecedentes de picadura del vector, mientras que 100% de los positivos habían donado sangre en este mismo centro en el pasado.

Tabla 1
Distribución por edad y presencia de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* mediante metodología recomendada por la OMS en donantes voluntarios que asistieron al Banco de Sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" Agosto – Septiembre de 2003.

Edad	Seropositivo		Seronegativo		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
18 – 28	2	28,57	529	49,44	531	49,30
29 – 38	-	-	322	30,09	322	29,90
39 – 48	3	42,86	176	16,45	179	16,62
49 – 58	2	28,57	43	4,02	45	4,18
TOTAL	7	100	1070	100	1077	100

Del total de donantes con anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* mediante metodología recomendada por la OMS fue de 42,86 % para el grupo de edad entre 39 – 48 años y 28,57 % de 18 – 28 años y de 49 – 58 años respectivamente, con una prevalencia total de 0,65%.

Tabla 2
Distribución por edad y presencia de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes voluntarios según Banco de Sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" lapso Agosto – Septiembre de 2003.

Edad	Seropositivo		Seronegativo		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
18 – 28	1	20	530	49,44	531	49,30
29 – 38	-	-	322	30,04	322	29,90
39 – 48	3	60	176	16,42	179	16,62
49 – 58	1	20	44	4,10	45	4,18
Total	5	100	1072	100	1077	100

Del total de donantes con anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* según Banco de Sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" fue de 60% para el grupo de edad entre 39-48 años y 20% de 18-28 años y de 49-58 años respectivamente, para una prevalencia total de 0,46%.

Tabla 3
Resultado del diagnóstico en banco de sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" con respecto a metodología recomendada por la OMS para la detección de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en donantes voluntarios lapso Agosto – Septiembre de 2003.

Metodología del Banco de Sangre	Metodología OMS		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	5 ^a	0 ^c	5
Negativo	2 ^d	1070 ^b	1072
Total	7	1070	1077
^a VPP = 1% ^b VPN = 99% Sen. = 71% Esp. = 100%			

El método diagnóstico aplicado en el Banco de Sangre "Dr. José Jesús Boada Boada" presentó 100% de especificidad, congruente con el valor predictivo negativo de 99%, con un 71% de sensibilidad respecto al diagnóstico realizado por tres métodos, recomendado por OMS, con 28,5% de falsos negativos.

DISCUSION

Desde que Mazza en 1936 sugirió la posibilidad de transmisión del *T. cruzi* por vía sanguínea criterio compartido por otros investigadores (11), transcurrieron 13 años hasta que se encontraron donadores seropositivos y 16 años hasta que Freitas determino los primeros dos casos de infección iatrogénica por transfusión en Sudamérica, (12), mayor relevancia aún tomo esta vía de infección cuando fueron

reconocidos casos en Canadá, donde no existe transmisión natural (13). La importancia del seguimiento continuo a este mecanismo de infección resulta trascendente en áreas endémicas, es por esto que los resultados del estudio realizado en 1077 donantes voluntarios, en su mayoría hombres 87,65%, que acudieron al Banco de Sangre “Dr. José Jesús Boada Boada”, donde se realiza de rutina tamizaje para anticuerpos anti *T. cruzi*, con BioELISA Chagas como único método, reportó 0,46% de seroprevalencia entre los donadores, mientras que la misma muestra al ser analizada por tres pruebas diagnósticas con diferente fundamento (TAD, IFI, ELISA) obtuvo 0,65% de prevalencia.

Esto resalta la necesidad de realizar el tamizaje en los Bancos de sangre basados en pruebas en paralelo, que aumenten la probabilidad diagnóstica (14). Lo que reduciría la probabilidad de recibir una unidad de sangre infectada, especialmente en áreas endémicas de baja prevalencia, como informa OMS/OPS (2002) que reporta un índice de seroprevalencia de 8,3% en Venezuela predominando en las regiones occidental y central, en este sentido la sugerencia de utilizar más de una prueba diagnóstica, se ha realizado a los Bancos de Sangre a través de diferentes comités de expertos nacionales (15, 16).

Las medidas preventivas en las últimas décadas dirigidas a eliminar la forma natural de la infección, se reflejan en los resultados de estudios previos realizados en nuestro país, donde se observaba mayor prevalencia entre donadores en el periodo 1993-1997, alcanzando valores de 13,20% a 7,80% respectivamente, lo que refleja la tendencia de reducción de la transmisión entre la población (7).

La discrepancia de los resultados al evaluar una misma muestra por diferentes técnicas, e incluso por la misma técnica en diferentes momentos dificulta el diagnóstico, esto se ve corroborado con el grupo de donantes que resultaron seropositivos en este estudio, todos habían resultado seronegativos en evaluaciones anteriores en este centro, siendo aceptados como donantes. Durante este estudio los siete (0,65%) positivos, dos fueron negativos por la prueba diagnóstica única, utilizada en Banco de Sangre.

Al analizar la prueba empleada de rutina en el tamizaje se tiene 100% de especificidad, permitiendo concluir que clasificará adecuadamente un individuo sano, sin embargo la posibilidad de diagnosticar correctamente un infectado con este único examen estará limitado por presentar 71% de sensibilidad, cuando se contrasta con el uso de tres metodologías diferentes para un mismo diagnóstico (Tabla 3).

En la actualidad no existe una prueba lo suficiente sensible y específica para demostrar anticuerpos para *T. cruzi*, muchos de los resultados arrojan 1% – 3% de falsos positivos por reacciones cruzadas, pero la verdadera batalla está en poder reducir los falsos negativos con el uso de al menos dos exámenes paralelos (17).

En relación con los antecedentes epidemiológicos, se deben tomar en cuenta la migración de la población de las áreas rurales a las ciudades, como elemento que aumenta la posibilidad que un infectado en fase inaparente se convierta en donador, por consiguiente aumenta el riesgo de infección por transfusiones, de los donantes estudiados 42,85% habitaron en área rural y 85,71% conocía el vector, sugiriendo al menos en áreas endémicas un dato a ser tomado en cuenta entre los posibles donantes, para disminuir el riesgo sin que esto signifique un diagnóstico a priori, la alternativa es implementar una prueba de tamizaje sensible que anule el riesgo de infección transfusional, acompañada de un método específico que garantice el diagnóstico correcto al portador (donador) y hemoderivados seguros a los usuarios de los Bancos de Sangre.

AGRADACIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por: Proyecto Integral de Chagas, Vicerrectorado académico, CDCHT, Dirección de Extensión Universitaria de la Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ACAD, FELIPE. Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana. Situación actual en Colombia. (consulta: 13 de junio de 2003) <http://www.fepafem.org/anm/220253.htm>.
2. DIAS JCP, SCHOFIELD 1998. Transfusional transmission control of Chagas disease in the Southern Cone initiative. Rev. Soc. Bras Med Trop 31: 373 – 383.
3. STORINO R, MILEY J. Chagas Transfusional. 1ª edición. Argentina. División Mosby; 1994. p: 279 – 350.
4. CERISOLA JA, RABINOVICH A, ÁLVAREZ M. Enfermedad de Chagas y la transfusión de sangre. 1972. Bol. Of. Sanit Panam. 73: 203 – 221.
5. PINTO DIC. Chagas disease and blood transfusion. 1984 Mem. Inst Oswaldo Cruz, 79: 139 – 147.
6. MORAES – SOUZA, HELIO. Chagas Infection Transmission Control: Situation of Transfusional in Brazil and other

- countries of Latin America. Mem. Institute Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 1999; 94. Suppl I: 419 – 423.
7. SCHMUNIS, GABRIEL. Riesgo de la Enfermedad de Chagas a través de las Transfusiones en las América. Simposio Internacional Academia Nacional de Medicina. Buenos Aires, Argentina. 1999. 59. Suppl II: 125 – 134.
 8. SCHMUNIS, GA. 1991. *Trypanosoma cruzi*, the etiologic agent of chagas disease; status in the blood supply in endemic and no endemic countries. Transfusion 31: 547 – 555.
 9. WENDEL, SILVANO. Transfusion – transmitted Chagas disease. Current Opinion in Hematology. Brazil. 1998; 5: 406 – 411.
 10. AÑEZ, N et al. 1999. Acute Chagas disease in West Venezuela: A clinical, seroparasitologic and epidemiologic study. Am. J. Trop. Med. Hyg., 60 (2) 215 – 222.
 11. BACIGALUPO J. 1948. Enfermedades parasitarias y transfusión sanguínea. Día Med. 20: 425 – 426.
 12. FREITAS JLP. Et al 1952. Primeiras verificaciones de transmissao accidental de molestia de Chagas ao homen por transfusao de sangue. Rev. Paul. Med. 30: 36 – 40.
 13. NICKERSON P. et al 1989. Transfusión – associated *Trypanosoma cruzi* infection in a non – endemic area. Ann INT. Med. 111: 849 – 851.
 14. PITA FERNANDEZ S, PÉRTIGAS DÍAZ S. 2003. Pruebas diagnósticas. Cad Aten Primaria 10: 120 – 124.
 15. Boletín de malariología y Saneamiento ambiental. 2000. Vol XL N° 1 y 2 67 – 70.
 16. GARCÍA R et al 2001. Primer consenso venezolano sobre la enfermedad de Chagas. Avances Cardiológico. 21 (1): 14 – 23.
 17. CORTÉS A., JUL F., BARRAZA M. Enfermedad de chagas transfusional en cali, colombia. 1995. Colombia Médica. 26: 6 – 11.