

COMPARACION DE LAS REACCIONES DE MACHADO GUERREIRO Y AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX EN EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Ivonne Quevedo C. *

INTRODUCCION

La enfermedad de Chagas por su amplia difusión constituye la principal epidemia rural en Venezuela, su vector más importante el *Rhodnius prolixus* (Stal, 1.859) se encuentra ampliamente difundido en todo el territorio nacional, y prevalece tanto en las llanuras como en las regiones montañosas hasta los 2.000 metros sobre el nivel del mar, aun cuando predomina entre los 400 a 1.200 metros.

El agente etiológico *Trypanosoma cruzi* (Chagas, 1.909) es capaz de invadir el miocardio y determinar una cardiopatía en aproximadamente el 25% de los casos.

Las consideraciones anteriores, nos llevaron a comprender la importancia del diagnóstico de esta infección y la necesidad de evaluar cada nueva prueba que permita hacer más fácil su diagnóstico tanto en ambientes urbanos como rurales.

* Profesor Asistente de la Cátedra de Parasitología.

Desde el año 1.913 cuando Guerreiro y Machado (1) prepararon un antígeno para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas, mediante la Reacción de Fijación de Complemento, se han publicado numerosas modificaciones a la técnica original, entre las cuales podemos mencionar la realizada por Pedreira de Freitas (2) quien logra preparar un antígeno purificado a partir de formas de cultivo de *Trypanosoma cruzi*.

Actualmente esta Prueba, conocida en nuestro medio como Reacción de Machado-Guerreiro constituye el método más útil para el diagnóstico serológico de la infección chagásica, particularmente durante la fase crónica en la cual es muy difícil aislar el parásito a partir de la sangre del paciente sospechoso.

Basados en la utilidad reconocida del Machado-Guerreiro para el diagnóstico de la infección por *Trypanosoma cruzi* tanto en el campo de la investigación clínica como en las encuestas serológicas (3), decidimos tomar como parámetro comparativo esta prueba para determinar la Concordancia y Discordancia de sus resultados con los obtenidos al utilizar la prueba de aglutinación de partículas de látex, sensibilizadas con antígeno de *Trypanosoma cruzi*, a fin de verificar la eficacia de esta prueba para el serodiagnóstico de la Enfermedad de Chagas.

La prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi*, es una prueba de fácil y rápida realización, considerada por Vattuone (4), como una reacción capaz de detectar anticuerpos para *Trypanosoma cruzi* en la etapa aguda de la Trypanosomiasis americana, y sobre todo de gran utilidad para estudios seroepidemiológicos, por la gran facilidad de practicar microtitulaciones. Hoshino y cols. (5) resaltan la capacidad que tiene la prueba para detectar anticuerpos tanto en la etapa aguda como en la crónica de la infección. Esto, unido a la simplicidad de la misma aumenta su valor para el diagnóstico serológico, en casos en que se sospeche la Enfermedad de Chagas tanto en condiciones hospitalarias como rurales.

MATERIAL Y METODOS

Procesamos 104 muestras diferentes de sueros sanguíneo humano, provenientes de donantes voluntarios de sangre. Cada uno de los sueros fueron procesados a doble ciego, con la Reacción de Fijación de Complemento (Prueba de Machado-Guerreiro), y la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno para Chagas en lámina, con el objeto de determinar la correlación existente entre ambas pruebas.

La Reacción de Fijación de Complemento (Prueba de Machado-Guerreiro), fue procesada cualitativamente en el Laboratorio del Banco de Sangre del Estado Zulia, utilizándose una suspensión de antígeno liofilizado según la preparación de Maekelt* (6).

Para la realización de la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi* en lámina, utilizamos un lote de Kit comercial "Chagas látex", siguiendo las pautas establecidas por la casa fabricante**, con la salvedad de que los sueros utilizados fueron inactivados a 56°C, antes de ser procesados. Esta modificación se practicó, siguiendo la experiencia que señalan Rodríguez y cols. (7), donde aprecian una mejor nitidez en la aglutinación de los sueros procesados con el equipo de "Chagas látex", siempre que estos sueros fuesen inactivados previamente; de igual forma observan una alta concordancia en los resultados cuando se practican cualitativamente las reacciones de Machado-Guerreiro y aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi*, luego de inactivar el suero problema.

RESULTADOS

De la evaluación a que fueron sometidas las 104 muestras de suero sanguíneo provenientes de donantes voluntarios de sangre, como puede apreciarse en el Cuadro No. 1, 10 resultaron positivos para Machado-Guerreiro de los cuales, 10 también lo fueron para látex sensibilizado con antígeno de *T. cruzi*; igualmente de los 88 sueros negativos para Machado-Guerreiro, 83 resultaron negativos para látex sensibilizado con antígeno de *T. Cruzii*.

En el Cuadro No. 2 expresamos el porcentaje de concordancia entre ambas pruebas, el cual fué de 89.4% y un porcentaje de discordancia entre las pruebas del 10.6%.

El Cuadro No. 3, muestra los resultados positivos y negativos con sus porcentajes, obtenidos en las pruebas de látex sensibilizado con antígeno de *T. Cruzii* y Machado-Guerreiro, y apreciamos que de los 104 sueros sanguíneos, 15 (14%) son positivos y 89 (85.6%) son negativos para la prueba

* Instituto de Medicina Tropical. Universidad Central de Venezuela.

** Behringwerke Ag. Marburg-Lahn.

CUADRO N^o 1. RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS OBTENIDOS CON LAS REACCIONES DE AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX SENSIBILIZADAS CON ANTIGENO DE *T. CRUZI* Y FIJACION DE COMPLEMENTO (MACHADO GUERREIRO). Maracaibo, 1977-1979.

LATEX	MACHADO - GUERREIRO		
	POSITIVO	NEGATIVO	TOTAL
POSITIVO	10	5	15
NEGATIVO	6	83	89
TOTAL	16	88	104

CUADRO N^o 2. CONCORDANCIA Y DISCORDANCIA DE LOS RESULTADOS OBTENIDOS CON LAS REACCIONES DE AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX SENSIBILIZADAS CON ANTIGENO DE *T. CRUZI* Y FIJACION DE COMPLEMENTO (MACHADO-GUERREIRO). Maracaibo, 1977-1979.

PRUEBAS	No. de casos	%	CASOS
Machado-Guerreiro Positivo y Látex Positivo	10	9.7 %	93
Machado-Guerreiro Negativo y Látex Negativo	83	79.7 %	
Machado-Guerreiro Positivo y Látex Negativo	6	5.8 %	11
Machado-Guerreiro Negativo y Látex Positivo	5	4.8 %	
TOTAL	104	100 %	100 %

CUADRO N° 3. RESULTADOS POSITIVOS Y NEGATIVOS Y SUS PORCENTAJES CON LAS REACCIONES DE AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX SENSIBILIZADAS CON ANTIGENO DE *T. CRUZI* Y FIJACION DE COMPLEMENTO (MACHADO-GUERREIRO) EN EL DIAGNOSTICO SEROLOGICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS. Maracaibo, 1977-1979.

PRUEBAS	POSITIVO	%	NEGATIVO	%	TOTAL
LATEX	15	14.4	89	85.6	104
MACHADO GUERREIRO	16	15.4	88	84.6	104

de látex sensibilizada con antígeno de *T. cruzi*. Con el Machado-Guerreiro, 16 (15.4%) fueron positivos y 88 (84.6%) negativos. Estas mismas cifras están representadas en el Gráfico No. 1 en barras, expresando los resultados positivos y negativos con sus respectivos porcentajes.

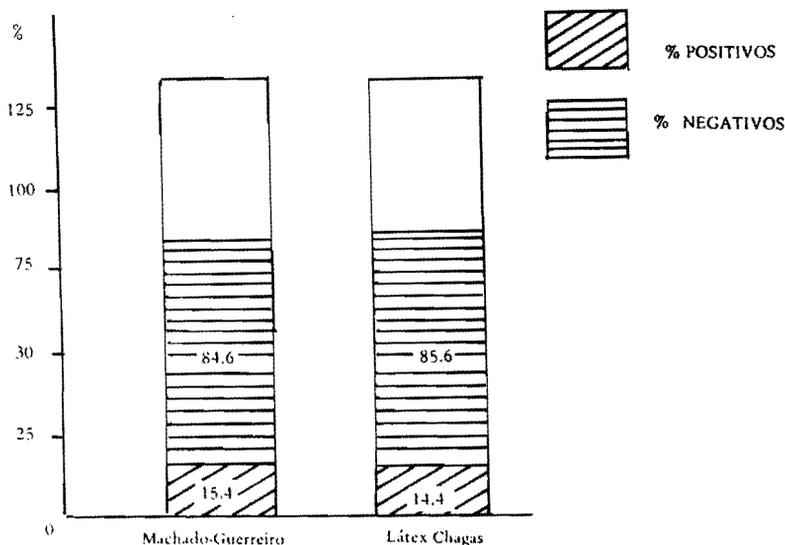
En relación con la positividad entre ambas pruebas y sus respectivos porcentajes se aprecian en el Cuadro No. 4, que del total de 104 sueros sanguíneos analizados, 16 (15.4%) resultaron positivos para el Machado-Guerreiro, y 15 (14.4%) fueron positivos para el látex sensibilizado con antígeno de *T. cruzi*.

Analizando nuestros resultados mediante estudio estadístico, se aplicó la prueba de proporciones correlacionadas según Mc Nemar, donde se comprueba que no existen diferencias significativas en los resultados cualitativos entre ambas pruebas.

CUADRO N° 4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS RESULTADOS POSITIVOS OBTENIDOS CON LAS REACCIONES DE AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX SENSIBILIZADAS CON ANTIGENO DE *T. CRUZI* Y FIJACION DE COMPLEMENTO (MACHADO-GUERREIRO). Maracaibo, 1977-1979.

POSITIVIDAD			
PRUEBA	No.	POSITIVOS	%
MACHADO GUERREIRO	104	16	15.4 (P1)
LATEX	104	15	14.4 (P2)
DIFERENCIA P1 - P2 = 1			

GRAFICO N° 1. GRAFICO COMPARATIVO DE LOS PORCENTAJES POSITIVOS Y NEGATIVOS ENTRE LAS REACCIONES DE AGLUTINACION DE PARTICULAS DE LATEX CHAGAS Y FIJACION DE COMPLEMENTO (MACHADO-GUERREIRO). Maracaibo, 1977-1979.



DISCUSION

Si comparamos los resultados de nuestra experiencia con los obtenidos por Pellegrino y cols. (8), quienes reportan 87.7% y 95% de concordancia entre la Reacción de Fijación de Complemento y la Prueba de Aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno para Chagas, observamos que son ligeramente inferiores las cifras de nuestra casuística, a las mencionadas por dichos autores. Enders y cols. (9), reportan una concordancia del 88%, cifra similar a la obtenida en nuestra experiencia.

Baruffa y cols. (10), practicando las pruebas de aglutinación de partículas de látex sensibilizado con antígeno de *Trypanosoma cruzi* e inmunofluorescencia, obtienen una concordancia del 97.9%.

Knierin y cols. (11), utilizando diferentes lotes de antígeno de látex sensibilizados con *T. cruzi*, y comparando esta prueba (aglutinación) con la de hemaglutinación indirecta, reportan resultados del 77% y 87.3% de concordancia en casos positivos entre ambas pruebas.

Las variaciones en los valores de sensibilidad y especificidad de los diferentes antígenos contra *Trypanosoma cruzi*, puede ser debido a lo que señalan Goodwin y cols. (12), quienes refieren “la Trypanosomiasis tiene una depresión inmunológica mucho mayor que otras enfermedades en presencia de un agente infectante, y, que en muchas ocasiones el desarrollo de anticuerpos aglutinantes heterófilos, es determinado por modificaciones de las proteínas del huésped, tejidos dañados o activación de antígenos”.

En relación a la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi*, son diversos los factores que determinan variaciones en cuanto al valor de la prueba, sobre todo en lo que a preparación antigénica se refiere, lo que hace muchas veces que aparezcan aglutinaciones espontáneas. En numerosas experiencias se ha tratado de eliminar esta dificultad, como señalan Schimuñis y cols. (13), cuando logran preparar una suspensión antigénica de formas epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*, tratadas con tripsina y formalina, con lo cual logran detectar un mayor número de anticuerpos para *Trypanosoma cruzi*, sobre todo en los casos crónicos de la Enfermedad de Chagas.

CONCLUSIONES

- 1.- Las pruebas de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi* y la Reacción de Fijación de complemento (Prueba de Machado-Guerreiro), coinciden cualitativamente en sus resultados positivos y negativos. Aplicando la prueba de proporciones correlacionadas según Mc Nemar, no encontramos diferencias significativas entre los resultados cualitativos entre ambas pruebas ($p < 0.05$).
- 2.- Apreciamos un elevado porcentaje de concordancia (89.4%) entre los resultados de la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi* y la Reacción de Fijación de Complemento (Machado-Guerreiro) y solo un 10.6% de discordancia entre ambas pruebas.
- 3.- La facilidad y rapidez para su montaje y lectura, el bajo costo y lo sencillo del equipo a utilizar, hacen de la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi* una prueba útil en encuestas seroepidemiológicas, así como en el serodiagnóstico de la Enfermedad de Chagas, tanto en ambientes hospitalarios como rurales.

- 4.- En relación a futuros trabajos, se debe hacer hincapié sobre la posibilidad de obtener mejores resultados utilizando antígenos más puros, así como, el empleo de sueros inactivados, debido a una mayor nitidez al observar la aglutinación durante la lectura.

RESUMEN

Se realizó una evaluación de la prueba de aglutinación de partículas de látex sensibilizadas con antígeno de *T. cruzi* para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas, con el objeto de determinar la concordancia y discordancia de los resultados al compararlos con la Reacción de Fijación de Complemento (Machado-Guerreiro).

Utilizamos 104 sueros provenientes de donantes voluntarios de sangre, a cada uno de los cuales se les practicó ambas pruebas. De los resultados obtenidos en las mismas apreciamos un 89.4% de concordancia y 10.6% de discordancia.

El análisis estadístico de nuestros resultados, revela que las diferencias observadas en nuestro estudio, no son significativas.

AGRADECIMIENTO

Agradecimiento al Banco de Sangre del Estado Zulia, por la realización de la Reacción de Fijación de Complemento.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- GUERREIRO C., Machado A.- Da reacáo de Bordet e Gengou na molestia de Carlos Chagas como elemento diagnóstico. *Brasil-Med.* 27:225-226, 1913.
- 2.- PEDREIRA DE FREITAS, J.L., Almeida, J.O.- Nova tecnica de Fixação de complemento para molestia de Chagas (reacáo quantitativa com antígeno gelificado de cultura, de *Trypanosoma cruzi*), *Hospital*, 35:787, 1949.
- 3.- NÚÑEZ, M.A., Arteaga, P.R., Montilla, P.L.- Estudio sobre la incidencia chagásica en donantes del Banco de Sangre del Estado Zulia. *Kasmera* 3 (2): 159-165 1969.
- 4.- VATTUONE, N, Ullises J. Pesce.- Evaluación de un antígeno de aglutinación de epimastigotas de *Trypanosoma cruzi*. *Bol. Chil Para* Vol. 26, Nos. 1 y 2 Enero-Junio 1971.

- 5.- HOSHIMO, S, Schimizu; Camargo, M. and Umezawa, E.- A rapid slide flocculation test for the diagnosis of american Trypanosomiasis using *Trypanosoma cruzi*. Fragments preserved by iyophilization. *Amer. Trop. Med. and Hyg.* Vol. 24. (4): 586-589, 1975.
- 6.- MAEKELT, G.A.- Die Komplementbindungsreaktion der Chagas Krankheit *Ztsch. Tropenmed und Parasit.* 11:152-168, 1960.
- 7.- RODRIGUEZ, A., Yumar G, Bosch N. de.- Comparación de la Reacción FC' con el Chagas látex (Behringwerke Ag) para la detección de enfermedad chagásica en donantes de sangre. Resumen presentado Jornadas Nacionales de Hematología. Mérida-Venezuela, 1974.
- 8.- PELLEGRINO J, Katz N.- Comparision of the látex slide agglutination and complement fixation test for the diagnosis of Chagas disease. *J. Parasit.* 1971. Vol. 57, No. 4.771. *En Trop. Dis. Bull.* Vol. 69, No. 2. p: 101, 1972.
- 9.- ENDERS B, Hungerer., K.D. Zirunier, O.- Survey on experiences with látex-chagas test in various contries. *Tropen. Med. Parasit.* 26 (2):252-260, 1975. *En Trop. Dis. Bulls.* 72 (10):870-1, 1975.
- 10.- BARUFFA, Giovanni.- Alcantara Alcino.- Comparacao entre o Reagente Chagas-Látex e a imunofluorescencia no diagnóstico serológico da doenca de Chagas nazona Sui do Rio Grande do Sui. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* Vol. VII. No. 5, p: 329-332, 1973.
- 11.- KNIERIM, F., Eskuche, G., Sandoval, L.&Muñoz, E.- Reacción de Aglutinación con látex para el diagnóstico serológico de Enfermedad de Chagas. (Latex agglutination reactions for the serological diagnosis of Chaga's disease). *Bol. Chil. Para.* 1971, v. 26, No. 1-2: 32-5. *En Trop. Dis. Bull.* Vol. 69, No. 4. p: 279- 1972.
- 12.- GOODWITH, L.G., Green, D.G., Guy, M. & Voller, A.- Immunosupression during Trypanosomiasis. *Br. J. Exp. Path.* 1972. V. 53, No. 1.40-43. *En Trop. Dis. Bull.* Vol. 69. No. 9. p:893, 1972.
- 13.- SCHIMUNIS, G.A., A. Szarfman, and N.H. Vattuone. Direct agglutination test in the detection anti- *Trypanosoma cruzi* anti body in mice. *J. Parasit.* 58:1006-1007, 1972.