



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR

SEDE CENTRAL

Sucre- Bolivia

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN
“ANÁLISIS CLÍNICOS - IV VERSIÓN”**

**SEROPREVALENCIA Y VERIFICACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y
ESPECIFICIDAD DE LAS TÉCNICAS SEROLÓGICAS UTILIZADAS EN EL
DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL
DEPARTAMENTO DE POTOSÍ
JUNIO – NOVIEMBRE 2013**

**Tesis presentada para obtener El Grado
Académico de Magister en “Análisis
Clínicos”**

MAESTRANTE: Martha Mamani Vagas

**Potosí – Bolivia
2014**



UNIVERSIDAD ANDINA SIMÓN BOLÍVAR

SEDE CENTRAL

Sucre- Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRÍA EN

“ANÁLISIS CLÍNICOS -IV VERSION”

**SEROPREVALENCIA Y VERIFICACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y
ESPECIFICIDAD DE LAS TÉCNICAS SEROLÓGICAS UTILIZADAS EN EL
DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL
DEPARTAMENTO DE POTOSÍ
JUNIO – NOVIEMBRE 2013**

**Tesis presentada para obtener El Grado
Académico de Magister en “Análisis
Clínicos”**

MAESTRANTE: Martha Mamani Vargas

TUTORA: Msc. Carolina Olivia Vilaseca V.

**Potosí – Bolivia
2014**

**Este trabajo va dedicado a: Mí
querida Hijita Mérida Valquiria,
Que fue mi razón de esfuerzo Para
terminar el curso**

AGRADECIMIENTOS

A Dios, ser supremo que me da la vida, salud y fortaleza para seguir adelante en todo momento

Por permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi vida y lograr otra meta más en mi carrera.

A mis padres, por su apoyo constante, quienes me infundieron la ética y el rigor que guían mi transitar por la vida.

A mi madre: por que no existen palabras que puedan expresar su amor incondicional

A mí respetada y apreciada tutora Msc. Carolina Villaseca V. quien colaboró, guió con su amplio saber en parasitología, brindándome su apoyo, conocimiento científico y confianza en la realización de este trabajo

A la Universidad Andina Simón Bolívar, que supo acogerme en sus aulas y me permitió ampliar mis conocimientos

A los docentes del programa, el reconocimiento por el sacrificio compartido y el compromiso por coadyuvar en el desarrollo de la ciencia

Al Laboratorio de Regional de Chagas, por acogerme y brindarme apoyo y amistad

A mis compañeros y amigos por haber compartido tantos momentos gratos.

RESUMEN

Antecedentes: La enfermedad de Chagas no solo es un problema de salud pública, en Bolivia constituye la segunda causa de mortalidad en aquellos pacientes, agudos o crónicos, que desarrollan lesiones cardíacas graves, las que determinan la muerte por insuficiencia cardíaca, con una mayor incidencia en niños de corta edad e inmunodeprimidos.

No existe una prueba Gold estándar para el diagnóstico del *Trypanosoma cruzi* a pesar de que se realizaron una gran cantidad de pruebas serológicas desarrolladas y estandarizadas, la Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomienda el uso de dos pruebas serológicas con diferente fundamento para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Las que pueden ser utilizadas como la prueba rápida de Inmunocromatografía, HAI, ELISA convencional o con antígeno recombinante en caso de discordancia

Objetivo: Determinar la seroprevalencia y verificar la sensibilidad y especificidad de las técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

Metodología: El tipo de la investigación fue observacional, de tipo transversal o de prevalencia con un componente analítico. La población de estudio estuvo constituida por 253 pacientes que acudieron para el diagnóstico serológico al Laboratorio Regional de Chagas de Potosí de junio a noviembre de 2013.

El análisis de datos se realizó mediante el programa para análisis epidemiológico de datos tabulados de EPIDAT 3.0

Resultados: Los resultados muestran una seroprevalencia de 52,60 %, la mayor frecuencia de pacientes con resultado positivo estuvo comprendida entre los 21 a 50 años, y con menor porcentaje en pacientes menores de 20 años. Según procedencia los pacientes de Puna (24,10%) Betanzos (15,80%) y Potosí (15,0%), presentaron prevalencias de la enfermedad más elevadas en comparación con los demás Municipios, los casos positivos detectados en la ciudad de Potosí fueron de pacientes inmigrantes de zonas endémicas o con una posible transmisión congénita.

Por orden de importancia de la prueba de ELISA convencional presenta una sensibilidad de 98,48% y una especificidad de 99,17% valores que garantizan la utilización de este test como prueba confirmatoria para esta enfermedad.

En cuanto a la prueba de descarte HAI de la industria Polychaco (Argentina) también presentan una sensibilidad de 96,24% y una especificidad de 96,67%, a una dilución de 1/16, datos que permiten confiar en los diagnósticos de descarte emitidos con muestras de la región.

Respecto a la prueba rápida por Inmunocromatografía Stat-Pak la sensibilidad detectada en el estudio fue de 95,48% y la especificidad de 97,5%, valores que de igual manera confiables para su utilización en zonas endémicas sobre todo rurales de nuestro medio

Conclusión: La seroprevalencia en la población de estudio fue de 52,60%, con mayor frecuencia de casos positivos en pacientes comprendidos entre los 21 a 50 años.

Por orden de importancia de las pruebas se concluye que la prueba de ELISA convencional (Wiener de fabricación Argentina) presentó una sensibilidad de 98,48% y una especificidad de 99,17%.

En cuanto a la prueba de descarte HAI de la industria Polychaco (Argentina) también presentan una sensibilidad de 96,24% y una especificidad de 96,67%. Respecto a la prueba de tamizaje por Inmunocromatografía Stat-pack la sensibilidad detectada en el estudio fue de 95,48% y la especificidad de 97,5%. La verificación de los valores de sensibilidad y especificidad de las tres pruebas serológicas utilizadas: Inmunocromatografía, HAI y ELISA convencional, fueron superiores al 95%, por lo tanto constituyen una buena elección para el diagnóstico laboratorial de la enfermedad de Chagas en la población endémica. La verificación de la sensibilidad y especificidad de las técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en el laboratorio son similares a lo reportado por los proveedores de los reactivos

Palabras Claves: *Enfermedad de Chagas, sensibilidad y especificidad.*

ABSTRACT

Background: Chagas disease is not just a public health problem in Bolivia second cause of mortality in patients is acute or chronic, who develop severe cardiac lesions, which determine death by heart failure, with higher impact on young children and immunocompromised.

For the diagnosis of this disease there is no gold standard test even though a large number of developed and standardized serological tests were performed, the Pan American Health Organization (PAHO) recommends the use of two serological tests with different basis for diagnosis of this disease. This can be used as a rapid test Immunochromatography, HAI, conventional ELISA or recombinant antigen in cases of discrepancy.

Objective: To determine the seroprevalence and verify the sensitivity and specificity of serological techniques used in the diagnosis of Chagas disease.

Methodology: The type of research was observational, cross-sectional or prevalence with an analytical component. The study population consisted of 253 patients who came for the serological diagnosis of Chagas Regional Laboratory Potosi from June to November 2013.

Data analysis was performed using the program for epidemiological analysis of data tabulated EPIDAT 3.0.

Results: The results showed a seroprevalence of 52.60%, the highest frequency of positive patients ranged from 21 to 50 years, and less frequently in patients younger than 20 years. By origin Puna patients (24.10%) Betanzos (15.80%) and Potosí (15.0%) had the highest prevalence of disease compared to other municipalities, the positive cases detected in the city of Potosi patients were immigrants from endemic areas or a possible congenital transmission.

In order of importance it is concluded that the ELISA test conventional (Wiener manufacturing Argentina) has a sensitivity of 98.48% and a specificity of 99, 17% values that guarantee the use of this test as a confirmatory test for this disease.

As for testing the discard HAIDE Polychaco (Argentina) industry also have a sensitivity of 96.24% and a specificity of 96.67% at a dilution of 1/16, trust data enabling diagnoses discard issued region samples.

Regarding the rapid test for Immunochromatography Stat-Pak sensitivity detected in the study was 95.48% and specificity of 97.5%, equal values reliable way for use in mostly rural endemic areas of our country.

Conclusion: The prevalence in the study population was 52.60%, with higher frequency of positive cases included patients aged 21-50 years. In order of importance of the evidence it is concluded that conventional ELISA test (Wiener manufacturing Argentina) had a sensitivity of 98.48% and a specificity of 99, 17%. As HAI test discard the Polychaco (Argentina) industry also have a sensitivity of 96.24% and a specificity of 96.67% .Regarding screening test for Sta-pak Immunochromatography sensitivity detected in the study was 95.48% and specificity of 97.5%.

Verification of sensitivity and specificity of serologic tests used: Immunochromatography, HAI and conventional ELISA, were above 95%, therefore are a good choice for laboratory diagnosis of Chagas disease in endemic population these results are similar to those reported from the suppliers of the reagents.

Keywords: Chagas disease, sensitivity and specificity.

INDICE

Resumen

Abstract

CAPITULO I

INTRODUCCION

| | |
|---|----------|
| 1.1. Antecedentes..... | 1 |
| 1.2. Problema..... | 2 |
| 1.3 Justificación y uso de resultados..... | 4 |
| 1.4 Objetivos..... | 5 |
| 1.4.1 Objetivo general..... | 5 |
| 1.4.2 Objetivos específicos..... | 5 |

CAPITULO II

MARCO TEORICO Y CONTEXTUAL

| | |
|---|-----------|
| 2.1. Marco teórico..... | 6 |
| 2.1.1. Generalidades de la enfermedad de Chagas..... | 6 |
| 2.1.2. Agente causal de la enfermedad..... | 6 |
| 2.1.3. Trypanosoma cruzi..... | 6 |
| a) Ciclo de vida..... | 7 |
| b) Nosología General..... | 8 |
| 2.1.4. Evolución y Manifestación Clínica de la enfermedad de Chagas..... | 8 |
| a) Período Agudo..... | 9 |
| b) Periodo de Latencia..... | 10 |
| c) Periodo Crónico..... | 10 |
| d) Forma Digestiva..... | 11 |
| e) Forma Neurológica..... | 11 |
| 2.1.5. Pronostico y Tratamiento..... | 11 |
| a) Fármacos existentes..... | 12 |
| b) Fármacos en estudio | 12 |
| 2.1.6. Profilaxis de la enfermedad de Chagas..... | 12 |
| 2.1.7 Características de la enfermedad de Chagas..... | 13 |

| | |
|--|----|
| 2.1.8. Vías de Transmisión..... | 14 |
| a) Transmisión Vectorial..... | 14 |
| b) Transmisión por sangre..... | 15 |
| c) Transmisión congénita..... | 15 |
| d) Por contaminación accidental en el Laboratorio..... | 16 |
| 2.1.9. Diagnóstico de Laboratorio..... | 16 |
| a) Métodos Parasitológicos Directos..... | 16 |
| b) Métodos Parasitológicos Indirectos..... | 18 |
| c) Métodos serológicos..... | 19 |
| d) Pruebas no convencionales..... | 21 |
| 2.1.10. Calidad de una prueba Diagnóstica..... | 25 |
| a) Precisión y exactitud..... | 25 |
| a) Validez..... | 28 |
| b) Reproductividad..... | 28 |
| c) Seguridad..... | 28 |
| 2.1.11.La Validez de una Prueba Diagnóstica..... | 28 |
| 2.1.12. Sensibilidad y Especificidad..... | 29 |
| 2.1.13. La seguridad de una prueba diagnóstica Valores predictivos..... | 30 |
| a) Valor predictivo positivo..... | 31 |
| b) Valor predictivo negativo..... | 31 |
| 2.1.14. Gold estándar..... | 33 |
| 2.1.15. Curvas de ROC..... | 34 |
| 2.1.16. Ventajas y Desventajas de la curva ROC..... | 36 |
| 2.1.17. Aplicaciones de las curvas Roc..... | 36 |
| 2.2. Hipótesis..... | 37 |
| 2.3. Marco Contextual..... | 37 |
| 2.3.1. Bolivia..... | 37 |
| 2.3.2. Situación Geográfica de Bolivia..... | 38 |
| 2.3.3. Departamento de Potosí..... | 40 |
| 2.3.4. Laboratorio Epidemiología de Vectores de Potosí..... | 42 |
| 2.3.5. Situación Epidemiológica de Bolivia..... | 43 |
| 2.3.6. Situación Epidemiológica de Chagas en el Departamento De Potosí..... | 45 |

| | |
|--|----|
| 2.3.7. Mapa Endémico del Departamento de Potosí..... | 47 |
|--|----|

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

| | |
|---|----|
| 3.1. Enfoque, tipo y diseño de la investigación..... | 48 |
| a) Enfoque de la investigación..... | 48 |
| b) Tipo y diseño de la investigación..... | 48 |
| 3.2. Población y muestra..... | 48 |
| 3.3. Variables de estudio | 49 |
| a) Identificación de variables..... | 49 |
| - Variable dependiente..... | 49 |
| - Variables independientes..... | 49 |
| b) Diagrama de variables..... | 49 |
| 3.4. Criterios de inclusión y exclusión..... | 51 |
| a) Criterios de inclusión..... | 51 |
| b) Criterios de exclusión..... | 51 |
| 3.5. Proceso de recolección de la información..... | 51 |
| a) Fuente de recolección de información..... | 51 |
| b) Descripción de Instrumento | 51 |
| c) Análisis estadístico..... | 52 |
| 3.5.1 Cálculos de sensibilidad..... | 52 |
| 3.5.2. Cálculos de especificidad..... | 53 |
| 3.5.3. Cálculos de Valores Predictivos..... | 53 |
| a) Valore Predictivo Positivo..... | 53 |
| b) Valor Predictivo Negativo..... | 54 |
| 3.5.4. Razón de Probabilidad..... | 54 |
| a) Razón de Verosimilitud Positivo..... | 54 |
| b) Razón de Verosimilitud Negativo..... | 54 |
| 3.6. Métodos técnicas procedimiento para el análisis de las muestras... .. | 55 |
| 3.7. Delimitación de la investigación..... | 63 |
| a) Delimitación Geográfica..... | 63 |
| b) Sujetos..... | 63 |

| | |
|-------------------------------|----|
| c) Delimitación temporal..... | 63 |
|-------------------------------|----|

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

| | |
|--|----|
| 4.1 Resultados..... | 64 |
| 4.1.1 Resultados Descriptivos..... | 64 |
| 4.1.2 Resultados Bivariantes..... | 68 |
| 4.1.3. Cálculos de valores predictivos para las pruebas serológicas..... | 71 |
| 4.1.4. Elaboración de la curva ROC..... | 80 |
| 4.2 Discusión..... | 83 |

CAPITULO V

| | |
|--|-----------|
| CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES..... | 91 |
|--|-----------|

| | |
|------------------------|----|
| 5.1. Conclusiones..... | 91 |
|------------------------|----|

| | |
|---------------------------|----|
| 5.2. Recomendaciones..... | 93 |
|---------------------------|----|

Referencias Bibliográficas

ANEXOS

SEROPREVALENCIA Y VERIFICACIÓN DE LA SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS TÉCNICAS SEROLÓGICAS UTILIZADAS EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS EN EL DEPARTAMENTO DE POTOSÍ, JUNIO-NOVIEMBRE DE 2013

CAPITULO I INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes.

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una zoonosis descrita por primera vez por Carlos Chagas (1909). Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) existen alrededor de 16 a 18 millones de personas infectadas y 100 millones están en riesgo de enfermar, cincuenta mil mueren cada año por la infección, en los 18 países endémicos que abarcan desde el sur de Estados Unidos hasta Argentina y Chile. ¹

El porcentaje de mortalidad en el Chagas varía del 1 al 10%, con una mayor incidencia en niños de corta edad e inmunodeprimidos. En los casos de muerte cardíaca los casos ocupan más del 50%. En los países de alta endemia, como Bolivia, donde se constituye en algunas regiones la segunda causa de mortalidad

La elevada morbilidad y discapacidad que ocasiona en la población económicamente activa comprendida entre los 20 a 40 años donde se da las manifestaciones crónicas de la enfermedad, el impacto social y económico de la enfermedad de Chagas en los países con este problema de Salud Pública es enorme debido a que los Años Potenciales de Vida Productivos (AVPP) disminuye.

El diagnóstico de certeza de la enfermedad de Chagas depende de la fase en la cual se encuentre la persona infectada, durante la fase aguda la parasitemia es generalmente elevada, por lo que suelen utilizarse métodos parasitológicos directos: como examen al fresco, extendido coloreado, xenodiagnóstico y hemocultivo. Estos dos últimos son laboriosos, complicados y útiles solamente en esta fase de la infección. Durante la fase crónica e indeterminada debido a

que la parasitemia disminuye, son los métodos serológicos los que ofrecen la mejor herramienta, entre los cuales se encuentran: la Hemaglutinación indirecta (HAI), Inmunofluorescencia indirecta (IFI), Western blot, el ensayo inmunoenzimático ligado a una enzima ELISA y la Inmunocromatografía.

A pesar de que una gran cantidad de pruebas serológicas han sido desarrolladas y estandarizadas, hasta el momento no existe un ensayo estándar de oro para la enfermedad de Chagas, por tal motivo la Organización Panamericana de la Salud (OPS) recomienda el uso de por lo menos de dos ensayos serológicos diferentes en paralelo para el diagnóstico de esta enfermedad.

Mediante la presente investigación se pretende determinar la calidad de los reactivos, utilizados en el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en nuestro país, ya que mencionados reactivos son manufacturados utilizando cepas del parásito propios de otros países, de tal forma que surge la necesidad de conocer su sensibilidad y especificidad para realizar un diagnóstico laboratorial de calidad.

1.2. Problema.

La Tripanosomiasis americana Enfermedad de Chagas es un serio problema de Salud Pública, que abarca un territorio extenso en Latinoamérica desde el Sur de los Estados Unidos de Norte América hasta el Norte Argentino; involucrando así al territorio Boliviano en un 60%, donde se considera la enfermedad de Chagas endémica; en la actualidad y por la migración hacia países donde ésta parasitosis era desconocida debido a transplante de órganos principalmente se tiene referencias del parásito circulando en la población de otras latitudes.¹

La enfermedad puede llegar a ser mortal en aquellos pacientes, agudos o crónicos, que desarrollan lesiones cardíacas graves, las que determinan la muerte en forma sincopal o por insuficiencia. El porcentaje de mortalidad por Chagas varía del 1 al 10%, con una mayor incidencia en niños de corta edad e

inmunodeprimidos. En los casos de muerte cardiaca los casos ocupan más del 50%. En los países de alta endemia, como Bolivia, donde se constituye en algunas regiones la segunda causa de mortalidad.¹

Uno de los indicadores de salud más importantes tanto a nivel nacional como departamental constituye la enfermedad de Chagas la cual afecta al 50% del total de la población del Departamento, el análisis de estos niveles de infestación muestran claramente el gran problema de Salud Pública, aún más, si se consideran los factores socio culturales que favorecen la presencia de la enfermedad de Chagas.

Entre otros indicadores a nivel nacional; como la transmisión congénita es de 8% y la seroprevalencia en mujeres embarazadas de 30% demuestran la necesidad de establecer medidas de prevención de la enfermedad.²

El reconocer la importancia de la enfermedad en la región conlleva la necesidad de articular todos los esfuerzos para combatirla. Esto es, lograr un efectivo control de la transmisión vectorial, la interrupción de la transmisión transfusional y luchar por el acceso al diagnóstico y tratamiento de la enfermedad.

Es así que el diagnóstico laboratorial, control vectorial y tratamiento de la enfermedad de Chagas dirigida a la población infantil es impulsada por el Banco Interamericano de Desarrollo desde el año 2003 hasta el año 2007, y posteriormente por la Secretaría Departamental de Potosí, con la finalidad de realizar el tratamiento oportuno en la población infante y evitar secuelas en la etapa adulta.

Como resultado de un adecuado control vectorial en el país y en las zonas endémicas del Departamento de Potosí en particular, cuyos índices de infestación de *Triatoma infestans* en las viviendas, fueron en porcentajes menores al 3%

Se inició el tratamiento en estas poblaciones, previo al diagnóstico laboratorial, mediante la aplicación del protocolo de diagnóstico de la enfermedad de Chagas establecido por el Programa Nacional de Chagas, basadas en las recomendaciones de la OMS, que indica la utilización de una prueba de screening este caso una prueba Inmunocromatográfica o Hemaglutinación Indirecta por presentar elevada sensibilidad y ELISA convencional como prueba confirmatoria por su alta especificidad. En los casos discordantes se emplea pruebas de Inmunofluorescencia indirecta y ELISA recombinante.^{6,7}

Los reactivos que con los que se cuenta son de fabricación extranjera, cuyos reactivos no especifican en la literatura adjunta, resultados de pruebas de sensibilidad y especificidad probadas con sueros provenientes de pacientes Bolivianos, al no especificar este importante dato, es necesario evaluar la calidad de estas técnicas.

Formulación del Problema.

¿Cuál será la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en el Departamento de Potosí y cuál será la sensibilidad y especificidad de los reactivos utilizados en las técnicas serológicas para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas en el Departamento de Potosí, junio-noviembre de 2013?

1.3. Justificación y uso de resultados

El trabajo de investigación se considera importante por las siguientes razones: En la actualidad la población de 21 Municipios Potosinos están afectados por la Enfermedad de Chagas, cuyos índices de infestación en las viviendas, están por debajo del 3%, es así que se realizan pruebas de diagnóstico de la enfermedad para establecer el tratamiento principalmente en la población infantil. En el diagnóstico laboratorial se utilizan pruebas establecidas por el Programa Nacional de Chagas según protocolo y recomendación de la OMS; en primera instancia se aplica la prueba de Inmunocromatografía indirecta o HAI para descartar a los casos negativos y se utiliza la prueba

ELISA convencional para confirmar casos positivos, en caso de discordancia se recurre al ELISA recombinante o Inmunofluorescencia Indirecta. De acuerdo a los insertos de estas pruebas no mencionan que se realizó pruebas de sensibilidad y especificidad con sueros de pacientes Bolivianos, de tal forma es necesario probar estos parámetros de exactitud.

Al utilizar reactivos de fabricación extranjera, surge la necesidad de evaluar la calidad de los mismos, que nos permitan emitir resultados confiables, para instaurar el tratamiento en la población infantil y adulta, considerando que es largo y los medicamentos pueden producir reacciones adversas, principalmente en la población adulta.

Al conocer la calidad de los reactivos, se podrá recomendar el uso de los mismos en los laboratorios de primer y segundo nivel instituidos en el Departamento.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

Determinar la seroprevalencia y verificar la sensibilidad y especificidad de las técnicas serológicas utilizadas en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en el Departamento de Potosí, de junio a Noviembre de 2013.

1.4.2. Objetivos específicos

- Establecer la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la población en estudio.
- Determinar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas según grupo etáreo, sexo y municipio.
- Determinar la sensibilidad y especificidad de los reactivos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas Inmunocromatografía, Hemaglutinación Indirecta y ELISA convencional
- Verificar si la sensibilidad y especificidad obtenida en el laboratorio es semejante a lo informado por el proveedor de los reactivos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.

CAPITULO II

MARCO TEORICO Y CONTEXTUAL

2.1. MARCO TEÓRICO

2.1.1. Generalidades de la Enfermedad de Chagas

La Tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas es una antroponosis, es decir una enfermedad que afecta tanto al hombre como a numerosos animales mamíferos y que es producida por un protozoario flagelado de la sangre y de los tejidos el *Trypanosoma cruzi*.⁷

2.1.2. Agente causal de la enfermedad:

El agente causal de la enfermedad de Chagas es un microorganismo flagelado denominado *Trypanosoma cruzi*, que pertenece a la familia *Trypanosomatidae*, genero *Trypanosoma* y subgénero *Schizotrypanun*(1909)

Este parásito cumple su ciclo de vida, por una parte en los mamíferos, incluido el hombre (hospederos vertebrados) que son la fuente de infección o reservorio y por otra en insectos transmisores o vectores (hospederos invertebrados) denominados triatomas o conocidos en Bolivia con el nombre de la vinchuca.⁷

2.1.3. *Trypanosoma cruzi*

Es un protozoario hemoflagelado cuyo ciclo de vida involucra la transmisión por insectos hematófagos de la familia Reduviidae; estos trasmisores, llevan las formas infectantes (tripomastigotes meta cíclicos) de *Trypanosoma cruzi* en su materia fecal, la cuál es depositada en la piel durante o después de la alimentación.⁷

El parásito al penetrar al hospedero por lesiones en piel o mucosa, puede invadir gran variedad de células, donde se transforma para dar lugar al amastigote, el cual es la forma replicativa intracelularmente. Eventualmente, estas formas intracelulares dan lugar a las formas de tripomastigotes que se encuentra frecuentemente en sangre, por medio de la cual se disemina a otras

células y tejidos. Durante esta fase sanguínea puede ser ingerido por el transmisor.⁸

a) Ciclo de vida

El ciclo biológico se completa al infectar la sangre y otros tejidos de los reservorios, en el tubo digestivo de los vectores sufre distintas transformaciones. En el ser humano (hospedador vertebrado) el parásito transmitido en las heces del insecto es la forma de tripomastigotemetacíclico. En la sangre, el parásito se observa como un tripomastigote fusiforme, en forma de "C" o de "S" de 20 micrómetros de largo por 1 micrómetro de ancho. Durante esta etapa, el tripomastigote no se multiplica en la sangre del hospedero.

Cuando el parásito infecta a las fibras del músculo cardíaco o a los fagocitos, acorta el flagelo y se transforman en un amastigote redondo de 2 a 5 micrómetros de diámetro y un flagelo externo muy corto o inexistente, este se multiplica por medio de fisión binaria formando "racimos" o "nidos".⁹

Los parásitos liberados de la circulación se convierten en promastigotes y tripomastigotes estos que son liberados a la sangre circulante son de un tamaño total que varía entre 15 y 20 micrómetros tienen flagelo libre, un cinetoplasto voluminoso, terminal o subterminal que contiene el 30 % del ADN del parásito, y un núcleo oval. Estos tripomastigotes pueden infectar otras células para repetir el ciclo.

Cuando los triatomíneos nacen, estos libres de infección, pero adquieren al parásito al alimentarse del hombre o de los animales domésticos o silvestres infectados.

Los tripomastigotes migran al intestino medio del insecto donde se transforman en epimastigotes, flagelados anchos, muy móviles, con el cinetoplasto entre el núcleo y el flagelo libre. Allí se dividen un gran número de veces, a partir de que las vinchucas, pitos o chipos quedan infectadas de por vida.

Los epimastigotes se transforman en tripomastigotes metacíclicos y migran al intestino. Posterior de donde son excretados con las heces en el momento de la picadura. Mediante la degradación del ADN del cinetoplasto con enzimas restrictivas y su posterior análisis es posible la identificación de diferentes cepas de *Trypanosoma cruzi*.

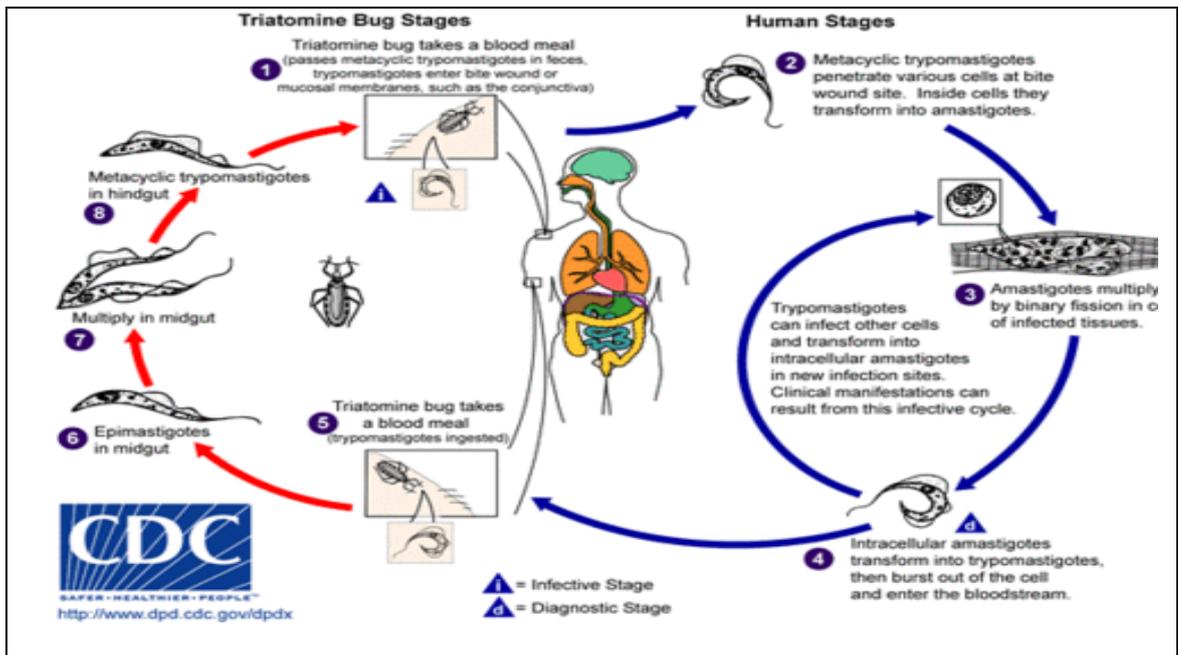


Figura N° 1 Ciclo biológico de *Trypanosoma cruzi*. Organización Panamericana de la Salud. Uruguay; 2004.

b) Nosología General

La enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis americana, es una parasitosis producida por el protozoo flagelado *Trypanosoma cruzi*, hematófilo pero que se produce en los tejidos, por la división binaria, múltiple y progresiva, pasando por una forma no flagelada: amastigote.¹⁰

Se transmite entre diversos hospedadores animales, mamíferos silvestres y domésticos, a sus congéneres por insectos hematófagos, conocidos en la Argentina y países vecinos con el nombre vulgar de "vinchucas"

2.1.4. Evolución y manifestaciones clínicas de la enfermedad de Chagas

Señalaremos en primer lugar su evolución en 3 períodos

1. **Agudo** o de comienzo que dura alrededor de 20 a 30 días
2. **Intermedio o de Latencia**, cuya duración es variable y puede alcanzar varios años.
3. **Crónico** con una duración que depende de la gravedad que alcance el proceso.

a)Período Agudo

La mayor parte de los afectados por la enfermedad son niños, no porque estos sean más susceptibles que los adultos, sino simplemente por tener el riesgo de ser infectado a etapas tempranas de la vida mediante el vector.

El período de incubación (que es el lapso que media entre la introducción del tripanosoma en el organismo y la aparición de los primeros síntomas) es de duración variable, con un término medio de una semana. El inicio de las molestias es súbito, presentando el enfermo fiebre, escalofríos, dolor de cabeza y de los músculos del cuerpo, malestar general e inapetencia. Algunas veces hay signos en el organismo que delatan la puerta de entrada de la infección: son el complejo oftalmoganglionar y los chagomas de inoculación.⁴

El complejo oftalmoganglionar o signo de eje, representa una manifestación de valor diagnóstico. Lamentablemente se ve solo en no más del 4% del total de formas agudas. Se caracteriza por: comienzo habitualmente súbito, hinchazón elástica e indolora de los párpados superior e inferior de un solo ojo, que toman color morado (como si fuera un "ojo en compota"; conjuntivas roja; hinchazón moderada del lado facial correspondiente al ojo afectado. Esta inflamación ocular desaparece lentamente en el curso de la fase aguda de la afección⁽⁵⁾.

Los "chagomas de inoculación", otro signo de puerta de entrada de la infección, consisten en zonas de endurecimiento cutáneo que pueden aparecer en cualquier lugar del cuerpo, especialmente en las partes descubiertas. Estas zonas generalmente tienen un color rojo y alta temperatura local; surgen como si brotara del interior de la piel. Son poco dolorosos. El habón de inoculación

tiende a desaparecer espontáneamente al cabo de 2 o 3 meses; queda en ese sitio una pigmentación característica.^{9,10}

b) Periodo de Latencia

Pasado el primer mes, el enfermo entra en un segundo período, o de latencia; este puede durar años y durante ese tiempo no hay ningún síntoma; solamente se puede poner en evidencia la enfermedad por medio de análisis de sangre en la que se comprueba las alteraciones provocadas por la enfermedad o también (aunque mas difícilmente), viendo los tripanosomas. La mayor parte de las personas permanece en este período todo el resto de sus vidas, y aun hay quienes han curado espontáneamente.¹¹

c) Periodo Crónico

La forma cardíaca es la más estudiada, conocida y fácil de diagnosticar. Las manifestaciones clínicas dependen del grado del daño miocárdico, presencia de arritmias y grado de insuficiencia cardíaca. Los síntomas más frecuentes son palpitaciones, mareos, disnea y dolor pectoral. Mediante la radiografía del tórax se puede evidenciar el grado de agrandamiento cardíaco y a través del EC se puede apreciar los defectos típicos de la conducción ventricular y las arritmias.¹¹

El bloqueo de rama derecha es muy frecuente así como el hemibloqueo anterior izquierdo. Pueden presentarse también diferentes grados de defectos de conducción auriculoventricular (A-V) y aún un bloqueo A-V completo. Las complicaciones más frecuentes son embolismo sistémico y la muerte súbita. El enfoque que usualmente se le da a la enfermedad está dado por la ignorancia de la misma. A pesar de que se ha descrito la cardiopatía chagásica hace más de 40 años, aún permanece desconocida o mal diagnosticada en muchas regiones endémicas donde frecuentemente es rotulada como cardiopatía idiopática.

d) Forma digestiva

De poca frecuencia en nuestro medio, siendo más una excepción. Se trata por lo general de infiltración parasitaria fibrosa en los plexos mioentéricos, con trastornos de la motilidad y dilatación proximal al segmento paralítico.¹¹

Los órganos más comprometidos son esófago y colon conformándose el cuadro de condiciones "mega", dilataciones gigantes de colon y esófago.

e) Forma neurológica

En el estado crónico se discute si se trata de secuelas de meningoencefalitis o de lesiones nerviosas de novo. Se han observado alteraciones de los sistemas nerviosos simpático y parasimpático. Tanto en estudios histológicos como fisiológicos se han presentado alteraciones del sistema nervioso autónomo. Se ha reportado en esta fase alteración de los ganglios de la raíz dorsal y una pérdida generalizada de los axones sensoriales.¹²

2.1.5 Pronóstico y Tratamiento

En la fase aguda de la enfermedad de Chagas-Mazza, el pronóstico depende de una serie de factores, tales como la edad, el estado de nutrición, el tipo y la intensidad de las manifestaciones presentadas por el paciente.

Casi siempre la enfermedad tiene carácter más grave en los lactantes,

sobre todo en los de corta edad, a los que les puede ocasionar la muerte. En las zonas endémicas, donde la enfermedad es muy frecuente, es un importante factor de mortalidad infantil.

El pronóstico de la cardiopatía chagásica crónica es variable y depende, principalmente del grado de aumento del corazón, del tipo de trastorno de ritmo cardíaco, del grado de insuficiencia cardíaca y de la tendencia evolutiva de la infección. La muerte puede sobrevenir súbitamente o bien luego de un tiempo de padecimiento

A pesar del portentoso avance de las ciencias médicas, todavía no se ha encontrado el remedio ideal para curar la enfermedad. En realidad, el problema es grave: porque una vez instaladas las lesiones en el organismo, lesiones que son destructivas, ya nunca más se puede alcanzar la restitución integral de la zona afectada. A lo más que se llega muchas veces es a aminorar los síntomas determinados por dicha lesión, que persistirá durante toda la vida de la persona enferma.

De todas maneras en los últimos años se han experimentado y aplicado medicamentos cuya acción eficaz en un alto número de casos agudos permite vislumbrar un panorama más alentador para el futuro.^{12,13}

a) Fármacos Existentes

- Benznidazol:
- Dosis: 5 mg/kg/día vía oral por 60 días.
- Efectos adversos: neuropatía periférica, erupción cutánea y granulocitopenia.
- Nifurtimox:
- Dosis: 8-10 mg/kg/día vía oral divididas en 4 tomas por 90 a 120 días.
- Permite la curación del 70 % de los pacientes tratados.
- Efectos adversos:
- Gastrointestinales.
- Neurológicos.

b) Fármacos en Estudio

- Posaconazol.
- Interferón gamma recombinante.

2.1.6. Profilaxis de la enfermedad de Chagas

Según el Programa Nacional de Chagas se realizan básicamente cuatro medidas

1. Lograr la modificación fundamental de la vivienda rural y ciudadana infestada por los triatomas o susceptible de serlo. Comprende la erradicación del vector y la creación de modelos de habitaciones higiénicas adaptadas tanto a las posibilidades materiales y económicas, como al uso, clima y particularidad de cada región y cada comunidad.¹³

2. Poner en marcha un Programa de Educación Sanitaria, en todos los niveles fundamentalmente iniciar por el escolar y el trabajo social-sanitario directo, hasta llevar el conocimiento de la enfermedad, sus riesgos y su profilaxis, a la mayor masa de población posible.

3. Tratar de cortar la cadena morbígenica actuando sobre el punto más accesible: impedir el desarrollo domiciliario y destruir el triatoma en todos sus períodos de desarrollo en la habitación humana y su entorno, con un insecticida lo más específico posible, de acción prolongada, residual, de costo accesible y de mínimo riesgo de toxicidad para el hombre y los animales domésticos.

4. Modificar del biotopo peridomiciliario para alejar los hospedadores y transmisores silvestres de la vivienda humana; además para evitar durante los rociados insecticidas de las casas, los triatomas encuentren refugio en el entorno y, en suma para crear en todo alcance, condiciones ecológicas generales adversas para la perpetuación de la cadena morbigenicade *Trypanosoma cruzi*.¹⁴

2.1.7. CARACTERÍSTICAS TEÓRICAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

Carlos Chagas, quien en 1909 había descrito por primera vez la enfermedad, en esa época no era considerada un problema de salud pública de importancia, sino hasta los años 1960.¹²

La enfermedad fue nombrada en reconocimiento al médico e infectólogo Brasileño, Carlos Chagas, quien descubrió que los intestinos de *Triatomidae* un protozoo flagelado, del género *Trypanosoma*, y fue capaz de demostrar experimentalmente que éste podía transmitirse a monos títiés del género *Callithrix* que habían sido picados por el insecto portador. Estudios posteriores demostraron que el mono ardilla era también vulnerable a la infección.¹²

Al parásito, denominado *Trypanosoma cruzi* en honor a Oswaldo Cruz famoso epidemiólogo Brasileiro.

El trabajo de Chagas fue especial en la historia de la medicina, por ser el único investigador que pudo describir por completo una enfermedad infecciosa, es decir, el patógeno, su vector y hospedador, las manifestaciones clínicas y la epidemiología. Sin embargo, Chagas creía erróneamente que la vía de infección principal era la picadura del insecto y no por las heces de éste, propuesto por su colega Emile Brumpt en 1915 y demostrado por Silveira Días en 1932, Cardoso en 1938 y Brumpt mismo en 1939.

La tripanosomiasis Americana o Enfermedad de Chagas es una antropozoonosis, es decir una enfermedad que afecta tanto al hombre como a numerosos animales mamíferos y que es producida por un protozoo flagelado de la sangre y de los tejidos el *Trypanosoma cruzi*.¹³

2.1.8. VÍAS DE TRANSMISIÓN

a) Transmisión vectorial

La transmisión vectorial se produce por la introducción de los tripomastigotes metacíclicos infectantes, presentes en las heces del triatoma y que esta deposita sobre la piel o las mucosas de un ser humano mientras succiona la sangre. Los parásitos atraviesan activa y fácilmente las mucosas o conjuntivas del huésped o se introducen a través del orificio de la picadura, viéndose facilitada su entrada por el rascado, llegando al torrente sanguíneo.

En las regiones donde la enfermedad es endémica, la transmisión vectorial es la principal forma de transmisión en condiciones naturales y el hombre contrae básicamente la infección en el interior de su propia casa.¹⁵

En Bolivia el vector de mayor importancia es el *Triatoma infestans*, pertenece a la familia *Reduviidae*, popularmente conocido como “vinchuca”, otro vector que tiene importancia en algunas regiones del país es *Triatoma sordida*.¹⁵

En este modo de transmisión el rol importante que juegan los animales domésticos (perros, gatos, conejos) y silvestres (roedores, armadillos,

zarigüeyas, etc.) manteniendo los ciclos domiciliario, peri domiciliario y silvestre de la enfermedad .Las aves de corral y en especial las gallinas, aunque son refractarias a la infección, al constituirse en una fuente importante de alimento para los triatomas, atraen a estas hacia la vivienda humana.

b) Transmisión por sangre

La enfermedad de Chagas de transmisión transfusional es considerada la segunda vía principal de infección de *Trypanosoma cruzi* hasta hace poco este problema estaba limitado a América Latina, pero la creciente migración de las poblaciones latinoamericanas hacia los países desarrollados, ha extendido el riesgo de transmisión hacia lugares donde la enfermedad es poco común y sitúa al Chagas transfusional como un nuevo problema de salud en el mundo.

Esta modalidad es, junto a la congénita, la forma de transmisión predominante en zonas no endémicas, hecho favorecido por la migración interna desde zonas endémicas de personas infectadas.

Esta forma de transmisión tiene un período de incubación más prolongado, alrededor de 40 días y carece de puerta de entrada.

El cuadro clínico consiste en un cuadro febril prolongado, contexto en el que adquiere máxima importancia el antecedente transfusional. ^{15,16}

Al ser una forma aguda debe recurrirse a las pruebas parasitológicas. La de mayor sensibilidad es el Strout. De ser negativo, se recurrirá al hemocultivo o al xenodiagnóstico. Control de donantes y hemoderivados.

c) Transmisión congénita

Es el paso del parásito *Trypanosoma cruzi* de la madre a su bebe durante la gestación. Nacido de una madre con serología positiva sin posibilidad de contaminación por vía vectorial o de antecedente de transfusión de sangre.

La transmisión congénita puede ser:

- Vía transplacentaria o la infección prenatal es posible, pero no obligada, es decir que no todos los recién nacidos de madres chagásicas llegan a

infectarse con el parásito la probabilidad de cada veinte mujeres infectadas 6 transmiten el parásito por vía congénita. La prevalencia de infección congénita en Bolivia es del 8%.

- Por leche materna, la posibilidad de infección del hijo por la leche de madre que padece enfermedad de Chagas es posible, ha sido verificada clínicamente y cuenta con ratificación experimental, su ocurrencia es excepcional.¹⁴

d) Por Contaminación Accidental en Laboratorio, Se han reportado casos conocidos de esta enfermedad por infección accidental en laboratorios, por manipulación del vector, cultivos de *Trypanosoma cruzi* o material biológico proveniente de enfermos grandemente infectados.¹⁵

2.1.9. Diagnostico del Laboratorio de la Enfermedad de Chagas

El empleo correcto de determinadas técnicas serológicas permite identificar la enfermedad de Chagas en sus diferentes etapas.

A) Métodos parasitológicos directos

El diagnóstico laboratorial específico de la infección chagásica tiene características especiales de acuerdo a la fase en que se encuentra la enfermedad en la cual la parasitemia es elevada pero se hace difícil y a veces imposible en la fase crónica donde la parasitemia es baja.

- **Técnica de tubo capilar o microhematocrito**

Principio: Es una técnica de concentración que consiste en colocar la sangre a analizar en tubos capilares heparinizados y centrifugarlos a gran velocidad (8000 a 12000 r.p.m.) durante 5 minutos y si hay parásitos presentes en la muestra, los mismos por gradiente de densidad se concentrarán a nivel a la zona límite entre los glóbulos blancos y plasma sanguíneo.

Interpretación: la visualización al microscopio, de hemoflagelados móviles, entre la capa de glóbulos blancos y el plasma, confirma el diagnóstico de Chagas de manera rápida.

Esta técnica que utiliza una pequeña cantidad de sangre (0.3 ml) es práctica para el diagnóstico especialmente en recién nacidos y niños.

La sensibilidad es de 95% y la especificidad del 100% en la fase aguda de la enfermedad y las ventajas son la poca cantidad de sangre que se utiliza y su ejecución.

Como esta técnica es la recomendada para la detección de infección congénita y aguda por *Trypanosoma cruzi*.

- **Técnica del Strout**

Principio: Es un método de concentración de los parásitos presentes en el suero después de la retracción y retiro del coágulo de una muestra de 5 ml de sangre sin anticoagulante que se ha dejado coagular. Luego de la centrifugación del suero se recupera el sedimento, donde se pueden observar al microscopio los *Trypanosomas* móviles.

El hallazgo de uno o más tripanosomas en el sedimento del suero confirma la infección chagásica.

El inconveniente de esta prueba, para su uso en edad pediátrica, es que emplea 5 ml de sangre.

Interpretación: La sensibilidad del Strout es de 95% en los casos de Chagas agudo y no es una técnica recomendada para el diagnóstico en el caso de Chagas crónico.

- **GOTA GRUESA**

Principio: Se deposita una gota gruesa de sangre en la superficie de un portaobjetos luego se realiza el extendido con el extremo de otro portaobjetos en sentido a las manecillas del reloj en forma circular de aproximadamente 1.5 de diámetro. Durante la coloración, la hemoglobina de los glóbulos rojos, que se han lisado por el medio hipotónico, es disuelta y eliminada por el agua del colorante, quedando solamente los parásitos y los glóbulos blancos que

pueden ser observados al microscopio .La gota gruesa, permite encontrar los parásitos con mayor rapidez aún si ellos son numerosos en la sangre.

Interpretación: La gota gruesa es una técnica del diagnosticoparasitológico que solamente debe ser utilizada cuando se sospecha una Enfermedad de Chagas en fase aguda y aún en esta situación se ha descrito una sensibilidad de solamente 50 a 60 %, por lo que se recomienda, en estos casos, realizar exámenes repetidos durante varios días.

La ventaja de esta técnica que solo se necesita de un microscopio para su lectura y puede utilizarse en centros que disponen de un microscopio.

- **GOTA FRESCA**

Principio: Esta técnica, consiste en colocar una pequeña cantidad de sangre (una gota pequeña) recién extraída, en un portaobjetos y cubrirla y con un cubre objetos La observación microscópica directa debe hacerse inmediatamente, observándose la presencia de los parásitos móviles que desplazan a los glóbulos rojos que los rodean.

Interpretación: La sensibilidad de la gota fresca es de 70 a 80 % en los casos de Chagas agudo y se debe insistir en la necesidad de hacerla seriada para llegar a esta sensibilidad.

b) Métodos parasitológicos indirectos

- **XENODIAGNÓSTICO**

Principio: Esta técnica se basa en aprovechar la capacidad que tiene el *Trypanosoma cruzi* de multiplicarse en el intestino de los triatominos La técnica consiste en hacer picar a la persona potencial mente infectada, con ninfas de tercera generación de vinchucas totalmente sanas y criadas en laboratorio, que al succionar la sangre del infectado pueden ingerir los parásitos, los cuáles después en un cierto tiempo de multiplicación, serán encontrados en cantidades fácilmente detectables en las heces de los triatomas.

Interpretación: La sensibilidad del Xenodiagnóstico es de 95 a 100% en la fase aguda y solo de 25 a 50 % en la fase crónica de la infección.

La complejidad de la técnica ha hecho, que en la actualidad solo sea utilizada con fines de investigación.

2. Métodos serológicos

El diagnóstico inmunológico de la parasitosis se basa en que anticuerpos específicos contenidos en el suero u otro líquido corporal de un sujeto examinado, se unen de manera específica con los componentes antigénicos parasitarios, dando como resultado la formación de un complejo antígeno – anticuerpo, el cual puede ser puesto en evidencia mediante diferentes técnicas. En el caso específico de la enfermedad de Chagas es bien conocido que existe, por parte de la persona infectada, una respuesta humoral específica sólida y estable fundamentalmente después de la fase aguda, en las fases indeterminadas y crónica de la infección.

Las reacciones serológicas más comunes en el diagnóstico de Chagas, se basan en la detección de anticuerpos circulantes de la clase IgG, que pueden ser detectados a partir de la segunda o tercera semana del inicio de la infección y persisten toda la vida en la persona infectada.

Estas pruebas pueden ser utilizadas tanto en el diagnóstico individual, estudios epidemiológicos como para avalar medidas de control de transmisión, seleccionar donadores de sangre y estudiar la actividad de las drogas.²⁰

- **Ensayo Inmuno Enzimática ELISA**

Principio: Esta técnica se basa en la absorción del antígeno de *Trypanosoma cruzi*, en un soporte o fase sólida (superficie de poliestireno) constituido por los pocillos de las placas de microtitulación (policubetas).

El antígeno, adsorbido sobre una superficie de poliestireno es puesto en contacto con los anticuerpos presentes en el suero de dilución apropiada.

La unión antígeno – anticuerpo es revelada al añadir anticuerpos anti IgG con una enzima que activa una sustancia cromógena. La intensidad de color es proporcional a la cantidad de anticuerpos.

Como la prueba de ELISA, tanto convencional como la que utiliza antígenos recombinantes, es una técnica recomendada en el diagnóstico de Chagas.²⁶

- **Técnica de Hemaglutinación Indirecta H.A.I.**

Principio: Se basa en la detección de anticuerpos aglutinantes específicos anti *Trypanosoma cruzi* presentes en los sueros de los infectados chagásicos.

El antígeno soluble es fijado a la superficie de glóbulos rojos que previamente ha sido sensibilizados, comportándose como partículas inertes capaces de absorber antígenos parasitarios y que se denominan “hematíes sensibilizados”. Estos se aglutinan cuando son puestos en presencia de diferentes diluciones de los sueros estudiados si estos contienen los anticuerpos específicos.²⁰

- **Reacción de Inmunofluorescencia Indirecta I.F.I.**

Principio: Consiste en hacer reaccionar los anticuerpos presentes en los sueros de los infectados chagásicos con un antígeno figurado constituido por una suspensión de epimastigotes que han sido depositados sobre un portaobjetos especialmente diseñados.

Los complejos antígeno – anticuerpo formado se revelan mediante una antigamaglobulina humana marcada con un colorante fluorescente como ser el isotiocianato de fluoresceína (fluorescencia).

El complejo formado se visualiza por excitación del fluorocromo mediante un rayo de excitación de luz ultravioleta y la observación de este fenómeno se realiza con la ayuda de un microscopio de fluorescencia.²¹

- **Prueba de Inmunocromatografía para Chagas**

Para el tamizaje serológico:

La Inmunocromatografía es una prueba rápida y de un solo paso, para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma o sangre total.

Emplea una combinación de un anticuerpo específico anti gammaglobulina humana unido a una proteína la cual esta conjugada a partículas colorantes y antígenos recombinantes anti *Trypanosoma cruzi* que están unidos al soporte sólido.

Cuando la muestra en estudio migra, a través de la membrana, la antigamaglobulina humana conjugada con una proteína colorante forma un complejo con las inmunoglobulinas humanas anticuerpos de la muestra.

Si la muestra contiene anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*, el complejo formado anteriormente se une a los antígenos de *Trypanosomacruzi* del soporte sólido produciendo un complejo Ag- Ac, que se evidencia por la formación de una banda coloreada a nivel de la ventanilla del test (zona de reacción).

En la ausencia de anticuerpos específicos no se forma la banda en la zona de reacción, el líquido continúa su migración y produce una banda coloreada en la zona de control, confirmando que los reactivos y el procedimiento funcionan adecuadamente.²¹

Interpretación de Resultados

Negativo:

Una línea rosada o violeta en el área de control, sin una línea coloreada en el área del test, indica un resultado negativo .Un resultado negativo después de los 15 minutos indica que no hay anticuerpos detectables en la muestra.

Positivo:

Dos líneas rosadas o violetas, una en el área de control y otra en el área de test indica un resultado positivo. Estas líneas deben aparecer hasta los 15 minutos de indicado el proceso.

Incluso una línea muy fina en el área de test debe ser considerada positiva.

Toda línea que aparece en el área del test, después de los 15 minutos, no debe ser considerada como positiva.

Estos procedimientos para el diagnóstico son utilizados, de manera generalizada en toda el área endémica de Chagas en el país. ²¹

C) Pruebas no convencionales

Desde hace algunos años, con el objetivo de mejorar la especificidad, de evitar las reacciones cruzadas con otras patologías o simplificar el proceso diagnóstico de la enfermedad de Chagas, se han desarrollado nuevos test que utilizan antígenos purificados, péptidos sintéticos o proteínas recombinantes.

La mayor parte de estas nuevas pruebas utilizan como el Western Blot. se caracterizan por su alta especificidad, su simplicidad y el corto tiempo de procesamiento.²⁶

- **Método de biología molecular**

La tecnología de la Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR, se basa en la amplificación de secuencias específicas de ADN del parásito y por ahora se utiliza en los laboratorios de investigación.

A continuación se efectúa una breve descripción de las principales pruebas de laboratorio realizadas en el diagnóstico de Chagas indicando el principio técnico de las mismas y la interpretación de los resultados.²⁸

- **Cultivo Celular para *Trypanosoma Cruzi***

El *Trypanosoma cruzi* infecta una gran variedad de células nucleadas in vitro e in vivo, aunque presente tropismo por ciertos tipos celulares, como por ejemplo células musculares y células macrófagos. El cultivo de células eucarióticas ha sido muy utilizado para intentar comprender los mecanismos moleculares del proceso de reconocimiento, señalización e invasión (y/o fagocitosis) de las formas tripomastigotes y amastigotes del *Trypanosoma cruzi*. Grandes contribuciones en este campo fueron realizadas, en investigaciones pioneras en Brasil, por la Dra. Hertha Meyer en el Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho de la Universidad Federal de Río de Janeiro.

En general, las células son cultivadas adheridas a placas, botellas y laminillas, y llevadas a interactuar con las diferentes formas de *Trypanosoma cruzi*. El cultivo

de células necesita de medios de cultivo ricos en aminoácidos, vitaminas, sales minerales etc. y un suplemento de suero (en general suero fetal bovino). Este proceso de interacción puede ser realizado por períodos cortos (pocos minutos u horas) para entender los procesos iniciales de reconocimiento e invasión del parásito, o períodos más largos para los estudios del comportamiento intracelular del parásito. Los cultivos se mantienen en estufas, a 37° C con atmósfera de 5% de CO². Estas células recién infectadas o infectadas por largos períodos pueden ser analizadas de diferentes maneras: fijación con Bouin y coloración con el colorante de Giemsa; observación por video microscopía de las células vivas (usando microscopía de contraste de fase o interferencial); por Inmunofluorescencia; por microscopía electrónica de barrido y/o transmisión. Usando cultivo de células fue posible reproducir in vitro el ciclo biológico del parásito. En él, formas tripomastigotes interactúan con la célula a través de un proceso de entrada relativamente complejo, envolviendo diferentes receptores enlazantes en las dos células involucradas. La forma tripomastigote se encuentra dentro de una vacuola que se funde con los lisosomas de la célula hospedadora.

En este ambiente ácido, las formas tripomastigotes secretan enzimas que van a actuar en la membrana del fagolisosoma (o vacuola parasitófora) haciendo pequeños poros, que van a resultar en la lisis de esta membrana. Durante este proceso, la forma tripomastigote comienza un proceso de diferenciación hacia la forma amastigote, siendo entonces liberado al citoplasma de la célula hospedadora, donde se multiplica diversas veces (por división binaria).

Cuando el citoplasma de la célula hospedadora se llena de formas amastigotes comienza la iniciación de la nueva diferenciación, ahora de forma amastigote a forma tripomastigote. La forma tripomastigote es muy móvil y secreta

enzima que actuará en la membrana plasmática de la célula hospedadora. Estos dos factores llevan a la ruptura de esta célula, liberando muchas formas tripomastigotes al medio extracelular.²⁶

TABLA N° 1 SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS PRUEBAS DIRECTAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS (SEGÚN MANUALES DE TRABAJO ANIVEL NACIONAL)

| PRUEBA | SENSIBILIDAD | ESPECIFICIDAD | RECURSO DE LABORATORIO | OBSERVACIONES |
|--|--------------|----------------|---|--|
| Técnica del tubo capilar o micro hemacrito | 95% | Próximo a 100% | Microscopio Centrífuga de tubo capilar | |
| Strout | 95% | Próximo a 100% | Microscopio Centrífuga | Necesita 5 ml Sangre |
| Gota fresca | 70-80% | Próximo a 100% | Microscopio | |
| gota gruesa | 50-60% | Próximo a 100% | Microscopio Colorante | |
| Xenodiagnostico | 95-100% | 100% | Microscopio Criadero de vinchucas y gallinas | Útil en investigación no en el diagnóstico de rutina |
| Reacción en Cadena de la Polimerasa PCR | 95-100% | Próximo a 100% | Centrifugas refrigeradas Termoclador equipo de electroforesis equipo de revelado | Útil en investigación no en el diagnóstico de rutina |

TABLA N° 2 SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LA PRUEBAS DIRECTAS DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS (SEGÚN GUIA A NIVEL NACIONAL)

| PRUEBA | SENSIBILIDAD | ESPECIFICIDAD | RECURSO DE LABORATORIO | OBSERVACIONES |
|-------------------------------------|--------------|---------------|---|--|
| Hemaglutinación Indirecta (HAI) | 96-98 % | 98-99% | Micropipetas kis comerciales | Personal bien capacitado Lectura subjetiva |
| Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) | 99% | 97-98% | Microscopio Fluorescencia Kits comerciales | Personal muy bien capacitado Lectura subjetiva |
| ELISA convencional | 99% | 99-100% | Lector ELISA , Kits comerciales Micropipetas | Personal muy bien capacitado Lectura subjetiva |
| ELISA recombinante | 98% | 99-100% | Lector ELISA , Kits comerciales Micropipetas | Personal muy bien capacitado Lectura subjetiva |
| Inmunocromatografía (IC) | 98% | 99-100 | Ninguno | Posibilidad de procesar en el terreno se puede conservar el taco como prueba |

2.1.10. CALIDAD DE UNA PRUEBA DIAGNÓSTICA

a) Precisión y exactitud

Para definir la calidad de un análisis se emplean los términos; exactitud y precisión. La exactitud es la aproximación al verdadero valor, la precisión de un resultado es su reproductibilidad. Mientras que es posible la precisión sin exactitud, es imposible la exactitud sin un cierto grado de precisión.

Se dice que un método es repetitivo si es capaz de dar el mismo valor específico para una muestra cuando se repite el análisis por el mismo técnico, con el mismo lote de reactivos y los mismos instrumentos. Se dice que un

método es reproducible cuando es capaz de dar los mismos resultados para una muestra, si el análisis se repite en diferentes días por distintos técnicos y empleando distintos lotes de reactivos. Es posible que un método sea repetitivo y no sea reproducible; sin embargo los métodos reproducibles son siempre repetitivos. Para la precisión se requiere reproductibilidad y no solo repetitividad.

Cuando se obtiene el mismo resultado en dos o tres análisis repetidos se puede caer en la tentación de pensar que el resultado es exacto, sin embargo solo se puede afirmar que la repetitividad de un análisis es buena. El valor puede ser o no exacto, el resultado puede estar lejos del valor verdadero, incluso la precisión puede ser deficiente. Sin embargo si se obtienen siempre resultados exactos, la precisión esta lograda automáticamente. La precisión de una prueba diagnóstica se expresa en términos de desviación estándar (DS)

Es importante resaltar que la automatización de diferentes pruebas o técnicas puede producir un aumento de la precisión. Esto se debe a que con dicha automatización, lo que logramos es una disminución de los errores manuales o su corrección inmediata.

Por norma general, la exactitud diagnóstica se expresa como sensibilidad y especificidad. Cuando los datos de la prueba son dicotómicos (si/no, sano/enfermo) se pueden expresar los resultados mediante tablas de contingencia y a partir de ellas obtener los valores de sensibilidad y especificidad de la prueba.

La evaluación de las pruebas diagnósticas se ha tratado, en general sin un criterio universal aceptado. En diferentes estudios aparecen términos como sensibilidad, especificidad, eficiencia, exactitud, utilidad, valor, eficacia y efectividad.

diagnosticada crea una situación de confusión a la hora de resolver cuestiones concretas.²²

La calidad de una prueba diagnóstica utilizada para el cuidado de los pacientes no se juzga sólo por sus características analíticas sino, fundamentalmente, por su capacidad para distinguir entre estados alternativos de salud El médico

solicita una prueba para decidir, junto con otros datos disponibles si el paciente tiene o no una condición clínica. Por lo tanto, para que una prueba se incluya en la práctica médica rutinaria es necesario que sea capaz de reducir la incertidumbre asociada con una determinada situación clínica²².

La principal cualidad clínica de una prueba diagnóstica es su exactitud, definida como la capacidad para clasificar de manera correcta a los individuos en subgrupos clínicamente relevantes, en su forma más simple es la capacidad para distinguir entre dos estados de salud. Una vez establecida esta capacidad de discriminar adecuadamente, es necesario conocer también el valor práctico de la prueba para el cuidado del paciente. Existen diversas causas que invalidan una prueba diagnóstica.

Pueden existir métodos menos invasivos o más económicos para obtener una información semejante. La prueba puede ser tan cara o poseer tal requerimiento técnico que sea limitada su disponibilidad. Puede ser tan incómoda o invasiva que los pacientes no se sometan con facilidad a ella.

El coste o indeseabilidad de los resultados falsos puede ser tan alto que no exista un punto de corte aceptable. Clásicamente, la exactitud de una prueba diagnóstica se ha evaluado en función de las características: la sensibilidad y la especificidad. Sin embargo, éstas varían en función del criterio elegido como punto de corte entre la Prueba.

En las fases del proceso diagnóstico intervienen la historia clínica, la exploración física y la realización de pruebas complementarias

Cuando existen varias hipótesis diagnósticas, se realizará el diagnóstico diferencial y las pruebas complementarias tratarán de aclarar las dudas existentes. Si solamente hay una sospecha diagnóstica, las pruebas complementarias tratarán de confirmarla. La realización simultánea de varias pruebas complementarias se denomina pruebas complementarias en paralelo y la realización de pruebas complementarias según los resultados de otras previas, se denomina pruebas complementarias en serie. Al realizar pruebas en paralelo aumenta la probabilidad de diagnosticar a un enfermo, pero también aumenta la probabilidad de considerar como enfermo a un sano. El riesgo de la

realización de pruebas en serie es no diagnosticar a algunos enfermos. En cambio, pocos sanos serán considerados como enfermos.²²

Es evidente que una buena prueba diagnóstica es la que ofrece resultados positivos en enfermos y negativos en sanos. Por lo tanto, las condiciones que deben ser exigidas a un test son:

a) Validez: Es el grado en que un test mide lo que se supone que debe medir. Con que frecuencia el resultado del test es confirmado por procedimientos diagnósticos más complejos y rigurosos. La sensibilidad y la especificidad de un test son medidas de su validez.

b) Reproductividad: Es la capacidad del test para ofrecer los mismos resultados cuando se repite su aplicación en circunstancias similares. La variabilidad biológica del hecho observado, la introducida por el propio observador y la derivada del propio test, determinan su reproductividad.

c) Seguridad: La seguridad viene determinada por el valor predictivo de un resultado positivo o negativo. Con que seguridad un test predecirá la presencia o ausencia de enfermedad ante un resultado positivo de un test que probabilidad existe de que este resultado indique presencia de la enfermedad.²

2.1.11. La Validez de una Prueba Diagnostica : Sensibilidad y Especificidad

El caso más sencillo que se nos puede plantear es el de una prueba dicotómica, que clasifica a cada paciente como sano o enfermo en función de que el resultado de la prueba sea positivo o negativo. En casos como éste, generalmente un resultado positivo se asocia con la presencia de enfermedad y un resultado negativo con la ausencia de la misma. Cuando se estudia una muestra de pacientes, los datos obtenidos permiten clasificar a los sujetos en cuatro grupos según una tabla de contingencia como se muestra más adelante en el capítulo de metodología. En ella, se enfrenta el resultado de la prueba diagnóstica (en filas) con el estado real de los pacientes (en columnas) o, en su defecto, el resultado de la prueba de referencia o “goldstandard” que vayamos

a utilizar. El resultado de la prueba puede ser correcto (verdadero positivo y verdadero negativo) o incorrecto (falso positivo y falso negativo). El análisis de su validez puede obtenerse calculando los valores de sensibilidad y especificidad:

2.1.12 .Sensibilidad y especificidad

En 1947, Yerushalmy introduce los términos de sensibilidad y especificidad como indicadores estadísticos que evalúan el grado de eficacia inherente a una prueba diagnóstica

La sensibilidad y la especificidad son las medidas tradicionales y básicas del valor diagnóstico de una prueba. Miden la discriminación diagnóstica de una prueba en relación a un criterio de referencia, que se considera la verdad.

Estos indicadores en principio permiten comparar directamente la eficacia de una prueba con el de otras y esperar resultados similares cuando son aplicadas en diferentes países, regiones o ámbitos.

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.²³

De ahí que también la sensibilidad se conozca como “fracción de verdaderos positivos (FVP)”.

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.

De ahí que también se denomina “fracción de verdaderos negativos (FVN)”.

Resulta obvio que lo ideal sería trabajar con pruebas diagnósticas de alta sensibilidad y especificidad, pero esto no siempre es posible. En general, las

pruebas de screening deben ser de alta sensibilidad para poder captar a todos los enfermos. Una prueba muy sensible será especialmente adecuada en aquellos casos en los que el no diagnosticar la enfermedad puede resultar fatal para los enfermos, como ocurre con enfermedades peligrosas pero tratables, como los linfomas o la tuberculosis, o en enfermedades en las que un falso positivo no produzca serios trastornos psicológicos o económicos para el paciente (por ejemplo, la realización de mamografía en el cáncer de mama).²²

Por otra parte, la especificidad se refiere, como se señaló previamente, a la probabilidad de que un sujeto sano sea clasificado adecuadamente. En general, las pruebas confirmatorias del diagnóstico deben ser de alta especificidad, para evitar falsos positivos. Los tests de alta especificidad son necesarios en enfermedades graves pero sin tratamiento disponible que las haga curables, cuando exista gran interés por conocer la ausencia de enfermedad o cuando diagnosticar a un paciente de un mal que realmente no padece pueda acarrear graves consecuencias, ya sean físicas, psicológicas o económicas (por ejemplo, en el caso del SIDA).²²

2.1.13. La seguridad de una prueba diagnóstica valores predictivos

Los conceptos de sensibilidad y especificidad permiten, por lo tanto, valorar la validez de una prueba diagnóstica. Sin embargo, carecen de utilidad en la práctica clínica. Tanto la sensibilidad como la especificidad proporcionan información acerca de la probabilidad de obtener un resultado concreto (positivo o negativo) en función de la verdadera condición del enfermo con respecto a la enfermedad. Sin embargo, cuando a un paciente se le realiza alguna prueba, el médico carece de información a priori acerca de su verdadero diagnóstico, y más bien la pregunta se plantea en sentido contrario: ante un resultado positivo (negativo) en la prueba, ¿cuál es la probabilidad de que el paciente esté realmente enfermo (sano)? Así pues, resulta obvio que hasta el momento sólo se ha abordado el problema en una dirección. Por medio de los valores predictivos se completará esta información.²³

a) Valor predictivo positivo

Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test. El valor predictivo positivo puede estimarse, por tanto, a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos.²³

b) Valor predictivo negativo

Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano. Se estima dividiendo el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba.²³

La influencia de la prevalencia

Se ha visto cómo los valores de sensibilidad y especificidad, a pesar de definir completamente la validez de la prueba diagnóstica, presentan la desventaja de que no proporcionan información relevante a la hora de tomar una decisión clínica ante un determinado resultado de la prueba. Sin embargo, tienen la ventaja adicional de que son propiedades intrínsecas a la prueba diagnóstica, y definen su validez independientemente de cuál sea la prevalencia de la enfermedad en la población a la cual se aplica.

Por el contrario, el concepto de valores predictivos, a pesar de ser de enorme utilidad a la hora de tomar decisiones clínicas y transmitir a los pacientes información sobre su diagnóstico, presenta la limitación de que dependen en gran medida de lo frecuente que sea la enfermedad a diagnosticar en la población objeto de estudio. Cuando la prevalencia de la enfermedad es baja, un resultado negativo permitirá descartar la enfermedad con mayor seguridad, siendo así el valor predictivo negativo mayor. Por el contrario, un resultado positivo no permitirá confirmar el diagnóstico, resultando en un bajo valor predictivo positivo.²³

La razón de probabilidades ofrece la ventaja de que relaciona la sensibilidad y la especificidad de una prueba en un solo índice. Además, pueden obtenerse

razones de probabilidad según varios niveles de una nueva medida y no es necesario expresar la información de forma dicotómica, como resultado de normal o anormal o bien positivo y negativo. Por último, al igual que sucede con la sensibilidad y la especificidad, no varía con la prevalencia. Esto permite utilizarlo como índice de comparación entre diferentes pruebas para un mismo diagnóstico.²²

Hasta ahora se ha abordado el caso de una prueba con un resultado dicotómico (positivo o negativo), pero en muchas situaciones la confirmación de un diagnóstico debe hacerse a partir de un parámetro numérico, sobre todo cuando éste se realiza a partir de determinaciones analíticas. La generalización a estas situaciones se consigue mediante la elección de distintos valores de corte que permitan una clasificación dicotómica de los valores de la prueba según sean superiores o inferiores al valor elegido. La diferencia esencial con el caso más simple es que ahora se cuenta no con un único par de valores de sensibilidad y especificidad que definan la exactitud de la prueba, sino más bien con un conjunto de pares correspondientes cada uno a un distinto nivel de decisión. La estrategia de análisis adecuada consistiría en representar gráficamente los pares (1-especificidad, sensibilidad) obtenidos al considerar todos los posibles valores de corte de la prueba, obteniéndose así una curva llamada curva ROC. El área bajo dicha curva se convierte así en el mejor indicador de la capacidad predictiva del test, independiente de la prevalencia de la enfermedad en la población de referencia y en base al cual se podrán establecer comparaciones entre diferentes pruebas diagnósticas.²²

En definitiva, es sumamente importante el saber valorar la validez y seguridad de las diferentes pruebas diagnósticas con el fin de seleccionar la más adecuada en cada momento. La sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos son los criterios tradicionalmente utilizados para valorar la capacidad predictiva de un test. Los estudios de evaluación de tests diagnósticos son el instrumento adecuado para obtener esta información. No obstante, no debemos olvidar que existen determinados aspectos en el diseño de este tipo de investigaciones que pueden afectar a la precisión y a la validez

de las estimaciones realizadas. Una vez más, el cálculo de intervalos de confianza puede ayudarnos a conocer la precisión de los índices calculados. La población de estudio, la estrategia de muestreo, la selección del criterio de referencia y la forma de aplicación de las pruebas diagnósticas serán algunos de los elementos a cuidar para evitar la presencia de sesgos.²²

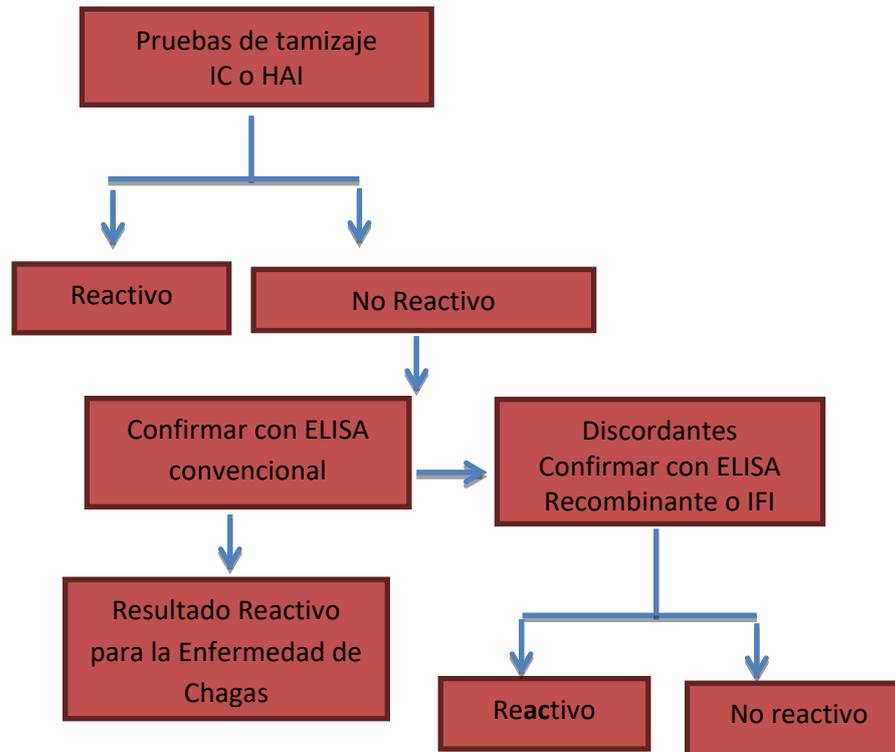
2.1.14. Gold standard

El rendimiento de todo test diagnóstico se basa en su comparación con un gold standard (estándar de oro, patrón de oro, patrón de referencia). La prueba Gold standard es la técnica diagnóstica que define la presencia de la condición con la máxima certeza conocida.

En el caso de la enfermedad de Chagas la Organización Mundial de la Salud, recomienda, que para el diagnóstico de esta enfermedad es necesario aplicar dos técnicas diagnósticas con fundamentos diferentes, de tal forma que no se cuenta con una prueba gold standard.

El Programa Nacional de Chagas especifica en el protocolo de diagnóstico de la enfermedad en la etapa crónica, las siguientes técnicas: Como prueba de tamizaje, inmunocromatografía por presentar elevada sensibilidad y su fácil aplicación en el área rural ya que no se requiere de equipos sofisticados, en el área urbana la prueba de Hemaglutinación indirecta. Como pruebas confirmatoria el ELISA convencional. En caso de discordancia entre los resultados se aplicará ELISA recombinante o inmunofluorescencia indirecta

FIGURA N° 2. ALGORITMO DE DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS ESTABLECIDO POR EL PROGRAMA NACIONAL DE CHAGAS



Para el control de calidad interno se procesan el 10% de las muestras no reactivas por ELISA o con otras pruebas de distinto fundamento como HAI

2.1.15. Curvas de ROC

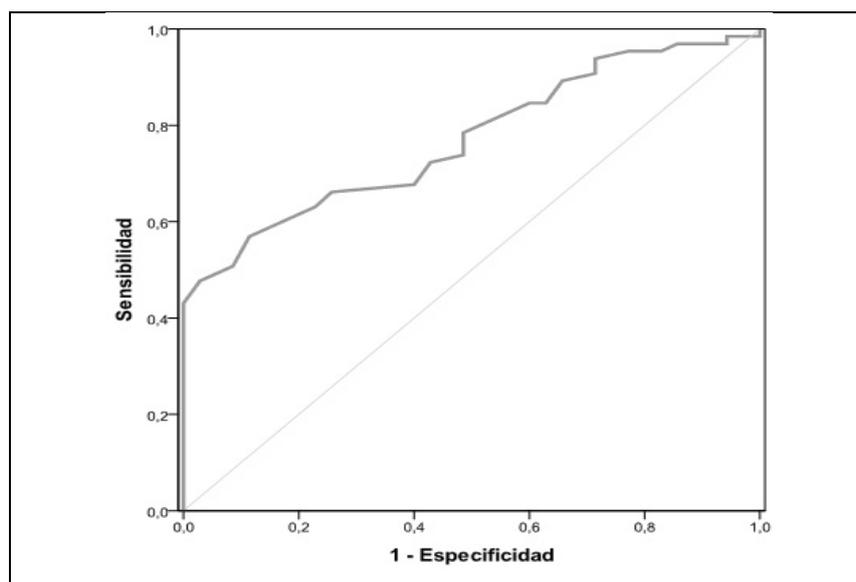
El análisis de las curvas ROC surgió a principios de los años cincuenta para el análisis de la detección de las señales de radar. En medicina el análisis ROC se ha utilizado de forma muy extensa en epidemiología e investigación médica, de tal modo que se encuentra muy relacionado con la Medicina basada en la evidencia. En Radiología, el análisis ROC es la técnica de preferencia para evaluar nuevas técnicas de diagnóstico por imagen.²³

Siempre que las pruebas de diagnóstico nos aporten resultados medidos en escala continua, por intervalos u ordinal, podremos usar este tipo de análisis estadístico, que nos permite evaluar la capacidad de discriminación de una prueba diagnóstica entre estados alternativos de salud mutuamente excluyentes (sano/enfermo, positivo/negativo, etc).

Las curvas ROC son gráficos en los cuales se representa la sensibilidad en función de los falsos positivos (1-especificidad) de la prueba diagnóstica, donde cada punto de la curva representa un par Sensibilidad/(1-especificidad) correspondiente a un nivel de decisión determinado.

El gráfico que se va generando es una curva escalonada, de modo que cuando se obtiene un verdadero positivo la curva se desplazará verticalmente y en caso que se obtengan falsos positivos la curva se desplazará horizontalmente.

Una prueba diagnóstica con gran capacidad de discriminación debería tener una sensibilidad y especificidad lo más próximas al 100%, esto se puede apreciar en la gráfica de modo que cuanto más próxima esté la curva al borde superior izquierdo mayor precisión discriminatoria tendrá la prueba y en caso que la curva esté más próxima a la diagonal de 45° la capacidad de discriminación de la prueba será baja o prácticamente nula.²³



2.1.16. Ventajas y Desventajas de la curva ROC

a) Ventajas:

- Es una representación fácilmente comprensible de su capacidad de discriminación en todo el rango de valores.
- No requieren un nivel de decisión particular porque comprende todo el rango posible de valores.
- Es independiente de la prevalencia.

b) Desventajas:

- No se muestran los puntos de corte, sólo se muestran su sensibilidad y especificidad asociadas.
- Tampoco se muestra el número de sujetos.
- Disminuir el tamaño de la muestra la curva tiende a hacerse más escalonada y desigual.
- Si no se poseen programas informáticos, el cálculo de los parámetros y la generación de la curva son difíciles.

2.1.17. Aplicaciones de las curvas ROC en el diagnóstico de Laboratorio

Las curvas ROC tuvieron sus primeras aplicaciones en medicina en el campo del radiodiagnóstico. En 1981, Robertson y Zweiglas utilizaron por primera vez en la evaluación de pruebas de laboratorio. Estudiaron las concentraciones séricas de mioglobina y creatincinasa MB (CK-MB) en pacientes con sospecha de IAM y comunicaron sus resultados en forma de curvas ROC. Además, reanalizaron datos ya publicados sobre la hormona paratiroidea usando estas curvas. Posteriormente estos autores colaboraron con Van Steirteghemen un estudio de comparación de mioglobina, CK total, CK-MB y CK-BB en el diagnóstico de IAM. Construyeron las curvasROC obtenidas con los cuatro parámetros a distintos tiempos.²³

2.2. Hipótesis

La seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la población potosina de zonas endémicas es del 50% similar a la seroprevalencia a nivel nacional. Y las pruebas serológicas para el Diagnóstico de la Enfermedad de Chagas presentan una sensibilidad y especificidad reportado por los proveedores de los reactivos

2.3 MARCO CONTEXTUAL

2.3.1. Bolivia

Bolivia nace a la vida republicana un 6 de agosto de 1825 como una nación libre, independiente, soberana, multiétnica y pluricultural, tal como lo reza la Constitución Política del Estado. Además, adopta para su gobierno la forma de Estado Plurinacional de Bolivia unitaria, democrática, representativa y presidencialista.¹⁷

La ciudad de Sucre, fue designada como Capital Constitucional de la República, La Sede de Gobierno es la ciudad de La Paz. El país está estructurado política y administrativamente en 9 departamentos, 112 provincias y 327 municipios.¹⁷

El **Poder Ejecutivo**, está constituido por un presidente y el gabinete elegidos por sufragio directo por un período de cinco años. Consta de 16 ministerios⁽¹⁷⁾

El **Poder Judicial**, conformado por el tribunal supremo del Estado Plurinacional de Bolivia (12 magistrados), el Tribunal Constitucional, el Consejo de la Judicatura, las Cortes Superiores de Distrito y los Tribunales Ordinarios de Justicia.

El **Poder Legislativo**, ejerce funciones en la Asamblea Plurinacional, compuesto por la Cámara de Senadores y Cámara de Diputados conformadas por 27 senadores y 130 diputados, respectivamente.

El idioma oficial de Bolivia es el castellano o español. Además existen lenguas aborígenes importantes en el bloque andino, chiquitano, guarayo, quechua, aymará, y muchos otros.¹⁷

2.3.2 Situación Geográfica de Bolivia

Bolivia está situada en el centro del continente sudamericano, con paisajes geográficos muy diversos en todos sus aspectos

Ubicación: Bolivia se halla situada, entre los meridianos 57° 26' y 69° 38' de longitud occidental del meridiano de Greenwich y los paralelos 9° 38' y 22° 53' de latitud sur, por lo tanto abarca más de 13° geográficos.¹⁸

Extensión: El territorio patrio boliviano tiene una extensión de 1.098.58Km². En total de área de las capitales es de 144Km² y de las provincias es de 1.098.377Km². La superficie del lago Titicaca en la parte boliviana es de 3.690 Km². a tiempo de la fundación de la República en 1825, su área era mucho mayor, habiendo perdido extensas zonas por guerras internacionales o mediante convenios diplomáticos.¹⁷

Se ha dado a Bolivia, en general el apelativo de país andino aunque, como se ha dicho, más de la mitad de su extensión territorial no corresponde al bloque andino, ese apelativo, que tiene que variar debido a la política de integración geográfica que ahora predomina, se le atribuyó porque hasta hace unas décadas la importancia económica y demográfica del país residía en esta alta de su territorio.¹⁷

Límites: Está unido con sus vecinos por vías férreas, carreteras, vías fluviales y lacustres así, con el Perú meridional está ligado por intermedio de carreteras y la navegación en el Lago Titicaca desde Guaqui a Puno. Con el Perú central por vías fluviales de la cuenca del Norte. Con Chile tiene vinculación ferroviaria de Arica a La Paz. Y desde Antofagasta hasta la meseta Andina por Uyuni, Oruro y La Paz. Con la república Argentina por el ferrocarril Villazón Atocha – Uyuni que une el sur de Bolivia con esa República, en especial con el noroeste

de ese país: así mismo, por intermedio de la línea férrea Yacuiba – Santa Cruz se une el noreste argentino con el Oriente de Bolivia.

En el territorio Boliviano se consideran tres zonas geográficas predominantes ¹⁹

Andina: Que abarca el 28% del territorio nacional con una extensión estimada de 307,000 kilómetros cuadrados. Esta zona se halla a más de 3,000 m.s.n.m., ubicada entre los dos grandes ramales andinos: las cordilleras Occidental y Oriental o Real, las que presentan algunas de las cumbres más elevadas de América. Aquí se encuentra el lago considerado más alto del mundo, el Lago Titicaca, situado a 3,810 m. sobre el nivel del mar, con una extensión de 8,100 km² que lo sitúa en el vigésimo cuarto lugar en el ámbito mundial, a Bolivia le corresponden 3.690 km² y el resto al Perú por donde navegan embarcaciones de gran calado, posee además islas como la Isla del Sol, de la Luna, Koati y otros.

Subandina: Región intermedia entre el altiplano y los llanos orientales que abarca el 13% del territorio, y comprende los valles y los yungas (a 2,500 metros de altitud promedio). Se caracteriza por su actividad agrícola y su clima templado a cálido (15 a 25°C).

Llanos: Abarca el 59% de la superficie nacional y se ubica al norte de la cordillera Oriental o Real que se extiende desde el pie de los Andes hacia el río Paraguay, es una tierra de llanuras y bajas mesetas, cubierta por extensas selvas ricas en flora y fauna. Registra una temperatura media anual de 22 a 25°C.

Clima: Aunque todo el territorio boliviano esté situado en el Trópico de Capricornio, éste posee variedad de climas. En Bolivia la temperatura ambiente no sólo se regula por la latitud sino también por la altitud sobre el nivel del mar, es decir, a mayor altura la temperatura baja y a menor altitud ésta sube. A partir del nivel del mar y a medida que ésta asciende la temperatura del aire baja 0.55°C por cada 100 metros más de altitud. Por ello se explica que existan cumbres con nieves eternas y fríos polares y que, sobre una misma latitud, se extiendan llanuras con clima cálido-tropical. ¹⁹

Social según datos preliminares del último censo la población para el año 2001 es de 8.280.140 hab., 64.8% del área urbana y 35,2% del área rural. La población indígena se estima en más de 3,6 millones y comprende 36 grupos étnicos, con una fuerte proporción de cultura originarias andina (Quechua-Aymará) y de las tierras bajas (Tupí - Guaraní), así como mestizos, tanto de origen hispánico como andino y amazónico.

Salud: Bolivia tiene muy pobres condiciones de salud. En los años 80 había un médico por cada 1600 habitantes. La mortalidad infantil es una de las más altas de América del Sur; malaria, Chagas, disentería y la tuberculosis son enfermedades comunes en este país. En fechas recientes se presentó, serios brotes de fiebre amarilla. Los servicios médicos y hospitales en zonas rurales son particularmente inadecuados. Posee un Programa de Salud, que cubre hasta el momento menos de la mitad de las necesidades reales de la población de trabajadores.¹⁹

2.3.3. Departamento de Potosí

El departamento de Potosí cuenta con una población de 709.013 (INE, Censo 2001). Habitantes, lo que representa el 8.57% de la población total de Bolivia.

Población por Comunidad y Sexo Las mujeres representan el 51.26% de la población total del Departamento de Potosí, mientras que los varones solo del 48,73 %.

Superficie: Su extensión es de 118.218 Km². División política: El departamento de Potosí cuenta con 16 provincias y 40 municipios y de los cuales 21 tienen la presencia del vector (*Triatoma infestans*) y uno de ellos es el municipio de Cotagaita. La capital es la ciudad de Potosí, con una población de 132.966 habitantes. Fundada el 1º de abril con el nombre de Villa Imperial por el Capitán Diego Zenteno; está a una altura promedio de 3.936 m s.n.m. La fiesta del Departamento se celebra el 10 de noviembre en conmemoración del grito libertario de 1810.¹⁷

Geografía: El departamento de Potosí está ubicado en el sudoeste del Estado.

Límites. Al norte, con los departamentos de Oruro y Cochabamba; al sur, con la república Argentina; al este con los departamentos de Chuquisaca y Tarija y al oeste con la República de Chile. La ciudad de Potosí se halla en las faldas de la cordillera oriental de los Andes.

Es junto a la ciudad de Lhasa en el Tibet, la ciudad más alta del mundo y está situada entre los 16°30'30" de latitud sur y los 68°112'00" de longitud oeste del meridiano de Greenwich.

Al noreste del Departamento, la zona más baja del altiplano, se encuentra el impresionante salar de Uyuni. Toda esta región se caracteriza por la presencia de *geisers*, fumarolas, barros volcánicos, vertientes de aguas calientes y azufreras. El paisaje agresivo de la cordillera Occidental se ve matizado por la presencia de lagunas y valles enclavados entre las montañas.

Orografía: Por el departamento de Potosí corren tanto la cordillera occidental como la oriental. En el noroeste del departamento se encuentra la zona más baja del Altiplano: el salar de Uyuni (3.656 msnm).

En el norte está la cordillera de Llica. En el oeste, en dirección Norte – Sur, aparece la cordillera de Sillillica, perteneciente a la cordillera volcánica. En el sudoeste está el cordón volcánico en el que se distinguen el volcán Licancábur (5.930 m.), el Ollagüe (5.810m.) y el hito 2 cumbre de Poroma (5.739m.). El paisaje agresivo de la cordillera occidental se ve matizado por la presencia de lagunas como la "Colorada", cuyo nombre deriva de la presencia de organismos que tiñen las aguas de color rojizo, a lo que se añade la presencia de flamencos rosa (parihuanas).

La cordillera oriental se divide en tres secciones: Cordillera de LÍpez: Sus principales cumbres: Nuevo Mundo (6.020 m.), LÍpez (5.929 m.). Cordillera de Chichas: Sus principales cumbres son: Chorolque (5.603 m), Cerro Cusco (5.434 m), Tazna (5.800 m). Cordillera de Los Frailes: Entre sus cumbres nevadas se destacan: Malmisa (5.453 m.), Michaga (5.300 m.), Santa Juana (5.100 m.).

Clima.- El clima del Departamento de Potosí es frío, con excepción de los valles enclavados entre las montañas cuyo clima es templado. Una de las zonas más frías de Bolivia es la del salar de Uyuni, donde la temperatura desciende en el invierno a -20°C bajo cero. El altiplano potosino se caracteriza por tener escasa precipitación pluvial (100-200 milímetros anuales)

Potosí (*Villa Imperial de Potosí*) es una ciudad del sur de Bolivia, capital del departamento homónimo. Se extiende a las faldas una legendaria montaña llamada SumackOrcko (en quechua: Cerro Rico) que contenía la mina de platamás grande del mundo. Su altitud promedio es de 4.067 msnm, por lo que es la tercera ciudad más alta del mundo (en disputa)

2.3.4. Laboratorio Regional de Chagas Departamento de Potosí

El laboratorio Departamental (Laboratorio Regional del SEDES u otro) corresponde al tercer nivel y cuenta con infraestructura, equipamiento y personal capacitado, para el diagnóstico laboratorial de la Enfermedad de Chagas.

Este laboratorio fue equipado en la gestión 2006 gracias al Programa Nacional de Chagas, con financiamiento del Banco Interamericano de Desarrollo con el objetivo de realizar el diagnóstico de la enfermedad. Tiene equipamiento suficiente para realizar la confirmación serológica de la enfermedad de Chagas, este nivel cuenta con un profesional Bioquímico y Técnicos de Laboratorio capacitados en la ejecución de pruebas diagnósticas.

La infraestructura ubicada dentro el Hospital Daniel Bracamonte del Departamento de Potosí. (anexo 2)

Como laboratorio de tercer nivel el personal tiene la responsabilidad de:

- Realizar todas las acciones del primer y segundo nivel
- Análisis de confirmación en casos dudosos empleando técnicas como ELISA recombinante para Chagas , Hemaglutinación Indirecta HAI , Aglutinación de partículas de gelatina , etc.
- Control de calidad al primer y segundo nivel

- Concentración de la información del Departamento
- Reportes
- Seguimiento serológico pos tratamiento

También cuenta con su red de laboratorios de segundo nivel en los municipios endémicos de : Cotagaita, San Pedro de Buena Vista y Ocuri, para su funcionamiento estos laboratorios se implementaron para el control de los pacientes con la enfermedad de Chagas. Las responsabilidades del personal que trabaja en los laboratorios de segundo nivel son:

- Procesamiento de pruebas de tamizaje (Inmunocromatografía)
- Procesamiento de pruebas de confirmación diagnóstica de infección Chagásica (ELISA convencional cuantitativo), Hemaglutinación Indirecta.(HAI)
- Procesamiento de pruebas parasitológicas para la detección laboratorial de Chagas agudo y connatal.
- Control de calidad (interno).
- Capacitación y supervisión, para toma de muestra y tamizaje serológico en los puestos de toma de muestra.
- Conservación de las muestras.
- Registro de información.

2.3.5. Situación Epidemiológica de la Enfermedad de Chagas en Bolivia



En Bolivia esta enfermedad se constituye en un importante problema de Salud Pública, las encuestas nacionales mostraron entre 40% a 80% de seropositividad en habitantes de áreas endémicas, 21% en menos de 1 año, 3.4% en niños de 1 a 4 años, 40% en niños de 5 a 9 años y 87% en individuos menores de 45 años.

La tasa de infección general de 20% es la más alta en Latinoamérica y más de 60% del territorio es endémico, comprendiendo los departamentos de Chuquisaca, Tarija, Cochabamba, Santa Cruz, La Paz y Potosí con un total de 168 municipios donde se ha detectado la presencia del vector.

El impacto socioeconómico, debido a la morbilidad producida por la enfermedad de Chagas, justifica emplear todos los recursos y esfuerzos para el control de la enfermedad. El tratamiento del infectado chagásico en el marco de las medidas de control, busca limitar el daño producido por el parásito como también reducir.¹⁷

Se ha demostrado que el tratamiento tiene una gran efectividad en la fase aguda y crónica reciente de la infección y un indudable beneficio en el paciente con infección crónica de larga duración. El Nifortimox y Benznidazol continúan siendo las drogas clásicas de tratamiento

Desde aproximadamente 1986, en Bolivia se iniciaron deferentes actividades dirigidas al control de la Enfermedad de Chagas. Desde entonces se han logrado importantes experiencias con instituciones como el Centro Nacional de Enfermedades Tropicales, CENETROP, de Santa Cruz; el Instituto Nacional de Laboratorios INLASA; el Centro Universitario de Medicina Tropical, CUMETROP Cochabamba; o el Centro de Investigación de la Universidad de Chuquisaca, CIDECH. Del mismo modo se han desarrollado importantes Proyectos como el Cotagaita, San Juan del Oro, Cardenal Maurer, Pro – Habidad, Cooperación Canadiense- FIS, o las investigaciones realizadas por el Ministerio de Salud, donde, sin duda se destaca la realizada por el Dr. Ángel Valencia y colaboradores han sido extraordinarios aportes al conocimiento sobre estrategias y metodologías en la lucha contra la enfermedad de Chagas

sin embargo, generaban una dispersión que dificultaba que pudieran ser aprovechados al máximo.⁹

A partir de 1992, con apoyo del PNUD, (Programa Naciones Unidas de Desarrollo) PMA (Programa Mundial de Alimentos) y gracias a la firme decisión de las autoridades ministeriales, se inicia el proceso de sistematización para lograr un Programa Integral para el Control de la Enfermedad de Chagas, proceso que a partir de 1998, se ve fortalecido gracias al BID (Banco Interamericano de Desarrollo) que asegura el financiamiento para implementar un programa de largo alcance.

El Programa Nacional de Chagas ha tenido, entre sus principales objetivos, devolverle al Ministerio de Salud su papel de rector en la elaboración de políticas nacionales normas y procedimientos estandarizados para todo el territorio nacional, pero que tengan la suficiente flexibilidad para adaptarse a las características regionales.¹⁰

2.3.6 Situación epidemiológica de la enfermedad de Chagas en el Departamento de Potosí

El programa Departamental de Chagas Potosí inicia actividades de intervención a partir del año 1998, con los proyectos del Norte y Sur financiados por el Fondo de Inversión Social (FIS), estas actividades se realizaron en comunidades rurales que demandaban ser atendidas por el programa y que presentaban ciertas particularidades como pobreza, índices de infestación domiciliarios elevados (presencia de vinchucas en domicilios).¹⁰

Uno de los indicadores de salud más importantes tanto a nivel nacional como departamental es el de la enfermedad de Chagas la cual afecta al 50% del total de la población del Departamento, el análisis de estos niveles de infestación muestran claramente el gran problema de Salud Pública, aún más si se consideran los factores socio culturales que favorecen la presencia de la enfermedad de Chagas. Otros indicadores nos muestran porcentajes elevados en la transmisión congénita de madre a niño que es el 8% y la seroprevalencia de mujeres embarazadas es de 42% a nivel departamental. A partir del cese de

la intervención del BID (Banco Interamericano de Desarrollo) en el Programa Nacional de Chagas, la Prefectura del Departamento a través de la Secretaria Departamental de Desarrollo Humano, en su ardua labor en beneficio de la salud Potosina, viene impulsando diferentes programas de salud, entre estos el programa Departamental de Enfermedades Endémicas – Chagas, que a partir del junio del 2006, retoma las acciones de intervención en todos los componentes del programa Departamental de Chagas: Control Vectorial, Diagnóstico, Tratamiento e IEC; Información, Educación y Comunicación.²⁰

El Departamento de Potosí, desde la gestión 2006 sean ejecutado con los componentes Vectorial y Evaluación Entomológica y el Componente Diagnóstico y Tratamiento.

2.3.7. MAPA ENDEMICO DE CHAGAS DEL DEPARTAMENTO DE POTOSI

16 PROVINCIAS

40 MUNICIPIOS

21 MUNICIPIOS ENDEMICOS



III MARCO METODOLOGICO

3.1. Enfoque, diseño y tipo de la investigación

a) Enfoque de la investigación y diseño

Tiene un enfoque cuantitativo, debido a que la realidad del estudio es tangible, además se emplearon métodos y técnicas de análisis cuantitativo, el investigador se ubica en una posición desde afuera, el diseño del estudio es predeterminado, y lo que se busca es la comprobación.

b) Tipo y diseño de investigación

Observacional, analítico, descriptivo, transversal de prevalencia

El presente diseño es un estudio observacional, fundamentalmente porque el investigador no manipula las variables de exposición del estudio; también es descriptivo, porque se realiza una descripción de la distribución de la prevalencia porque se busca casos positivos de la enfermedad de Chagas, diagnosticados por métodos serológicos convencionales y además es transversal, porque se recoge simultáneamente en un corte en el tiempo las variables independientes y la variable dependiente.

3.2. Población y Muestra

Población

La población estuvo constituida por 253 pacientes que acudieron a realizarse las pruebas serológicas de Chagas en el Laboratorio de Vectores del Servicio Departamental de Salud Potosí de julio a noviembre de 2013

Por el reducido número de pacientes que acudieron al laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas no se calculó el tamaño de muestra.

3.3. Variables de estudio

a) Identificación de variables

Al ejecutar el inicio del estudio se identificaron y clasificaron las variables en:

- **Variable Dependiente**

Enfermedad de Chagas.

- **Variable Independiente**

- Edad
- Sexo
- Municipios de procedencia
- Técnicas serológicas IC,HAI, ELISA convencional

b) Diagrama de variables

| Objetivos Específicos | Variable | Definición Conceptual | Definición Operacional | Categorías | Tipo de variable | Instrumento |
|---|--|---|--|---|--|------------------|
| Establecer la seroprevalencia de la población en estudio | Serología de <i>Trypanosoma cruzi</i> ELISA HAI I.C. | Porcentaje de personas en un lugar y tiempo determinados que tienen anticuerpos contra alguna enfermedad, lo que indica qué porcentaje de ellos han tenido contacto con un agente infeccioso específico | Reactividad obtenida con las técnicas serológicas en suero del paciente para anticuerpos de <i>Trypanosoma cruzi</i> | Reactivo No reactivo | Cualitativa Nominal dicotómica. | Hoja de registro |
| Determinar la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas según grupo etareo | Edad | Tiempo de vida transcurrida desde el nacimiento hasta el momento de su consideración | Según los años que tienen los pacientes del grupo de estudio | < =10 11-20 años 21-30 años 31-40 años 41-50 años 51-60 años 61-70 años | Cuantitativa | Hoja de registro |

| | | | | | | |
|---|--|---|--|--|-----------------------------------|------------------|
| Determinar el porcentaje de casos positivos según sexo | Sexo | Características biológicas que diferencia al hombre y a la mujer | Según las características de ser hombre o mujer de las personas del estudio | Masculino Femenino | Cualitativa nominal dicotómicas | Hoja de registro |
| Analizar los resultados según municipios | Procedencia | Conjunto de personas de un pueblo o nación | Según el municipio de la que proviene cada persona del estudio. | Municipio: Puna Betanzos Chaqui Vitichi Cotagaita Ravelo San Pedro Acasio Arampampa Tacobamba Villazón Ckochas Ocuri Caiza D | Cualitativa nominal Polilitómicas | Hoja de registro |
| Determinar la sensibilidad y especificidad de los reactivos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas (IC, HAI y ELISA convencional) en la población de estudio. | Presencia de Anticuerpos anti <i>Trypanosoma cruzi</i> | Glicoproteína de tipo gamma inmunoglobulina o partícula proteica que aparece por estimulación antigénica y que reacciona frente a antígenos de <i>Trypanosoma macruzi</i> | Glicoproteína de tipo gamma inmunoglobulina que forma hemaglutinación contra antígenos de <i>Trypanosoma cruzi</i> | Cualitativa-dicotómica dependiente | Reactivo No Reactivo | Hoja de registro |
| Verificar si la sensibilidad y especificidad obtenida en el laboratorio es semejante a lo informado por el proveedor de los reactivos empleados en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. | Sensibilidad y especificidad | Probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un resultado positivo. Especificidad: probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano. | La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad. especificidad como la capacidad para detectar a los sanos | Expresado en porcentaje | % de sensibilidad y especificidad | Hoja de registro |

3.4 Criterios de inclusión y exclusión

a) Criterios de inclusión

Participarán en el estudio pacientes que:

- De los municipios endémicos de Chagas del Departamento de Potosí.
- Con solicitud médica y con diagnóstico presuntivo de enfermedad de Chagas
- Edades comprendidas de 9 meses a 70 años
- Referidos del Banco de Sangre de Potosí

b) Criterios de exclusión

- Pacientes que están recibiendo tratamiento
- Muestras hemolizadas

Aspectos éticos

Con el fin de guardar absoluta reserva en cuanto a la identidad de los pacientes, el registro fue codificado, y por ningún motivo será divulgado a terceros.

3.5. Procedimientos para la recolección de la información

a) Fuente de recolección de la información.

La recolección de la información, fue mediante fuente primaria porque se empleo un instrumento de recolección que consistió en una ficha de registro de resultados de laboratorio.

b) Descripción del Instrumento

Considerando todas las variables de la investigación la hoja de registro contó con una serie de columnas en la cual fueron registrados los datos del

paciente como: nombres y apellidos, número, fecha, código asignado y resultados de las pruebas de diagnóstico. (anexo 4)

c) Análisis Estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con apoyo del programa Excel para Windows versión 8,1, para la confección de las tablas tetracóricas y análisis de exactitud (sensibilidad y especificidad) se utilizó el paquete EPIDAT versión 3.

Tabla N° 3 Estructura de una tabla de 2x2

| Relación entre el resultado de una prueba diagnóstica y la presencia o ausencia de una enfermedad. | | |
|---|------------------------------|---------------------------|
| Resultado de la prueba | Verdadero diagnóstico | |
| | Enfermo | Sano |
| Positivo | Verdaderos Positivos (VP) | Falsos Positivos (FP) |
| Negativo | Falsos Negativos (FN) | Verdaderos Negativos (VN) |

Como ya se mencionó en el marco teórico y según a las recomendaciones de la OMS, para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas no se cuenta con una prueba gold standard, se considera como verdadero diagnóstico al resultado del análisis de una muestra que presenta reactividad en dos pruebas con diferente fundamento por ejemplo: Inmunocromatografía y ELISA convencional.

3.5.1. Cálculos de sensibilidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo enfermo, es decir, la probabilidad de que para un sujeto enfermo se obtenga en la prueba un

resultado positivo. La sensibilidad es, por lo tanto, la capacidad del test para detectar la enfermedad.

$$\text{Sensibilidad} = \frac{VP}{VP + FN}$$

De ahí que también la sensibilidad se conozca como “fracción de verdaderos positivos (FVP)”.

3.5.2. Cálculos de especificidad

Es la probabilidad de clasificar correctamente a un individuo sano, es decir, la probabilidad de que para un sujeto sano se obtenga un resultado negativo. En otras palabras, se puede definir la especificidad como la capacidad para detectar a los sanos.

$$\text{Especificidad} = \frac{VN}{VN + FP}$$

De ahí que también sea denominada “fracción de verdaderos negativos (FVN)”.

3.5.3. Valores predictivos

a) Valor predictivo positivo:

Es la probabilidad de padecer la enfermedad si se obtiene un resultado positivo en el test. El valor predictivo positivo puede estimarse, por tanto, a partir de la proporción de pacientes con un resultado positivo en la prueba que finalmente resultaron estar enfermos:

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP}$$

b) Valor predictivo negativo:

Es la probabilidad de que un sujeto con un resultado negativo en la prueba esté realmente sano. Se estima dividiendo el número de verdaderos negativos entre el total de pacientes con un resultado negativo en la prueba:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN}$$

3.5.4. Razones de probabilidad

Como la prevalencia es un factor determinante en los valores predictivos de un test. Por lo tanto, éstos, no pueden ser utilizados como índices a la hora de comparar dos métodos diagnósticos diferentes, ni tampoco a la hora de extrapolar los resultados de otros estudios a datos propios. Por ello, resulta necesario determinar otros índices de valoración que sean a la vez clínicamente útiles y no dependan de la prevalencia de la enfermedad en la población a estudiar. Así, además de los conceptos de sensibilidad, especificidad y valores predictivos, se suele hablar del concepto de razón de verosimilitudes, razón de probabilidad, o cociente de probabilidades. Estos miden cuánto más probable es un resultado concreto (positivo o negativo) según la presencia o ausencia de enfermedad:

a) Razón de verosimilitudes positiva o cociente de probabilidades positivo: se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado positivo en los pacientes enfermos entre la probabilidad de un resultado positivo entre los sanos. Es, en definitiva, el cociente entre la fracción de verdaderos positivos (sensibilidad) y la fracción de falsos positivos (1-especificidad):

$$RV+ = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

b) Razón de verosimilitudes negativa o cociente de probabilidades negativo: se calcula dividiendo la probabilidad de un resultado negativo en presencia de enfermedad entre la probabilidad de un resultado negativo en

ausencia de la misma. Se calcula por lo tanto, como el cociente entre la fracción de falsos negativos (1-sensibilidad) y la fracción de verdaderos negativos (especificidad):

$$RV- = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

3.6. Métodos técnicas procedimiento para el análisis de las muestras:

Recolección de las muestras biológicas

Preparación del material de toma de muestra capilar:

Etiquetas con el código de los pacientes

Torundas de algodón con alcohol al 70%, torunda de algodón seco

Tubos capilares heparinizados, plastilina

Tacos de inmunocromatografía etiquetado, marcadores lapiceros,(anexo 2)

Prueba Rápida de Inmunocromatografía para Chagas (STAT-PACK)

La Inmunocromatografía es una prueba rápida y de un solo paso, para la detección de anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi* en suero, plasma o sangre total.

Emplea una combinación de un anticuerpo específico anti gammaglobulina humana unido a una proteína la cual esta conjugada a partículas colorantes y antígenos recombinantes anti *Trypanosoma cruzi* que están unidos al soporte sólido.

Cuando la muestra en estudio migra, a través de la membrana, la antigamaglobulina humana conjugada con una proteína colorante forma un complejo con las inmunoglobulinas humanas anticuerpos de la muestra.

Si la muestra contiene anticuerpos anti *Trypanosoma cruzi*, el complejo formado anteriormente se une a los antígenos de *Trypanosoma cruzi* del

soporte sólido produciendo un complejo Ag- Ac, que se evidencia por la formación de una banda coloreada a nivel de la ventanilla del test (zona de reacción).

En la ausencia de anticuerpos específicos no se forma la banda en la zona de reacción, el líquido continúa su migración y produce una banda coloreada en la zona de control, confirmando que los reactivos y el procedimiento funcionan adecuadamente.

Cada fabricante de este tipo de test diagnóstico, tiene un protocolo y reactivos particulares. En el laboratorio, o en el campo se deben seguir estrictamente los pasos señalados para ejecutar correctamente el test

Procedimiento:

- 1.- Se tiene el número de tacos y se colocó en una superficie plana.
- 2.- Si los kits que estuvieron mantenidos en refrigerador llevo a temperatura ambiente.
- 3.- Se identificó el taco con el código del paciente.
- 4.- Se añadió la muestra en el centro de la ventana de la "muestra".
Si la muestra es sangre total, 10 microlitros, utilizando para ello el tubo capilar o la pequeña pipeta que viene con el kit.
Si la muestra es suero o plasma 5 microlitros con una micropipeta graduable de 5 a 20 microlitros.
- 5.- Se añadió en la ventana de muestra lentamente, 6 gotas del diluyente. El frasco de diluyente debió estar en posición totalmente vertical (y no en ángulo) para esta operación.
- 6.- Se registro en el taco, con un marcador indeleble, la hora de inicio de la prueba.
- 7.-Se dio la lectura al resultado antes de los 15 minutos después de adicionar el diluyente. El taco se encontró en posición horizontal.
- 8.- Si la prueba fue positiva, se registró en el taco el tiempo transcurrido.
- 9.- Si la membrana no se limpia bien en 12 a 15 minutos después de añadido el diluyente, se añadió una gota suplementaria del diluyente.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Negativo

Después de transcurridos los 15 minutos de reacción, se observa una línea rosada o violeta en el área de control, sin una línea coloreada en el área del test, el resultado es negativo, es decir que no hay anticuerpos detectables en la muestra.

Positivo

Dos líneas rosadas o violetas, una en el área de control y otra en el área de test indica un resultado positivo. Estas líneas deben aparecer hasta los 15 minutos de indicado el proceso. Incluso una línea muy fina en el área de test debe ser considerada positiva.

Toda línea que aparece en el área del test, después de los 15 minutos, no debe ser considerada como positiva.

Estos procedimientos para el diagnóstico fueron utilizados, de manera generalizada en toda área endémica de Chagas también en el laboratorio de Vectores.(anexo 3)

• HEMAGLUTINACION INDIRECTA

La Hemaglutinación indirecta (HAI) también llamada Hemoaglutinación reversa pasiva, se basa en la propiedad que tienen los anticuerpos (que en este caso son anti-*Trypanosoma cruzi*) de producir aglutinación específica en presencia de glóbulos rojos sensibilizados con los correspondientes antígenos. En el suero existen anticuerpos inespecíficos (heterófilos) que son capaces de aglutinar glóbulos rojos de distintas especies. Su presencia se investiga enfrentando el suero con glóbulos rojos no sensibilizados. Los anticuerpos interferentes se eliminan mediante tratamiento con 2-mercaptoetanol.

Reactivos

- Reconstituyente HAI.: solución fisiológica taponada a P.D. 7.
- Antígeno HAI: liofilizado de glóbulos rojos de carnero sensibilizados con antígenos citoplasmáticos de *Trypanosoma cruzi*.

- Glóbulos rojos no sensibilizados: suspensión al 1% de eritrocitos de carnero no sensibilizados, para control de heterofilia.
- Buffer HAI: solución fisiológica tamponada con fosfatos a pH 7,5, con colorante inerte. Agregar 0,2ml de Solución Proteica para cada 10ml de Buffer HAI. Mezclar, rotular y fechar (Preparado dura 5 días a 2 – 10°C)
- Solución Proteica: solución de albúmina bovina al 10%.
- Control Positivo: suero inactivado conteniendo anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*.
- Control Negativo: suero no reactivo, inactivado.
- Solución fisiológica.

Material requerido

- Policubetas con pocillos en U (Para eliminar la carga electrostática es pasar un trapo húmedo por la base de la misma)
- Microdilutores (25ul) o micropipetas automáticas (25 ul)
- Tubos de ensayo y material volumétrico adecuad
- Cinta adhesiva
- Papel de filtro

Procedimiento

- Se coloco 25ul de Diluyente de sueros HAI en todos los pocillos a usar de la poli cubeta.
- Se tomo una alícuota de 25ul de la muestra “suero” y se añadió en el primer pocillo y se agitó por lo menos 10 veces para asegurar una correcta dilución de la muestra.
- Con una micropipeta automática de 25ul, se homogeneizó por carga y descarga. Se realizaron diluciones seriadas a partir del primer pocillo (dilución 1/2), pasando los microdilutores al pocillo siguiente (dilución 1/4) y así sucesivamente hasta la dilución que se desea investigar (por ej.: 1/8, 1/16, 1/32)
- Se transfirió 25ul de pocillo a pocillo hasta la dilución que se desee investigar.se descartó los últimos 25ul.

- Se colocó en los pocillos conteniendo las diluciones 1/2 y 1/4, la cantidad de 25ul de glóbulos rojos no sensibilizados para control de heterofilia
- En el resto de los pocillos, se agregó 25ul de Antígeno HAI
- Se mezcló aplicando suaves golpes en los laterales de la poli cubeta.
- Se dejó en reposo, a resguardo de vibraciones, durante 90 minutos.
- Se realizó la lectura a partir de los 90 minutos.
- Para aumentar la nitidez de la apreciación, se realizó la lectura sobre un espejo, iluminando la placa desde arriba e interponiendo un papel blanco y traslúcido entre la poli cubeta y la fuente de luz.

Interpretación de los resultados

No reactivo: presencia de un sedimento en forma de botón.

Reactivo: formación de una película o manto en el fondo de los pocillos. En caso de observar la presencia de un pequeño anillo de bordes regulares, la muestra se considerará dudosa y deberá ser ensayada por otro método.

Limitaciones del procedimiento

- Vibraciones accidentales durante el reposo necesario para el desarrollo de la reacción
- Sueros envejecidos o congelados y descongelados repetidamente.
- Contaminaciones accidentales de los reactivos o del material empleado en el ensayo
- Exceso o defecto de diluyente de sueros HAI en los pocillos de la policubeta.
- Diluyente de sueros HAI que tenga más de 5 días de preparación.
- En poblaciones endémicas, empleando el método de HAI, el 98% de los títulos menores a 1/8 y el 95% de los títulos mayores o iguales a 1/8 fueron confirmados por los métodos tomados como referencia.
- En poblaciones no endémicas, el 100% de los individuos sanos presentó títulos menores a 1/8 determinados por HAI

- En el 100% de los individuos con serología positiva confirmada por los métodos tomados como referencia y con parasitosis demostrada por xenodiagnóstico y/o hemocultivo, se observaron títulos mayores o iguales a 1/32 determinados con Chagatest HAI
- Policubetas rayadas por uso reiterado. No se aconseja reutilizar pocillos.
- Falta de homogeneización de los reactivos antes de su uso.

Prueba Inmunoenzimatica ELISA

Se puede utilizar ya sea en un ELISA convencional o un ELISA no recombinante

Fundamento de la reacción

Se basa en una reacción antígeno – anticuerpo específica de *Trypanosoma cruzi* que se realiza en un soporte o fase sólida .Este complejo es detectado mediante una antigamaglobulina humana marcada con una enzima (conjugado), cuya presencia es a su vez revelada, por un sustrato específico para la enzima y una sustancia cromógena que es normalmente incolora pero que en contacto con la sustancia producida por la reacción enzimática tiene la capacidad de colorearse.

La intensidad del color es proporcional a la concentración de anticuerpos presentes en la muestra.

Componentes de la prueba

Fase sólida constituida por las placas de micro titulación fabricadas en poliestireno transparente, material capaz de absorber el antígeno o anticuerpo usado en la prueba, tiene 96 pocillos.

Antígeno Son fracciones de *Trypanosoma cruzi* preparadas especialmente para reducir la posibilidad de reacciones cruzadas.

Conjugado o antigamaglobulina humana. Se compone de gammaglobulina producida en carnero u otro animal que reconoce los anticuerpos

(inmunoglobulinas) humanas presentes en el suero humano y se une a él. La antigamaglobulina está unida a una enzima (fosfato alcalino o peroxidasa).

Enzima – Fosfatasa alcalina o peroxidasa

Sustrato –Peroxido de hidrogeno

Cromógeno – Ortofenilendiamina (OPD) o Tetrametilbencidina (TMB), etc.

Solución de bloqueo – HCl, Na OH, o H₂SO₄

Procesamiento

Antes de iniciar el procesamiento de las muestras se registren en la hoja de trabajo (Anexo) las condiciones de trabajo y la ubicación de los sueros tanto controles como muestras problemas.

Primera Etapa

Los antígenos de *Trypanosoma cruzi* son absorbidos en la fase sólida (normalmente, en los kits comerciales esta etapa ya fue realizada en la fábrica, la placa ya está sensibilizada y lista para su uso.

Segunda Etapa

Se diluirá, siguiendo las instrucciones del kit, cada una de las muestras en estudio y los sueros controles positivos y negativos.

Se adiciono el volumen indicado de muestra diluida, en los pocillos (uno por cada muestra estudiada).

Se cubrió la placa con parafilm

Se incubo la placa por el tiempo especificado en la estufa de incubación.

En el primer pocillo de la placa A1 se colocó simplemente la cantidad de tampón, sin ninguna muestra, este pocillo servirá como blanco en el momento de la lectura.

Si la muestra fue reactiva, es decir contiene anticuerpos específicos contra *Trypanosoma cruzi*, estos se unen de manera específica a los antígenos de la placa de microtitulación.

Pasando el tiempo de incubación, se desecha el contenido de los pocillos por inversión energética de la placa y se procedió al lavado de la misma por cinco veces con 200 ul de tampón de lavado por pocillo.

Tercera Etapa

Se adicionó en cada uno de los pocillos, el volumen indicado de conjugado (antigamaglobulina humana marcada con una enzima) previamente diluido según la especificación del inserto del kit.

Se cubrió herméticamente la placa para evitar evaporación y llevarlo a incubación por el tiempo especificado.

Se procedió al vaciado y lavado de la placa como en el paso anterior.

En esta etapa ocurre la unión entre anticuerpo del conjugado y los anticuerpos de la muestra.

Cuarta Etapa

Se preparó, siguiendo las instrucciones del kit, el sustrato y adicionar la cantidad indicada en cada uno de los pocillos.

Se llevo a incubar la placa según las condiciones del kit el tiempo específico.

En esta etapa, el sustrato en contacto con la enzima, se oxidará, dando lugar a la formación de un producto de diferente color según el tipo de cromógeno utilizado. El cambio de color de la solución indica una reacción positiva. (Si la muestra no tiene anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi*, no habrá reacción y por lo tanto no se producirá color.

Quinta Etapa

Se agregó (sin vaciar la placa) la solución de bloqueo para interrumpir la reacción de la enzima sobre el sustrato, para que no se genere falsos positivos

Sexta Etapa

Se llevó la placa al lector ELISA, utilizando el filtro especificado en el inserto del kit.

En este paso se puede programar el lector ELISA para que reste automáticamente la absorbancia del blanco de todos los valores (la absorbancia del blanco corresponde a la reactividad inespecífica).

El resultado de la reacción se dio por la lectura de la absorbancia de la muestra la densidad óptica (D.O.), cuanto más intenso es el color producido por la reacción, mayor será el valor de absorbancia.

“Para cada una de las muestras en estudio se debe registrar la Densidad Óptica de la muestra y el Cut-Off de la placa.

Interpretación de los resultados

Cada kit comercial indica como calcular el valor del Cut- Off (punto de corte), en base a los valores de los controles positivos y negativos, por encima o por debajo de este valor las muestras son consideradas positivas o negativas.

Las muestras indeterminadas o dudosas son aquellas que están incluidas en la zona próxima al valor del cut- off no se pueden tener certeza del resultado .El Cut-Off se calcula usando los valores de absorbancia de los pocillos correspondientes a los controles positivos bajos y de los controles negativos .

Un suero será positivo cuando su absorbancia sea mayor que el valor del Cut-Off, un suero será negativo cuando su absorbancia sea menor al valor del Cut-Off..Si la absorbancia del suero es el valor del Cut-Off +/- 10%, repetir la prueba para esa muestra, las densidades ópticas se tomara del protocolo de trabajo (anexo 5)

3.7. Delimitación de la investigación

a) Delimitación geográfica

El trabajo se realizó en el Laboratorio Regional de Chagas del Servicio Departamental de Salud de Potosí

b) Sujetos y/u objetos que participaran en la realización de estudio

Todos los pacientes con enfermedad de Chagas que asistieron al Laboratorio Regional de Chagas del Servicio Departamental de Salud de Potosí, de junio a noviembre de 2013.

c) Delimitación Temporal La investigación se llevo a cabo en un periodo comprendido de junio-noviembre de 2013

**CAPITULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

4.1. Resultados

4.1.1. Resultados Descriptivos

**TABLA N° 3
DISTRIBUCION DE LA POBLACION DE ESTUDIO SEGÚN EDAD**

| Edad años | Frecuencia | Porcentaje |
|------------------|-------------------|-------------------|
| <=10 | 47 | 18,6 |
| 11 A 20 | 45 | 17,8 |
| 21 A 30 | 63 | 24,9 |
| 31 A 40 | 48 | 19 |
| 41 A 50 | 29 | 11,5 |
| 51 A 60 | 18 | 7,1 |
| 61 A 70 | 3 | 1,2 |
| Total | 253 | 100 |

En la presente investigación participaron un mayor porcentaje los pacientes de 21 a 30 años (24,9%), luego adultos de 31 a 40 años (19%), seguida por el grupo etario de menor a diez años (18,6%) y pacientes entre 11 a 20 años (17,8%). En menores porcentajes los otros grupos etarios (Tabla N°3).

GRAFICO N° 1
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN SEXO

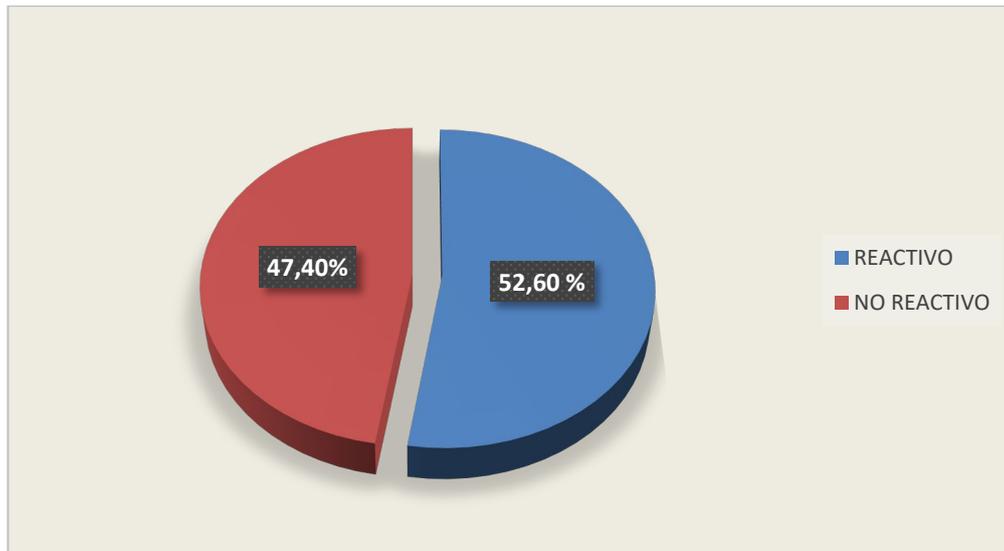


La distribución de la población según sexo fue la siguiente: el 58,1% correspondió al sexo femenino y el 49,1% al sexo masculino (Gráfico N°1).

TABLA N° 4
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN PROCEDENCIA

| PROCEDENCIA | FRECUENCIA | % |
|--------------------|-------------------|---------------|
| Potosi | 72 | 28,5% |
| Betanzos | 34 | 13,4% |
| Puna | 53 | 20,9% |
| Cotagaita | 7 | 2,8% |
| Villazon | 3 | 1,2% |
| Vitichi | 19 | 7,5% |
| Caiza D | 14 | 5,5% |
| Ckochas | 5 | 2,0% |
| Tinquipaya | 1 | 0,4% |
| Tomave | 8 | 3,2% |
| Chaqui | 9 | 3,6% |
| Tacombamba | 20 | 7,9% |
| Ravelo | 3 | 1,2% |
| Ocuri | 1 | 0,4% |
| Toro Toro | 2 | 0,8% |
| San Pedro | 2 | 0,8% |
| Total | 253 | 100,0% |

Según procedencia el 28,5% de los participantes procedían de la ciudad de Potosí, seguido de los Municipios de Puna (20,9 %) ,Betanzos (13,4 %) y en menores porcentajes del resto de los Municipios (Tabla N°4)

GRAFICO N° 2**DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN RESULTADO DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO DE CHAGAS**

Como se observa en el gráfico N°2 la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la población de estudio fue de 52,60%.

4.1.2.Resultados Bivariantes

TABLA N°5

**DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN EDAD Y
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS**

| RESULTADO | | | | | |
|----------------|------------|--------------|------------|--------------|-----------|
| | NEGATIVO | | POSITIVO | | |
| EDAD AÑOS | Frecuencia | % | Frecuencia | % | TOTAL |
| <=10 | 42 | 35,0% | 5 | 3,8% | 47 |
| 11 A 20 | 36 | 30,0% | 9 | 6,8% | 45 |
| 21 A 30 | 20 | 16,7% | 43 | 32,3% | 63 |
| 31 A 40 | 10 | 8,3% | 38 | 28,6% | 48 |
| 41 A 50 | 7 | 5,8% | 22 | 16,5% | 29 |
| 51 A 60 | 4 | 3,3% | 14 | 10,5% | 18 |
| 61 A 70 | 1 | 0,8% | 2 | 1,5% | 3 |
| TOTAL | 120 | 100% | 133 | 100,00% | 253 |

Como se observa en la tabla N°5 los pacientes comprendidos de entre las edades de 21- 50 años presentaron la mayor frecuencia de seropositividad a diferencia de los pacientes menores a 20 años y mayores a 52 años.

TABLA N° 6
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN SEXO Y
DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

| Sexo | RESULTADO | | | | TOTAL | |
|------------------|-----------|------|-----------|-------------|------------|------|
| | NEGATIVO | | POSITIVO | | | |
| | N° | % | N° | % | N° | % |
| Femenino | 60 | 34,6 | 87 | 65,4 | 147 | 58,1 |
| Masculino | 60 | 65,4 | 46 | 34,6 | 106 | 41,9 |
| TOTAL | 120 | 100 | 133 | 100 | 253 | 100 |

Como se observa en la tabla N°6, las participantes de sexo femenino presentaron mayor porcentaje de seropositividad (65,4%) en relación a pacientes del sexo masculino 34,6%.

TABLA N° 7
DISTRIBUCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO SEGÚN PROCEDENCIA
Y DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS

| PROCEDENCIA | FRECUENCIA | POSITIVOS | % | NEGATIVOS | % |
|--------------|------------|------------|----------------|------------|----------------|
| Potosí | 72 | 20 | 15,00% | 52 | 43,30% |
| Betanzos | 34 | 21 | 15,80% | 13 | 10,80% |
| Puna | 53 | 32 | 24,10% | 21 | 17,50% |
| Cotagaita | 7 | 5 | 3,80% | 2 | 1,70% |
| Villazon | 3 | 0 | 0,00% | 3 | 2,50% |
| Vitichi | 19 | 11 | 8,30% | 8 | 6,70% |
| Caiza D | 14 | 9 | 6,80% | 5 | 4,20% |
| Ckochas | 5 | 5 | 3,80% | 0 | 0,00% |
| Tinquipaya | 1 | 1 | 0,80% | 0 | 0,00% |
| Tomave | 8 | 5 | 3,80% | 3 | 2,50% |
| Chaqui | 9 | 5 | 3,80% | 4 | 3,30% |
| Tacobamba | 20 | 16 | 12,00% | 4 | 3,30% |
| Ravelo | 3 | 1 | 0,80% | 2 | 1,70% |
| Ocuri | 1 | 0 | 0,00% | 1 | 0,80% |
| Toro Toro | 2 | 1 | 0,80% | 1 | 0,80% |
| San Pedro | 2 | 1 | 0,80% | 1 | 0,80% |
| Total | 253 | 133 | 100,00% | 120 | 100,00% |

En la tabla N° 7 se observa que el mayor porcentaje de seropositividad según procedencia se destaca el Municipio de Puna con un 24,10%, seguido de Betanzos y Potosí con un 15,00% respectivamente.

4.1.3. Cálculos de valores predictivos para las pruebas serológicas

TABLA N° 8
TABLA DE CONTINGENCIA SEGÚN RESULTADO DE SEROPREVALENCIA
MEDIANTE INMUNOCROMATOGRAFÍA Y ENFERMEDAD DE CHAGAS EN
LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

| PRUEBA DIAGNOSTICA | | CHAGAS | | TOTALES |
|---------------------|----------------|-------------|-------------|---------|
| | | ENFERMOS | SANOS | |
| INMUNOCROMATOGRAFIA | REACTIVO | 127 (VP) | 3 (FP) | 130 |
| | NO REACTIVO | 6 (FN) | 117 (VN) | 123 |
| TOTALES | | 133 | 120 | 253 |

Como se observa en la Tabla N° 8 de 130 pacientes que con resultado reactivo por la prueba rápida Inmuncromatografia 127 resultaron con diagnostico verdadero positivo para la enfermedad de Chagas, y de 123 con resultado no reactivo para Inmuncromatografia 117 presentaron diagnóstico verdadero negativo.

Cálculo de la Sensibilidad:Prueba Rápida Inmuncromatografia para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Sensibilidad } S = \frac{VP}{VP+FN} = \frac{127}{127+6} \times 100 = 95.48 \%$$

Mediante la prueba rápida inmunocromatográfica un individuo enfermo con Chagas tiene la probabilidad de 95,48% de resultar como reactivo para esta prueba. Por lo tanto la capacidad de este test para detectar la enfermedad en la población de estudio fue de 95,48%

Cálculo de la Especificidad: Prueba Rápida Inmunocromatografía para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Especificidad } E = \frac{VN}{FP + VN} = \frac{117}{3 + 117} \times 100 = 97,50 \%$$

La especificidad de la prueba fue de 97,50%, lo que significa que del 100% de pacientes analizados con la prueba rápida de inmunocromatografía el 96,67% fueron individuos sanos.

Cálculos del Valor predictivo positivo

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 = \frac{127}{127 + 3} \times 100 = 97,69\%$$

El 97,69% de los pacientes con resultado reactivo para la prueba inmunocromatográfica tienen la probabilidad de presentar un verdadero diagnóstico positivo de la enfermedad.

Cálculo del Valor Predictivo Negativo:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \times 100 = \frac{117}{6 + 117} \times 100 = 95,12 \%$$

La probabilidad de que un sujeto con resultado negativo para la prueba rápida inmunocromatográfica esté realmente sano es de 95,12%

Razones de probabilidad

Cálculo de la razón de verosimilitud positiva o cociente de probabilidad positiva

$$RV+ = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

$$RV = 38,20$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población de estudio por inmunocromatografía sea un resultado concreto positivo (presencia de la enfermedad) es de 38,20 veces

Cálculo de la razón de verosimilitud negativo o cociente de probabilidad negativo

$$RV^- = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

$$RV = 0,05$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población sana que participó en el estudio por inmunocromatografía sea un resultado reactivo (ausencia de la enfermedad) es de 0,05 veces.

Valor Global

$$VG = \frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$$

$$VG = 0,9644268 \times 100 = 96,44\%$$

Como el Valor Global es la probabilidad de resultados válidos entre la totalidad de las pruebas efectuadas, el Valor Global de la Prueba rápida inmunocromatográfica fue de 96,44%, en la población de estudio.

TABLA N°9

**TABLA DE CONTINGENCIA SEGÚN RESULTADO DE SEROPREVALENCIA
MEDIANTE PRUEBA SEROLÓGICA DE HAI Y ENFERMEDAD DE CHAGAS
EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO**

| PRUEBA DIAGNOSTICA | | CHAGAS | | TOTALES |
|--------------------|----------------|-------------|-------------|---------|
| | | ENFERMOS | SANOS | |
| HAI | REACTIVO | 128 (VP) | 4 (FP) | 132 |
| | NO REACTIVO | 5 (FN) | 116 (VN) | 121 |
| TOTALES | | 133 | 120 | 253 |

Como se observa en la Tabla N° 9 de 132 pacientes con resultado reactivo por la prueba serológica de HAI 128 resultaron con diagnóstico verdadero positivo para la enfermedad de Chagas, y de 121 con resultado no reactivo para serología HAI 116 presentaron diagnóstico verdadero negativo.

Cálculo de la Sensibilidad: Prueba serológica HAI para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Sensibilidad } S = \frac{VP}{VP+FN} = \frac{128}{128+5} \times 100 = 96,24 \%$$

Mediante la prueba serológica HAI un individuo enfermo con Chagas tiene la probabilidad de 96,24% de resultar como reactivo para esta prueba. Por lo tanto la capacidad de este test para detectar la enfermedad en la población de estudio fue de 96,24%

Cálculo de la Especificidad: Prueba serológica HAI para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Especificidad } E = \frac{VN}{FP + VN} = \frac{116}{4 + 116} \times 100 = 96.67\%$$

La especificidad de la prueba fue de 96,67%, lo que significa que del 100% de pacientes analizados con la prueba HAI el 96,67% fueron individuos sanos.

Cálculos del Valor predictivo positivo

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 = \frac{128}{128 + 4} \times 100 = 96,97\%$$

El 96,97% de los pacientes con resultado reactivo para la prueba serológica de H.A. tienen la probabilidad de presentar un verdadero diagnóstico positivo de la enfermedad.

Cálculo del Valor Predictivo Negativo:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \times 100 = \frac{116}{5 + 116} \times 100 = 95,87\%$$

La probabilidad de que un sujeto con resultado negativo para la prueba serológica de HAI para Chagas esté realmente sano es de 95,87%.

Razones de probabilidad

Cálculo de la razón de verosimilitud positiva o cociente de probabilidad positiva.

$$RV+ = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

$$RV = 28,87$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población de estudio por serología de HAI sea un resultado concreto positivo (presencia de la enfermedad) es de 28,87 veces.

Cálculo de la razón de verosimilitud negativo o cociente de probabilidad negativo

$$RV^- = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

$$RV = 0,04$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población sana que participó en el estudio por serología HAI sea un resultado reactivo ausencia de la enfermedad) es de 0,04 veces.

Valor Global

$$VG = \frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$$

$$VG = 0,96442688 \times 100$$

$$VG = 0,9644268 \times 100 = 96,44\%$$

Como el Valor Global es la probabilidad de resultados válidos entre la totalidad de las pruebas efectuadas, el Valor Global de la Prueba rápida serológica de HAI fue de 96,44%, en la población de estudio.

TABLA N°10

**TABLA DE CONTINGENCIA SEGÚN RESULTADO DE SEROPREVALENCIA
MEDIANTE ELISA CONVENCIONAL Y ENFERMEDAD DE CHAGAS EN LA
POBLACIÓN DE ESTUDIO**

| PRUEBA DIAGNOSTICA | | CHAGAS | | TOTALES |
|--------------------|----------|----------|-------------|---------|
| | | ENFERMOS | SANOS | |
| ELISA | POSITIVO | 130(VP) | (FP) 1 | 131 |
| | NEGATIVO | 2 (FN) | (VN) 120 | 122 |
| TOTALES | | 133 | 120 | 253 |

Como se observa en la Tabla N° 10 de 131 pacientes con resultado positivo por la prueba de ELISA convencional de 130 resultaron con diagnóstico verdadero positivo para la enfermedad de Chagas, y de 122 con resultado negativo para ELISA 120 presentaron diagnóstico verdadero negativo.

Cálculo de la Sensibilidad: Prueba ELISA convencional para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Sensibilidad } S = \frac{VP}{VP+FN} = \frac{130}{130+2} \times 100 = 98,48 \%$$

Mediante la prueba ELISA convencional un individuo enfermo con Chagas tiene la probabilidad de 98,48% de resultar como positivo

para esta prueba. Por lo tanto la capacidad de este test para detectar la enfermedad en la población de estudio fue de 98,48%

Cálculo de la Especificidad: Prueba ELISA convencional para el diagnóstico de la Enfermedad de Chagas

$$\text{Especificidad } E = \frac{VN}{FP + VN} = \frac{120}{1 + 120} \times 100 = 99,17\%$$

La especificidad de la prueba fue de 99,17 %, lo que significa que del 100% de pacientes analizados con la prueba ELISA convencional el 99,17% fueron individuos sanos.

Cálculos del Valor predictivo positivo

$$VPP = \frac{VP}{VP + FP} \times 100 = \frac{130}{130 + 1} \times 100 = 99,24\%$$

El 99,24% de los pacientes con resultado positivo para la prueba ELISA convencional tienen la probabilidad de 99,24% de presentar un verdadero diagnóstico positivo de la enfermedad.

Cálculo del Valor Predictivo Negativo:

$$VPN = \frac{VN}{FN + VN} \times 100 = \frac{120}{2 + 120} \times 100 = 98,36\%$$

La probabilidad de que un sujeto con resultado negativo para la prueba ELISA convencional para Chagas esté realmente sano es de 98,36%.

Razones de probabilidad

Cálculo de la razón de verosimilitud positiva o cociente de probabilidad positiva.

$$RV+ = \frac{\text{Sensibilidad}}{1 - \text{Especificidad}}$$

$$RV = 98$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población de estudio por ELISA convencional sea un resultado concreto positivo (presencia de la enfermedad) es de 98 veces.

Cálculo de la razón de verosimilitud negativo o cociente de probabilidad negativo

$$RV^- = \frac{1 - \text{Sensibilidad}}{\text{Especificidad}}$$

$$RV = 0,02$$

La probabilidad de que un resultado de la Enfermedad de Chagas en esta población sana que participó en el estudio por ELISA convencional, sea un resultado reactivo (ausencia de la enfermedad) es de 0,015 veces.

Valor Global

$$VG = \frac{VP + VN}{VP + FP + VN + FN}$$

$$VG = 0,98814229 \times 100 = 98,8\%$$

Como el Valor Global es la probabilidad de resultados válidos entre la totalidad de las pruebas efectuadas, el Valor Global de la Prueba ELISA convencional fue de 98,8%, en la población de estudio.

TABLA N°11
TABLA COMPARATIVA DE LAS PRUEBAS REALIZADAS EN EL
LABORATORIO DE VECTORES POTOSI, JUNIO-NOVIEMBRE DE 2013

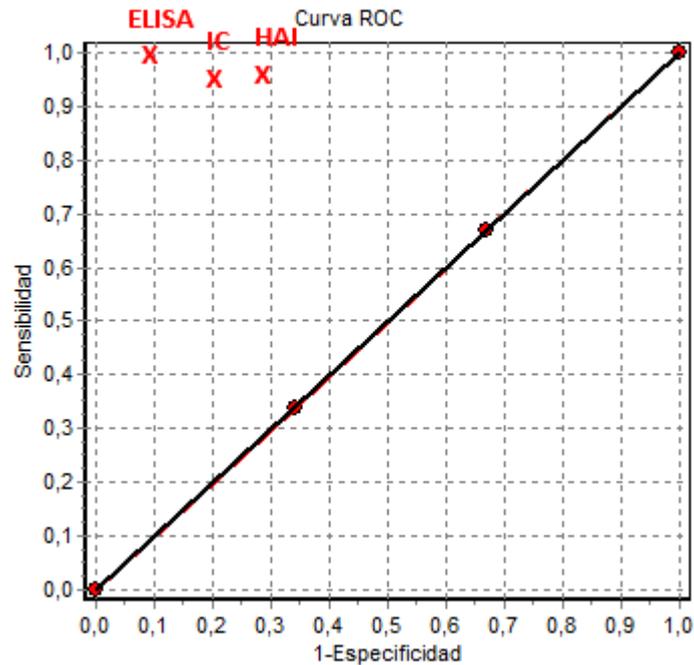
| PRUEBAS | S % | E % | VP(+) % | VP (-) % | RV(+) % | RV (-)% | VG % |
|---------|-------|-------|---------|----------|---------|---------|-------|
| IC | 95,48 | 97,5 | 97,69 | 95,12 | 38,2 0 | 0,05 | 96,46 |
| HAI | 96,24 | 96,67 | 96,97 | 95,87 | 28,87 | 0,04 | 96,44 |
| ELISA | 98,48 | 99,17 | 99,24 | 98,36 | 98 | 0,015 | 98,8 |

- Sensibilidad
- Especificidad
- Valor Predictivo Positivo
- Valor predictivo Negativo
- Razón de Verosimilitud Positivo
- Razón de Verosimilitud Negativo
- Valor Global

4.1.4. ELABORACION DE LA CURVA ROC

| | IC % | HAI % | ELISA % |
|---|------|-------|---------|
| S | 0,96 | 0,96 | 0,98 |
| E | 0,2 | 0,3 | 0,1 |

Gráfico N° 3 Aplicación de la curva ROC en las medidas de exactitud de las pruebas serológicas ELISA , Inmunocromatografía y Hemaaglutinación Indirecta



Como se observa en el gráfico N°3 los puntos de unión entre la sensibilidad y 1- especificidad de las pruebas serológicas ELISA convencional Inmunocromatografía y Hemaglutinación Indirecta se ubican en el cuadrante superior del gráfico lo que corrobora que las tres pruebas son confiables para el diagnóstico serológico de la Enfermedad de Chagas

Resultado del control de calidad interno de las pruebas de diagnóstico de la enfermedad de Chagas

Se realizó el control de calidad interno con el 10% de muestras no reactivas para inmunocromatografía (25 muestras), las cuales fueron probadas con las técnicas de HAI y ELISA convencional, todas muestras resultaron no reactivas para ambas pruebas.

Resultado del control de calidad externo de las pruebas de diagnóstico de la enfermedad de Chagas

El Programa Nacional de Chagas enviaron 10 muestras reactivas (suero sanguíneo) y 10 muestras no reactivas para que fueran probadas en el laboratorio los resultados obtenidos fueron los siguientes:

Tabla N° 12
Control de calidad externo de las pruebas diagnósticas de la enfermedad de Chagas

| Reactivo | Sueros reactivos Programa Nacional | Resultado Laboratorio regional Potosí reactivos | Sueros No reactivos Programa Nacional | Resultado Laboratorio regional Potosí No reactivo |
|----------------------------|---|--|--|--|
| Inmunocromatografía | 10 | 10 | 10 | 10 |
| HAI | 10 | 10 | 10 | 10 |
| ELISA convencional | 10 | 10 | 10 | 10 |

Como se puede observar en la Tabla N° 12 las 10 muestras reactivas que fueron enviadas por el Laboratorio Nacional de Chagas todas resultaron reactivas para las tres pruebas de laboratorio IC, HAI y ELISA convencional. De la misma forma las 10 muestras no reactivas enviadas resultaron negativas para las tres pruebas. Estas 10 muestras reactivas y 10 muestras no reactivas fueron testeadas por pruebas utilizadas en el laboratorio Nacional de Chagas de la ciudad de La Paz, son enviadas con la finalidad de realizar un control externo a los laboratorios regionales.

4.2. DISCUSIÓN

Participaron en el estudio 253 pacientes, quienes fueron atendidos en el Laboratorio Regional de Chagas del Departamento de Potosí, durante los meses de junio a noviembre de 2013, todos estos pacientes se presentaron al laboratorio con una orden de solicitud de diagnóstico laboratorial, expedida por médicos que prestan servicios en los distintos consultorios de Nivel Primario dependientes del Servicio Departamental de Salud de Potosí. En cuanto a los motivos para la solicitud de diagnóstico laboratorial fueron: pacientes provenientes de zonas endémicas principalmente de sexo femenino y niños menores de 10 años y pacientes con signos cardiacos típicos de la enfermedad de Chagas.

Distribución de la población de estudio según edad, sexo y procedencia

Los pacientes comprendidos entre 21 a 30 años fueron quienes participaron con mayor frecuencia (24,9%).

Participaron en mayor porcentaje pacientes del sexo femenino (58,1%) en comparación con los pacientes del sexo masculino (40,9%).

El motivo por el cual participaron con mayor frecuencia pacientes comprendidos entre 21 y 30 años y de sexo femenino, se debe al resultado de actividades de interacción, educación y comunicación por el Programa Departamental de Chagas que tiene como objetivo concientizar a la población la detección de Chagas congénito.

La mayor frecuencia de los participantes según procedencia fueron los habitantes del Municipio de Potosí, la mayoría de estos pacientes presentaron como antecedente ser inmigrantes de zonas endémicas de la Enfermedad de Chagas.

Seroprevalencia de la enfermedad de Chagas en la población estudiada

La seroprevalencia de la Enfermedad de Chagas en la población de estudio fue de 52,60%, dato que coincide con la seroprevalencia de 50% reportada en Bolivia por el Ministerio de Salud.

El grupo etario que presentó elevada seroprevalencia comprendido entre 21 a 50 años correspondiendo al 77,4% del total de casos positivos. Este dato revela que antes del año 1998 no se realizaba el tratamiento químico de las

viviendas. Al no existir control de vector de la enfermedad (*Triatoma infestans*) la transmisión vectorial era la principal forma de adquirir la enfermedad de Chagas.

Posteriormente se incursionó con el uso de insecticidas piretroides (deltametrina y alfacipermetrina) junto al mejoramiento de las viviendas y la educación en la población susceptible para evitar la transmisión vectorial. Es así que los grupos etarios menores a 20 años presentaron prevalencias menores. Resultados similares se destacan en países como Brasil, Venezuela, Chile, Colombia y Argentina, donde también se reportan menores frecuencias de seroprevalencia en poblaciones jóvenes, como resultado de la eliminación de los triatominos en los domicilios, ahora la detección de casos positivos están dirigidos a Chagas congénito y la transmisión por transfusión sanguínea.

Según Moncayo la tasa de infección por transfusión sanguínea es del 20% y la prevalencia de Chagas congénito en Bolivia de 8% (Azogue y Darras). Países endémicos como Perú, Brasil, Paraguay y Argentina revelan prevalencias de Chagas congénito entre 5 a 40%.

Aunque la seroprevalencia de la enfermedad de Chagas no es relevante según el sexo, en la presente investigación el 65,4% del total de casos positivos corresponde al sexo femenino, dato que no se puede explicar desde el punto de vista epidemiológico.

El Municipio de Puna presentó la mayor prevalencia de casos seropositivos a la Enfermedad de Chagas (24,10%), seguida de Betanzos (15,80%), estos dos Municipios al igual que los demás son zonas endémicas de la Enfermedad de Chagas, debido a que se trata de valles con características climáticas adecuadas para el desarrollo y supervivencia de *Triatoma infestans*. A diferencia del Municipio de Potosí que no presenta estas características ya que se trata de una zona altiplánica.

Respecto a la relación seropositividad de la población según su procedencia se indica que los pacientes que residen en el Municipio de Potosí presentaron un 5% de prevalencia de seropositividad, debido a que la mayoría de ellos son inmigrantes de zonas endémicas y que radican en la ciudad por motivos laborales, algunos indicaron que nacieron en la ciudad de Potosí pero que sus

padres eran oriundos de zonas endémicas, surgiendo la posibilidad de una transmisión congénita.

Calidad de las pruebas serológicas convencionales

En el estudio se determinó la sensibilidad y especificidad, así como cálculos de los valores predictivos positivo y negativo, razones de probabilidad y el valor global de los test de diagnóstico laboratorial: Inmunocromatografía, Hemaglutinación indirecta y ELISA convencional para Chagas, pruebas que son utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad y fueron establecidas por el Programa Nacional de Chagas con sus respectivos protocolos.

Es importante mencionar que los protocolos elaborados por el Programa Nacional de Chagas se basan en las recomendaciones realizadas según el informe del Comité de expertos de la enfermedad de Chagas de la OMS en el año 2002, respecto al diagnóstico de la enfermedad especifican lo siguiente: se considera un resultado definitivo reactivo o positivo para la enfermedad cuando en dos pruebas de diagnóstico con fundamentos técnicos diferentes los resultados son concordantes, es decir reactivos, utilizando pruebas convencionales como HAI y ELISA convencional, en caso de discordancia se recurrirá a una tercera prueba como ELISA antígenos recombinantes o inmunofluorescencia indirecta. Se adopta esta recomendación, debido a la posibilidad de reacciones cruzadas con *Leishmaniaspp.* y *Trypanosoma rangeli*. En nuestro país al tratarse de una zona endémica de la enfermedad de Chagas es frecuente detectar reacción cruzada con leishmaniosis que es una enfermedad prevalente en el oriente Boliviano y en la zona de los Yungas.

Entonces, en el caso de la enfermedad de Chagas no existe una prueba Gold standard, sino resultados definitivos concordantes.

La importancia de los cálculos de sensibilidad y especificidad radican en la necesidad de conocer estos parámetros, debido a que los reactivos que se utilizan para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas son manufacturados en países como Argentina y Estados Unidos, con cepas del parásito propios y no así con cepas circulantes en Bolivia. Además que los datos de sensibilidad y especificidad reportadas por los fabricantes de mencionados reactivos no reportan haber probado con sueros procedentes de Bolivia a excepción del reactivo Stat Pack de industria EstadoUnidense que utiliza cepas del parásito

de procedencia Brasileira y reporta resultados de sensibilidad y especificidad con sueros Bolivianos.

Sensibilidad y Especificidad de la prueba inmunocromatográfica

La prueba Inmunocromatográfica Stat Pak por su elevada sensibilidad reportada por el fabricante de 98,5% y corroborada por estudios realizados en otros países como Argentina y Colombia que reportan una sensibilidad de 97 y 98% respectivamente dato publicado por la OMS. Esta prueba es utilizada en nuestro país, porque además de presentar elevada sensibilidad, es de fácil aplicación en zonas rurales endémicas ya que no se requiere de equipamiento ni refrigeración, tecnología que no se cuenta la mayoría de las comunidades del área rural.

En el estudio la sensibilidad detectada por la prueba Inmunocromatográfica fue de 95,48% y la especificidad 97,5%.

Por la especificidad reportada podemos inferir que el 97,5% de los pacientes reportados con un resultado negativo son individuos realmente sanos.

Según la CHEMBIO que es el fabricante de la prueba rápida denominada ChagasStat-Pak (reactivo utilizado en el estudio) reporta una sensibilidad de 98,5% y una especificidad de 96,0% testeando sueros de pacientes Brasileños procedentes de zonas endémicas (393 pacientes). También realizó pruebas con menores cantidades de muestras, especímenes que procedentes de Honduras, Venezuela, Bolivia y Argentina. Reportaron que de 21 muestras Bolivianas 10 procedentes de pacientes chagásicos las 10 dieron resultado positivo y de 0/11 de pacientes no chagásicos.³³

De acuerdo a los resultados de los cálculos de los valores predictivos positivo y negativo. Se puede indicar que por el resultado del Valor predictivo positivo de 97,69%, se tiene la certeza que aplicando la prueba de tamizaje por Inmunocromatografía un individuo tiene la probabilidad de resultar reactivo en un 97.69%. Por los cálculos del Valor predictivo negativo la probabilidad de que un individuo no presente la enfermedad es de 95,15%. Ambos valores indican que la prueba es confiable para la emisión de resultados en la población de estudio.

De igual manera se confirma con los resultados de los cálculos de razones de probabilidad, debido a que la razón de probabilidad positiva de 38,29 indica que un individuo con un resultado concreto positivo, su probabilidad de ser positivo es de 38,20 veces y la probabilidad que un individuo sano de un resultado positivo es de 0,05 veces.

Con el resultado del Valor Global, la probabilidad de resultados válidos de la totalidad de las pruebas efectuadas fue de 96,44% en la población de estudio.

Con todos estos datos se puede concluir que los resultados por la prueba Inmunocromatográfica utilizando el reactivo StatPak presentan parámetros de exactitud superiores al 95% y son confiables.

También es importante indicar que rutinariamente se realizó un control interno de las muestras positivas y negativas mediante pruebas de Hemaglutinación Indirecta del 10% de cada una de las categorías, protocolo establecido por el Programa Nacional de Chagas.

Sensibilidad y Especificidad de la prueba serológica Hemaglutinación Indirecta

La interpretación de resultados en la prueba H.A.I. se realiza en base a diluciones; una dilución igual o superior a 1/16 se considera reactivo, por tratarse una zona endémica, donde podría detectarse pacientes con diluciones menores a 1/16, sin presentar la enfermedad, este valor de corte fue establecido por el Programa Nacional de Chagas, según recomendaciones de la OMS.

La prueba de Hemaglutinación Indirecta, además de utilizarse como prueba de descarte tiene la ventaja de permitir realizar un seguimiento durante el tiempo en pacientes recién nacidos con diagnóstico presuntivo de Chagas congénito, detectando un aumento de los títulos.

Para la aplicación de la prueba serológica HAI, se requiere de instrumental especial, refrigeración y equipos, además que la lectura se realiza después de dos horas, esto hace que sea difícil aplicar esta técnica en el área rural, sin embargo es útil en las ciudades y zonas que cuentan con laboratorios de segundo nivel, por su alta sensibilidad que oscila entre 96 y 98% según la OMS.

En el estudio la prueba serológica H.A.I.tuvo una sensibilidad de 96,24% y una especificidad de 96,67%.

De acuerdo al cálculo del valor predictivo positivo de 96,97% de los pacientes con resultado reactivo para la prueba serológica HAI presentaron la probabilidad de estar enfermos. Y por el valor predictivo negativo de 95,87% indique que un individuo presenta la probabilidad en un 95,87% de estar sano.

Por el dato de la razón de probabilidad positiva; un individuo con resultado positivo para HAI presenta la probabilidad de 28,87 veces de ser positivo para la prueba. Y por el valor obtenido de la razón de probabilidad negativa, significa que un individuo sano presenta la probabilidad de positividad es de 0,04 veces.

El valor global obtenido en la prueba de 96,44% indica en la población de estudio el 96,44% presenta la probabilidad de presentar resultados válidos.

Por consiguiente por todos estos valores obtenidos se puede indicar que la prueba serológica HAI es una prueba adecuada para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas, principalmente como prueba de descarte.

Según los valores de sensibilidad y especificidad reportados por el fabricante de la prueba HAI utilizado en el estudio (HAI Polychaco), a una dilución de 1/16 fueron: sensibilidad 98% y especificidad 99%, las muestras testeadas fueron de procedencia Argentina, aunque los valores de estas pruebas de exactitud fueron menores (96,24% de sensibilidad y 96,67% de especificidad), se considera como una prueba que se puede aplicar confiablemente en nuestro medio. ³⁴

Sensibilidad y Especificidad de la prueba ELISA convencional

De acuerdo al reporte de la Organización de la Salud, la prueba ELISA convencional tiene una sensibilidad buena y una excelente especificidad (99 y 100% respectivamente). Pero presenta la desventaja de requerir equipamiento, por lo que solo se puede aplicar en laboratorios de segundo y tercer nivel, donde se realiza la confirmación de casos positivos.

La sensibilidad detectada en el estudio por la prueba ELISA fue de 98,48% y la especificidad de 99,17%, en este caso tanto la sensibilidad como la

especificidad presentan valores cercanos al 100%, lo que demuestra que es la mejor prueba para utilizarla como test confirmatorio de la enfermedad.

La prueba de ELISA aplicada en el estudio presenta un valor predictivo positivo de 99,24%, es decir, que la probabilidad que presenta un individuo se estar enfermo es de 99,24%. Y por el valor predictivo negativo la probabilidad de que un individuo no presente la enfermedad es de 98,36%.

De acuerdo a la razón de probabilidad positiva por la prueba de ELISA un individuo con la enfermedad presenta la probabilidad de ser positivo es de 98 veces.

Por el cálculo de la Razón de probabilidad negativa por esta prueba un individuo con la enfermedad presenta la probabilidad de ser positivo de 0,015 veces.

De acuerdo al Valor Global de la prueba de ELISA convencional, la probabilidad de que los resultados sean válidos en la población de estudio fue de 98,8%.

El test utilizado en el estudio fue ELISA Wiener de fabricación Argentina, el fabricante reporta una sensibilidad de 99,1% y una especificidad de 99,29% tras analizar muestras procedentes de zonas endémicas como Brasil y Argentina.

En el estudio presentado por el fabricante utilizó 94 muestras con serología positiva coincidente por dos métodos de referencia la sensibilidad de 99,1%.

Y sobre otro panel de 348 muestras con serología negativa coincidente por dos métodos de referencia la especificidad fue del 99 %.

Un estudio similar realizado por el personal bioquímico de la Secretaría de Salud de Honduras, quienes probaron el mismo test, reportaron valores similares al presente estudio, 99% de sensibilidad y 99% de especificidad.²³

De la misma forma, en los últimos años en países de Centroamérica y Sudamérica, han logrado una considerable experiencia en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas con las tres pruebas evaluadas en el estudio, en general reportan que el 95% de los sueros testeados presentan resultados concordantes para las tres pruebas.²⁴

Los resultados discordantes detectados entre dos de ellas, puede deberse a errores técnicos o a la presencia de sueros poco habituales como una reacción cruzada con *Leishmania* spp. en este caso la utilización de una tercera prueba no convencional como ELISA con antígenos recombinantes elucidó el problema, debido a que esta prueba presenta una especificidad del 100%.²⁶

La única forma de garantizar que los resultados de diagnóstico serológicos sean correctos es la observancia de buenas prácticas de laboratorio, incluida la aplicación de procedimientos de control de la calidad y la evaluación periódica del desempeño del laboratorio, junto a la evaluación de los reactivos antes de utilizarlos.

Finalmente indicar que las pruebas utilizadas para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas en nuestro medio son las adecuadas por los valores de exactitud reportados.

V.- CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Con el presente trabajo, se concluye que la seroprevalencia para la población de estudio fue de 52,60%, con mayor número de casos positivos en pacientes comprendidos entre los 21 a 50 años, y con menor frecuencia de casos positivos en pacientes menores de 20 años. Estos datos coinciden con el inicio del control químico del vector *Triatoma infestans* en el año 1998 en Bolivia que permitió el descenso de la prevalencia en los individuos de menor edad. También es importante relevar el papel desempeñado por las actividades de educación y mejoramiento de viviendas en zonas endémicas.
- Según procedencia de los 21 Municipios endémicos de Chagas el más destacable fue Puna con un 24,10% de seroprevalencia seguida por Betanzos (15,80%) y el Municipio de Potosí (15,0%), prevalencia detectada en pacientes inmigrantes de zonas endémicas o con una posible transmisión congénita en algunos casos.
- Los valores de sensibilidad y especificidad reportados en la presente investigación fueron superiores al 95%. Por orden de importancia se concluye que la prueba de ELISA convencional (Wiener de fabricación Argentina) presentó una sensibilidad de 98,48% y una especificidad de 99,17% valores que garantizan la utilización de este test como prueba confirmatoria de la enfermedad de Chagas en nuestro medio.
- En cuanto a la prueba de descarte HAI de la industria Polychaco (Argentina) también presentan una sensibilidad de 96,24% y una especificidad de 96,67%, a una dilución de 1/16, datos que permiten confiar en los diagnósticos de descarte emitidos con muestras de la región.
- Respecto a la prueba de tamizaje por inmunocromatografía Sta-Pak la sensibilidad detectada en el estudio fue de 95,48% y la especificidad de 97,5%, valores de igual manera confiables para su utilización en zonas endémicas sobre todo rurales.

- Finalmente se puede inferir que la antigenicidad de las cepas circulantes en Bolivia y Argentina son similares, debido a que al probar reactivos de nacionalidad Argentina se detectó elevada sensibilidad y especificidad.

5.2. RECOMENDACIONES

- Se recomienda continuar con las actividades del Programa Departamental de Chagas, para continuar realizando diagnósticos oportunos y tratamientos a los enfermos y su calidad de vida.
- Realizar siempre pruebas de sensibilidad y especificidad por ser importantes para el control de los reactivos que se están comprando y utilizando para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas.
- Aunque en el estudio se detectó que la sensibilidad y especificidad fueron superiores al 95% utilizando reactivos de nacionalidad Argentina y Estados Unidos, se recomienda incentivar la manufacturación de reactivos en Bolivia donde se utilicen cepas circulantes en nuestro país.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Alfred J., Noireua, F Guillen, G. *Enfermedad De Chagas en Bolivia;* Ministerio de Salud y Previsión Social, ed. 5ª 8ª, editorial imagen creación, La paz- Bolivia 2005, pp. 84-95
2. Arata, Chagas en Bolivia: el trabajo del Programa Piloto de Control SNS/CCH, ed. Universitaria, ed. imagen & creación La Paz Bolivia 2006, pp.94 - 96.
3. Basso. G., Basso, Bibiloni, A. Investigaciones sobre la Enfermedad de Chagas Mazza, editorial Universitaria Buenos Aires 2001, pp. 22-35-40- 41-80.
4. Da Silveira J.F, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinante Trypanosoma, 6ª ed. 2005, pp. 82-91-95-99
5. Reaction for the diagnois of the chronic plase of human infection with Trypanosoma cruzi.Parasitólogo Revista de Salud Publica Volumen 15(2), marzo 2013
6. Torrico F G, Buitrago R. Mita N.ROJAS A., Programa Nacional de Control de Chagas: Manual de procesos para la detección, tratamiento y seguimiento de la enfermedad de Chagas infantil, ed. Panamericana 2006, pp.16-20-30-35-60-74-88.
7. Germán Guillen, Nilda Cuestas Yáñez, Funciones y Procesos Técnico Administrativos Programa Nacional de Chagas, ed. Ministerio de Salud y Previsión Social, 2002-2007, pp. 15- 23- 35-39.
8. Médicos sin Frontera España. Protocolo de tratamiento etiológico de la Enfermedad de Chagas para menores de 18 años y manejo de las reacciones adversas, 6ª y 8ª ed. Proyecto Sucre 2000, pp. 77-95.
9. Enciso C, Montilla M, Santacruz M, Rodríguez A, Mercado M, et al. Comparación de la prueba de Inmunofluorescencia indirecta, un Inmunoensayo

enzimático y la prueba comercial Chagatek para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. Rev. Biomedical. 2004, pp. 24:104 - 8.

10. Castro IS, Luquetti AO, Rassi A, Rassi GG, Chiari E, Galvao LM. Blood culture and polymerase chain reaction for the diagnosis of the chronic phase of human infection with *Trypanosoma cruzi*. Parasitology, Rev. Infect Dis 2001 13:1224-1226.

11. Cartier, Días JCP, Hontebeyrie M, Torrico *Trypanosoma Americano o Mal de Chagas*. In: edition Elsevier SAS, ed. Enciclé. Méd. Paris: 2012, p.21

12. LV Kirchhoff. "Genero *Trypanosoma*: biología de los tripanosomas" en Mandell, Bennett y Dolin. Enfermedades Infecciosas. Principios y Prácticas 2004, pp. 120-140.

13. Botero David "Parasitosis Humana", 4ta ed. CIB Medellín Colombia. 2003, pp. 121-131

14. Atías Antonio "*Parasitología Clínica*", Santiago de Chile, Editorial Mediterráneo, 1998, pp.139 -160.

15. (1) Campañas contra el Mal de Chagas, Bolivia. Disponible en : www.iadb.org/idbamerica/stonis

16. Faustino Torrico, "Mal de Chagas", Cochabamba, Bolivia Disponible en: www.saludpublica.busp.org.bo/cgi/sys

17. Instituto nacional de estadística. "geografía de Bolivia", Aspectos Geográficos disponible en:

Disponible en: [Htt://www.ine.gov.bo/htm/visualizadorHtml.aspah](http://www.ine.gov.bo/htm/visualizadorHtml.aspah)

18. SITUACIÓN GEOGRÁFICA DE BOLIVIA, disponible en: <http://www.boliviajoven.org/departamentos/situacion.html>

19. Turismo e Historia, disponible en <http://www.bolivia.com/Turismo/ciudades/potosi/historia.htm>

- 20.** Ministerio de Salud y Deportes Dirección general de servicios de salud desarrollo de servicios de salud. Programa Nacional de Salud del niño y adolescente .Planes de rehidratación .Atención Integrada a las Enfermedades Prevalentes de la Infancia (AIEPI) cuadro de procedimientos 2012, pp. 14-20.
- 21.** Cabello López JB, Pozo Rodríguez F. Estudios de evaluación de las pruebas diagnósticas en cardiología, Rev. Esp. Cardiología 2013, pp. 50: 507-519
- 22.** Burgueño MJ, García Bastos JL, González Buitrago JM. Las curvas ROC en la evaluación de las pruebas diagnósticas, medicina clínica 2011, pp. 104:661-670
- 23.** Zweig MH, Campbell G. Receiver-operación características (ROC) slots: a fundamental evaluación tolo in clínica medicine, Clin Chema 2011, pp. 39: 561-577
- 24.** Sachet DL, Haynes RB, Guyatt GH, Tugwell P. Epidemiología clínica. Ciencia básica para la medicina clínica, 2ª ed. Madrid: Editorial médica panamericana; 2012, pp. 22 25-30.
- 25.** Lizarzabal M, Romero G, Rangel R. "Características sero-epidemiológicas y factores de riesgo de la Chagas"2002, pp.88- 94
- 26.** Inserto de wienner-lab.com.ar procedimiento para ensayo Inmunoenzimático Chagatest (ELISA) para la detección de anticuerpos contra Trypanosoma cruzi en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas Wiener Lob. Rosario Argentina 2003, p.66
- 27.** Sosa Estani, L. Dri, C.toures, Sábado Transmisión vectorial y congénita de Trypanosoma cruzi, en las Lomitas Formosa Buenos Aires 2009, pp.20, 69:424-43.
- 28.** Umezawa, E.; Nacimiento, M. y Stolf, A. Immunosorbent assay with Trypanosoma cruzi excreted-secreted antigens (TES-ELISA) for serodiagnosis of acute and chronic Changes disease.2012, p. 354

29. Moncayo A. Situación de la Enfermedad de Chagas en los países del Cono Sur Boletín de la Academia Nacional de Medicina de Buenos Aires 1997; 2013, pp. 75-77-82.

30. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical 2013, pp. 28(1):39-43,

31. Chagas Congenio en Bolivia: Estudio Comparativo de la eficacia y el costo de los métodos de Diagnóstico disponible:

www.msal.gov.ar/.../images/sorites/.../sintesis-guia-chagas

32. Esperanza A. Christian Darras Secretaria de Salud Laboratorio Central de Referencia para la Enfermedad de Chagas y Leishmaniosis Tegucigalpa, Honduras, 2005, pp. 65-80

33. Chembio test rápido para la detección de la enfermedad de Chagas Stat Pak inserto. Estados Unidos 2008, pp. 1- 4

34. Polychaco test de Hemaglutinación Indirecta para la detección de anticuerpos *Trypanosoma cruzi* en el diagnóstico de la enfermedad de Chagas Argentina 2006, pp. 3-5-9-

ANEXOS



ANEXO N° 1



MINISTERIO DE SALUD
UNIDAD DE EPIDEMIOLOGIA
PROGRAMA NACIONAL DE CHAGAS

SERVICIO DEPARTAMENTAL DE SALUD : _____
RED DE SALUD : _____
ESTABLECIMIENTO DE SALUD : _____

**CONSENTIMIENTO INFORMADO
PARA TRATAMIENTO DE LA ENFERMEDAD DE CHAGAS**

He sido informado(a), por el Personal de Salud que mi persona.....
.....nacido(a)
en fecha.....de.....años de edad, tiene la enfermedad de Chagas y las posibilidades de tratamiento.

El referido personal me informo sobre las consecuencias negativas a largo plazo de esta enfermedad, que se pueden presentar en mi salud, y que debe realizarse tratamiento con el medicamento benznidazol, a ser suministrado en forma gratuita, comprometiéndome formalmente a tomar las tabletas durante los sesenta días de tratamiento o el tiempo indicado por el Personal de Salud.

Asimismo declaro, que el personal de salud también me ha informado sobre los posibles efectos no deseados del medicamento. Por lo que, al aceptar el

Información necesaria para el tratamiento con Benznidazol

1. **¿Qué es?** Este tratamiento con Benznidazol se aplica a pacientes que tienen la Enfermedad de Chagas en su forma Crónica asintomática, diagnosticada mediante pruebas de Inmunocromatografía (Stat Pack) y/o pruebas serológicas.
2. **¿Para qué sirve?** Este medicamento elimina al parásito *Tripanosoma cruzi* en la sangre de las personas enfermas.
3. **¿Cómo se realiza?** Cada tableta de Benznidazol tiene una concentración de 100 mg. que debe ser dosificada de acuerdo al peso del (de la) paciente, divididas en dos tomas diarias, luego de las comidas. La duración del tratamiento es de 60 días, debiendo permanecer el paciente en permanente control.
4. **¿Qué riesgos tiene?** El medicamento debe administrarse previo examen médico exhaustivo, plasmado en la Historia clínica para definir el tratamiento. En su actual estado clínico, los beneficios derivados de la realización de este tratamiento superan los posibles riesgos. Por este motivo se le indica la conveniencia de que le sea practicado. Si aparecieran complicaciones que lleven a riesgo de agravar su salud, en caso necesario será transferido por el personal a un establecimiento de salud de mayor complejidad.

Las reacciones adversas más frecuentes son las de la **piel** (20%), **digestiva** (5,6%), **neuromuscular** (2,7%) y **hematológica** que son muy raras. Las manifestaciones de **piel** se presentan en su forma **leve** con escozor, manchas rojas y ronchas localizadas. En su forma **moderada** con fiebre, escozor intenso, manchas rojas y ronchas en todo el cuerpo y en su forma **grave** con fiebre, escozor intenso, manchas rojas, ronchas, ampollas, descamación, hinchazón, generalizados y compromiso de mucosas de los ojos, boca y genital.

Las manifestaciones **digestivas** se presentan con dolor de estómago, vómito y pérdida de apetito de diferente intensidad.

Las manifestaciones **neuromusculares** se presentan con dolor muscular, articular, sensación de hormigueo de diferente intensidad en extremidades, que pueden producir dificultad para caminar. Acompañado o no de dolor de cabeza.

5. **¿Hay otra alternativa de tratamiento?** Si, existe el medicamento NIFURTIMOX que se puede utilizar cuando las reacciones adversas del BENZNIDAZOL impiden continuar su uso.

Antes de firmar este formulario, no dude en pedir cualquier aclaración adicional que desee.

NOTA- Esta información debe ser explicada por el personal de salud al paciente, verificando su comprensión.

ANEXO Nº 2

LABORATORIO DE VECTORES



ANEXO N° 3

TOMA DE MUESTRA CAPILAR



PRUEBA RAPIDA DE IMMUNOCROMATOGRAFIA STAT-PACK



PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS SEROLÓGICAS



ANEXO N° 5

PROTOCOLO DE TRABAJO

(ESTANDARIZADO A NIVEL NACIONAL)

PROTOCOLO PRUEBA ELISA CONVENCIONAL

SEDES: LABORATORIO MUNICIPAL:
 ESTABLECIMIENTO DE SALUD: RESPONSABLE DE PROCESAMIENTO:

LABORATORIO DEPARTAMENTAL: RESPONSABLE DEL PROCESAMIENTO:

FECHA: .. / .. / .. KIT: F. VENC. .. / .. / .. LOTE CONJ. DIL. M: T° INCB:

| N° de Pozo | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 |
|------------|---------|---|---|---|---|---|---|---|---|---|----|----|----|
| A | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| B | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| C | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| D | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| E | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| F | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| G | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |
| H | Muestra | | | | | | | | | | | | |
| | Lectura | | | | | | | | | | | | |

| Negativos | D.O |
|-----------|-----|
| CN1 | |
| CN1 | |
| CN1 | |
| CN1 | |

| Positivos | D.O |
|-----------|-----|
| CP | |
| CP | |
| CPB | |
| CPB | |

Cut Off:

D O. Blanco

Observaciones:

.....

.....