

Diagnóstico molecular de la enfermedad de Chagas

Ignacio Martínez, Alejandra Cervantes-Landín y Bertha Espinoza*

Laboratorio de Investigación en Tripanosomiasis Americana, Departamento de Inmunología, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Resumen

La enfermedad de Chagas, causada por el parásito *Trypanosoma cruzi*, es un problema de salud en América y, recientemente, en Europa y Asia, debido a la migración desde las zonas endémicas. El diagnóstico se realiza tradicionalmente por métodos serológicos. Sin embargo, hay casos donde la presencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* no es conclusiva. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una herramienta que permite amplificar secuencias de ADN del parásito con alta especificidad y sensibilidad. Aunque no es una prueba de rutina, puede ser útil en casos con serología dudosa y ayudar a definir el mejor tratamiento médico.

PALABRAS CLAVE: Enfermedad de Chagas. Diagnóstico molecular.

Abstract

Chagas disease, caused by the parasite *Trypanosoma cruzi*, is a health problem in America and more recently in Europe and Asia, due to the migration of people from endemic areas. Diagnosis is traditionally performed by serological methods. However, there are cases in which the presence of anti-*T. cruzi* antibodies is not conclusive. The polymerase chain reaction (PCR) is a tool to amplify parasite DNA sequences with high specificity and sensitivity. Although it's not a routine test, it may be useful in cases with doubtful serology and it will help to determine the best medical treatment.

KEY WORDS: Chagas disease. Molecular diagnosis.

Epidemiología

La enfermedad de Chagas, causada por el protozoario hemoflagelado *T. cruzi*, es un padecimiento que se caracteriza por daño al tejido cardíaco, manifestado como cardiomegalia con insuficiencia cardíaca y alteraciones electrocardiográficas. Lesiones en esófago, colon y sistema nervioso periférico son menos frecuentes pero también pueden presentarse¹. El cuadro clínico de la enfermedad se divide en una fase aguda y una fase crónica. La fase aguda es de corta duración y en la mayoría de los casos asintomática. La característica

más importante es la presencia de *T. cruzi* en la sangre (parasitemia). La fase crónica también es asintomática en la mayoría de los casos y se caracteriza por un número reducido de parásitos en circulación, pero con un nivel elevado de anticuerpos anti-*T. cruzi*. Puede durar varios años y la única manera en que puede determinarse la presencia de infección es por medio de pruebas serológicas. Alrededor de una tercera parte de los sujetos infectados tendrá manifestaciones clínicas (fase crónica sintomática) como el daño al corazón mencionado anteriormente.

La forma de transmisión más importante de *T. cruzi* es por las heces de triatominos infectados (80-90% de los casos), los cuales al alimentarse defecan sobre la piel y depositan al parásito. La segunda vía de infección es la transfusión sanguínea. La transmisión congénita, la infección por la ruta oral o por trasplante de órganos infectados y los accidentes de laboratorio también existen pero son menos frecuentes.

Correspondencia:

*Bertha Espinoza

Laboratorio de Investigación en Tripanosomiasis Americana
Departamento de Inmunología

Instituto de Investigaciones Biomédicas, nueva sede

Universidad Nacional Autónoma de México

Avda. Universidad 3000, Ciudad Universitaria

Del. Coyoacán, C.P. 04510, México, D.F.

E-mail: besgu@biomedicas.unam.mx

Fecha de recepción en versión modificada: 18-10-2012

Fecha de aceptación: 24-05-2013

La enfermedad de Chagas es un problema de salud pública en el continente americano, donde se estima que hay alrededor de 10 millones de individuos infectados¹. Durante mucho tiempo se consideró un padecimiento endémico de América, por ello fue llamado tripanosomiasis americana. Sin embargo, en los últimos años se ha demostrado la presencia de individuos infectados (principalmente migrantes americanos) en países de Europa, Asia y Australia.

En México, los datos publicados muestran seroprevalencias entre el 1.4-32%. La variación observada depende del tipo de población evaluada, los métodos utilizados y la región del país en que se realizó el estudio².

Diagnóstico

Los métodos de diagnóstico para *T. cruzi* pueden incluirse en tres grupos principales: parasitológicos, serológicos y moleculares. El diagnóstico parasitológico consiste en determinar la presencia de *T. cruzi* en la sangre del paciente, mediante un frotis, o cultivando la sangre (hemocultivo) o bien usando vectores no infectados, alimentados con la sangre del paciente para buscar al parásito en las heces del insecto (xenodiagnóstico). En la fase crónica de la infección, la sensibilidad de estos métodos se reduce notoriamente debido a la escasa parasitemia. Los métodos de diagnóstico serológico permiten determinar la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi*. Los más empleados son el ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), la inmunofluorescencia indirecta, la hemaglutinación indirecta y el *Western blot*. En todos ellos el suero del paciente es probado frente a antígenos de *T. cruzi* (en solución o bien el parásito intacto), considerando que si la muestra tiene anticuerpos anti-*T. cruzi* habrá un reconocimiento positivo, el cual podrá ser cuantificado mediante la observación directa o por un equipo especializado (microscopio, espectrofotómetro o lector de microplacas, etc.). Sin embargo, tales evaluaciones solo determinan la presencia de anticuerpos contra el parásito, los cuales pueden estar presentes como una reacción de memoria inmunológica, pero no dan información sobre la presencia activa del parásito. Adicionalmente, la reacción cruzada con los antígenos de otros tripanosomátidos como *Leishmania* spp o *T. rangeli* en las zonas donde estos parásitos están presentes junto con *T. cruzi*, hacen necesario el empleo de ensayos específicos.

Para reducir la probabilidad de reacción cruzada recientemente se han obtenido antígenos recombinantes,

sintéticos o bioquímicamente purificados con el fin de hacer las técnicas serológicas más específicas. También se ha propuesto estandarizar técnicas sencillas que no requieran equipo costoso con las que se pueda obtener resultados en poco tiempo. Otra alternativa es el uso de métodos moleculares.

Diagnóstico molecular

Como otra herramienta en el diagnóstico de la infección con *T. cruzi* se ha propuesto el uso de la técnica de PCR. Para ello se toma sangre de pacientes, de la cual se extrae ADN total y se realiza PCR con iniciadores específicos para amplificar una región del ADN de *T. cruzi*. Este método sirve como indicador de la presencia de parásito en la sangre y puede usarse también en tejidos infectados. Mediante este procedimiento se pueden amplificar secuencias del ADN nuclear de *T. cruzi* o bien secuencias de ADN presentes en una estructura extranuclear llamada cinetoplasto, la cual está formada por cerca de 20,000 copias de material genético organizado en minicírculos y maxi-círculos de ADN, encargados de codificar ARN ribosomal y algunas proteínas que participan en la generación de adenosina trifosfato (ATP). Cuando se han comparado las diferentes técnicas de PCR diagnóstico, se ha determinado que la amplificación de ADN del cinetoplasto es la que tiene mayor sensibilidad en comparación con la amplificación de ADN nuclear, permitiendo la detección de hasta un parásito en 100 ml de sangre (0.005 parásitos/ml)³. Con ello se obtiene una ventaja en el diagnóstico diferencial de otros tripanosomátidos como *Leishmania* spp.

La concordancia de esta prueba de PCR con la serología varía, dependiendo de los iniciadores empleados y particularmente de la presencia del parásito en la sangre en el momento de tomar la muestra. Los valores de concordancia van de 30-80%.

El diagnóstico molecular por medio de PCR se ha empleado para detectar la presencia del parásito en muestras de sangre de mujeres embarazadas, método confirmatorio en casos de pacientes con megaesófago, cuya serología es dudosa, y en bancos de sangre⁴.

En México, donde la infección con *T. cruzi* está presente en prácticamente la totalidad del territorio y donde la parte sur del país tiene la presencia de varias especies de *Leishmania*, el uso de PCR diagnóstico ha sido escaso. Sin embargo, se ha demostrado su utilidad en estudios de bancos de sangre y como auxiliar en el diagnóstico de hemodonadores⁵.

Si bien esta técnica aún es costosa para ser usada como prueba de rutina, puede ser de enorme utilidad en aquellos casos en los que la infección con el parásito es reciente y la presencia de anticuerpos aún es indetectable. También cuando los resultados de la evaluación serológica son controversiales y no permiten dar un resultado definitivo⁴. La especificidad que ofrece esta técnica puede ayudar en el seguimiento de los pacientes tratados, ahora que el medicamento es accesible en México. También puede ser útil en la identificación del tipo de cepas del parásito que infec- tan al humano y como apoyo en el diagnóstico en áreas donde la distribución de *Leishmania* spp y *T. cruzi* se traslapan. El diagnóstico diferencial mediante esta técnica puede apoyar a los médicos para definir el tratamiento a seguir con los pacientes, pues los medicamentos empleados y las evaluaciones clínicas son diferentes cuando la infección se debe a un pará- sito u otro.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Instituto de Ciencia y Tecnología del Distrito Federal su apoyo mediante el proyecto PICSA10-130.

Bibliografía

1. World Health Organization. First WHO report on neglected tropical diseases 2010: working to overcome the global impact of neglected tropical diseases. Geneva, Switzerland: 2010.
2. Sánchez B, Monteón V, Reyes PA, Espinoza B. Standardization of micro-enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and Western blot for detection of *Trypanosoma cruzi* antibodies using extracts from Mexican strains as antigens. *Arch Med Res.* 2001;32:382-8.
3. Schijman AG, Bisio M, Orellana L, et al. International study to evaluate PCR methods for detection of *Trypanosoma cruzi*/DNA in blood samples from Chagas disease patients. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5:e931. doi: 10.1371/journal.pntd.0000931.
4. Batista AM, Aguilar C, Almeida EA, Guariento ME, Wanderley JS, Costa SCB. Evidence of Chagas disease in seronegative Brazilian patients with megaeosophagus. *Int J Infect Dis.* 2010;14:e974-7.
5. Escamilla-Guerrero G, Martínez-Gordillo MN, Riverón-Negrete L, et al. *Trypanosoma cruzi*: seroprevalence detected in the blood bank of the Instituto Nacional de Pediatría, Mexico City, in the period 2004 through 2009. *Transfusion.* 2012;52:595-600.