

# DETECCIÓN DE INFECTADOS POR *TRYPANOSOMA CRUZI* MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA, ELISA Y HEMAGLUTINACIÓN EN SUERO Y ELUIDOS DE SANGRE SECA<sup>1</sup>

— E. Zicker,<sup>2</sup> P. G. Smith,<sup>3</sup> A. O. Luquetti<sup>4</sup> y O. S. Oliveira<sup>5</sup> —

Los métodos que se utilizan en el diagnóstico de infecciones por *Trypanosoma cruzi* difieren en cuanto a su idoneidad para discriminar entre individuos infectados y no infectados. En un estudio de una muestra de población general de la zona central del Brasil se compararon la inmunofluorescencia (IF), la hemaglutinación (HA) y el inmunoensayo enzimático (ELISA) para diagnosticar infecciones por *T. cruzi* a partir de eluidos de sangre seca sobre papel de filtro y muestras de sangre venosa. Tomando la seropositividad o la seronegatividad como patrones, la sensibilidad de las pruebas con los eluidos fue baja: 78,1% en el ELISA, 69,2% en la IF y 64,6% en la HA. La concordancia de las pruebas con eluidos fue muy escasa; la IF y el ELISA mostraron la mejor copositividad. Los valores predictivos positivo y negativo de las tres pruebas con eluidos fueron similares (alrededor de 96%) a los correspondientes a sueros. En las tres pruebas la copositividad fue mayor cuando se usaron sueros. Se discuten las implicaciones de estos resultados para la detección selectiva de infecciones en bancos de sangre, en la práctica médica ordinaria, en estudios seroepidemiológicos y en el seguimiento de pacientes en ensayos terapéuticos.

Para diagnosticar la fase crónica de la enfermedad de Chagas se han usado diversas técnicas serológicas de las que la inmunofluorescencia indirecta (IF), la hemaglutinación indirecta (HA) y la prueba de fijación del complemento son las más comu-

nes. Estos métodos se utilizan mucho, pero los resultados obtenidos varían de un laboratorio a otro e, incluso, en el mismo laboratorio (1). La prueba de inmunoensayo enzimático (*enzyme-linked immunosorbent assay*, ELISA) para detectar anticuerpos contra *Trypanosoma cruzi* es sensible y fácil de realizar pero no es de uso común (2-4). Actualmente se está experimentando un inmunoensayo enzimático de competencia para anticuerpos, basado en el empleo de anticuerpos monoclonales (5).

Algunos laboratorios de referencia han intentado normalizar estos métodos, pero todavía son considerables las diferencias en los procedimientos y en los criterios

<sup>1</sup> Se publica en el *Bulletin of the World Health Organization*, Vol. 68, No. 4, 1990, con el título "Mass screening for *Trypanosoma cruzi* infections using the immunofluorescence, ELISA and haemagglutination tests on serum samples and on blood eluates from filter-paper". © Organización Mundial de la Salud, 1990.

<sup>2</sup> Departamento de Salud Comunitaria, Instituto de Patología Tropical y Salud Pública Dirección postal: Universidade Federal de Goiás. Caixa postal 12063, 74000 Goiânia, Brasil

<sup>3</sup> Unidad de Epidemiología Tropical, Escuela de Higiene y Medicina Tropical de Londres.

<sup>4</sup> Departamento de Medicina Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

<sup>5</sup> Departamento de Medicina Tropical, Instituto de Patología Tropical y Salud Pública, Universidad Federal de Goiás, Goiânia, Brasil.

de evaluación de los resultados. En general, se han comparado las pruebas con muestras de suero de pacientes con enfermedad de Chagas y con testigos seronegativos (1, 6). Los valores predictivos obtenidos en esas investigaciones pueden ser engañosos (7). Las pruebas de IF se han evaluado en poblaciones no seleccionadas; no así la HA ni el ELISA.

En el presente artículo se refiere un estudio de una muestra de gran tamaño de la población general en la que se compararon los resultados de la IF, la HA y el ELISA. Estas pruebas se practicaron en eluidos de sangre seca sobre papel de filtro y en muestras de sangre venosa para diagnosticar infección por *T. cruzi*.

## MÉTODOS

### Toma de muestras de sangre

En 1988–1989 se efectuó un estudio transversal de prevalencia de infección por *T. cruzi* en trabajadores no calificados de la ciudad de Goiânia, en la región central del Brasil. El estudio formó parte de una investigación para estimar los efectos de la enfermedad de Chagas sobre la salud en zonas urbanas (8, 9). Se seleccionaron siete instituciones que empleaban a obreros y se examinaron 6 222 sujetos. Mediante punción de la yema del dedo se obtuvieron de cada trabajador dos muestras de sangre con las que se llenaron dos círculos de 1,6 cm de diámetro sobre papel de filtro (Whatman No. 1) (10). Los papeles de filtro secados a temperatura ambiente se almacenaron a 4 °C. Para las pruebas se cortó un círculo y se efectuó la elución durante 24 horas con 0,25 ml de solución salina amortiguada con fosfato (SAF) a una concentración de 0,01 mol/l hasta obtener una dilución final de 1:10. Se sometió cada eluido obtenido de los papeles de filtro a IF, ELISA y HA para detectar anticuerpos anti-*T. cruzi*.

Todas las pruebas fueron realizadas independientemente en distintos laboratorios de Goiânia.

Un total de 782 trabajadores (12,6%) presentaron resultados serológicos positivos por lo menos en una de las tres pruebas efectuadas con eluido hemático. De dos a cuatro meses después se intentó obtener una muestra de sangre venosa de cada sujeto seropositivo y de un testigo seronegativo pareado por edad, sexo e institución. No se pudo localizar a 69 sujetos seropositivos que habían cambiado de empleo; los 713 restantes fueron invitados a una entrevista y 640 (89,8%) fueron examinados. De los 5 440 seronegativos, estratificados por edad, sexo e institución (para lograr la correspondencia con la distribución de los trabajadores seropositivos), se seleccionaron al azar 727 de los que no se pudo encontrar a 78. Se examinaron 539 (83,1%) de los 649 seronegativos restantes. Se obtuvo sangre venosa (10 ml) de cada uno de los 1 179 trabajadores examinados y en los mismos laboratorios que habían realizado las pruebas con los eluidos se efectuaron la IF, el ELISA y la HA para detectar anticuerpos contra *T. cruzi* en dichas muestras hemáticas.

### Pruebas serológicas

**ELISA.** Se empleó el método descrito por Voller *et al.* (4), pero utilizando IgG antihumana conjugada con peroxidasa de rábano y *o*-fenilendiamina como sustrato. Se realizaron pruebas duplicadas en placas de microtitulación desechables de poliestireno de 96 pocillos de fondo plano. Se usó un antígeno en bruto para formas cultivadas de epimastigotes de la cepa Y de *T. cruzi*. Se determinaron las absorbancias para longitudes de onda ( $\lambda$ ) de 492 nm mediante un lector portátil para espectrofotómetro de microplacas. En todas las placas se ensayaron duplicados de dos muestras de testigos negativos y de tres testigos positivos (con títulos bajos, medios o altos de anticuerpos). En el ELISA se tomó como valor límite de positividad la media aritmética de las absorbancias de las dos muestras de testigos negativos y de la absorbancia más baja de los testigos positivos.

**Prueba de inmunofluorescencia.** La IF se efectuó siguiendo el método descrito por Camargo (11). Inicialmente se examinaron todas las muestras a una dilución de 1:40; las que resultaron positivas se probaron de nuevo a diluciones que se duplicaron hasta llegar a 1:1 280.

**Prueba de hemaglutinación.** La HA se realizó según la descripción de Camargo *et al.*, empleando un equipo comercial (12). Inicialmente se examinaron eluidos del papel de filtro a dilución de 1:20 y sueros a dilución de 1:2, después se efectuaron pruebas con las muestras positivas a diluciones hasta de 1:64.

## Definición de seropositividad

Para estandarizar las técnicas y el antígeno y definir los títulos límite se llevó a cabo un estudio piloto en suero y eluidos de sangre seca sobre papel de filtro. Inicialmente se consideró "eluido-positivo" a todo sujeto en el que cualquiera de las pruebas serológicas con el eluido era "positiva" según la siguiente definición: título<sup>6</sup> de IF > 40; absorbancia en el ELISA  $\geq$  1,2 veces el valor límite; y prueba de HA positiva a una dilución de 1:20. En las pruebas IF y ELISA con sueros los criterios de positividad fueron los mismos aplicados a los eluidos, mientras que en la prueba de HA se definieron como positivos los títulos  $\geq$  16. Se consideraron negativos todos los demás resultados.

## Análisis estadístico

Se estimó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo de cada una de las pruebas para anticuerpos en los eluidos, en comparación con los resultados correspondientes a sueros. En 640 (81,8%) de los 782 sujetos con eluido positivo y en 539 (9,9%) de los 5 440 con eluido negativo se analizó una muestra de sangre venosa.

La sensibilidad de una determinada prueba para los eluidos respecto a la de los sueros se expresó como la razón entre el número de sujetos de la población estudiada con eluido y suero positivos y el número de seropositivos en la misma prueba. La especificidad se calculó como la razón entre el número de sujetos con eluido y suero negativos y el número de individuos seronegativos.

También se estimaron los valores predictivos positivo y negativo de las pruebas con eluidos respecto a los resultados obtenidos con los sueros. El valor predictivo positivo de una prueba se calculó dividiendo el número de sujetos de la población estudiada positivos para esa prueba tanto en los eluidos como en los sueros por el número de sujetos con eluido positivo en la misma prueba. El valor predictivo negativo de cada prueba se determinó dividiendo el número de sujetos de la población estudiada con eluido y suero negativos por el número de eluidonegativos en la misma prueba. También se estimó la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos positivo y negativo para cada prueba con eluido tomando como positivos verdaderos o negativos verdaderos solo los individuos cuyos sueros fueron, respectivamente, positivos o negativos en las tres pruebas. En el anexo se muestran las expresiones usadas en los cálculos.

# RESULTADOS

De acuerdo con los resultados de las pruebas efectuadas con eluidos de sangre, 782 (12,6%) de los 6 222 trabajadores presentaron anticuerpos contra *T. cruzi* por lo menos en una prueba. Las seroprevalencias estimadas con IF, HA y ELISA fueron respectivamente de 9,2, 7,9 y 10,7%. El cuadro 1 resume los resultados de las pruebas para detectar anticuerpos en los eluidos de sangre. Se obtuvieron resultados positivos con los tres métodos solo en 314 (40,2%) de las 782 muestras que dieron positivo con alguno de

<sup>6</sup> Nótese que el título es la inversa de la máxima dilución a la que se produce el fenómeno. Esto significa que si el título de IF es 40, la máxima dilución a la que se produce inmunofluorescencia es 1:40 (*N de la Redacción*).

**CUADRO 1. Comparación de la inmunofluorescencia (IF), la hemaglutinación (HA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en eluidos de sangre seca sobre papel de filtro procedentes de 6 222 sujetos de estudio**

	IF positiva		IF negativa		Total
	HA positiva	HA negativa	HA positiva	HA negativa	
ELISA positivo	314 (5,0) <sup>a</sup>	162 (2,6)	111 (1,8)	77 (1,2)	664 (10,7)
ELISA negativo	43 (0,7)	53 (0,9)	22 (0,4)	5 440 (87,4)	5 558 (89,3)
Total	357 (5,7)	215 (3,5)	133 (2,2)	5 517 (88,6)	6 222 (100,0)

<sup>a</sup> Los números entre paréntesis corresponden al porcentaje respecto al total de muestras

los métodos. De las que fueron positivas en la IF o la HA, 50,6% fueron positivas en ambas; en el caso de la IF y el ELISA, la proporción correspondiente fue de 62,6% y, para la ELISA y la HA, de 58,3%. En cuanto a muestras que fueron positivas solo en una prueba fueron 53 (6,8%) en la IF, 22 (2,8%) en la HA y 77 (9,8%) en el ELISA.

El cuadro 2 presenta los resultados obtenidos con cada método en los eluidos y muestras de suero de los 1 179 sujetos examinados. Se indican por separado los resultados correspondientes a los clasificados como eluidopositivos y eluidonegativos porque esto facilita el cálculo de la sensibilidad, la especificidad y los valores predictivos de las pruebas con eluidos respecto a los resultados con sueros (véase el cuadro 3). La sensibili-

**CUADRO 2. Comparación de la inmunofluorescencia (IF), la hemaglutinación (HA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en eluidos hemáticos y muestras séricas de los sujetos "eluidopositivos" y "eluidonegativos" del estudio**

		"Eluidopositivos" (n = 640) <sup>a</sup>		"Eluidonegativos" (n = 539)	
		Seropositivos	Seronegativos	Seropositivos	Seronegativos
IF en el eluido	{ Positiva	462 (72,2) <sup>b</sup>	26 (4,1)	...	...
	{ Negativa	131 (20,5)	21 (3,3)	9 (1,7)	530 (98,3)
HA en el eluido	{ Positiva	386 (60,9)	18 (2,2)	...	...
	{ Negativa	162 (26,5)	74 (10,4)	6 (1,1)	533 (98,8)
ELISA en el eluido	{ Positivo	525 (82,0)	14 (2,2)	...	...
	{ Negativo	89 (13,9)	12 (1,9)	7 (1,3)	532 (98,7)

<sup>a</sup> "Eluidopositivos" son los sujetos cuyo eluido ha dado resultado positivo en cualquiera de las tres pruebas. Por consiguiente, son "eluidonegativos" los sujetos cuyo eluido ha dado resultado negativo en las tres pruebas

<sup>b</sup> Los números entre paréntesis se refieren a porcentajes respecto al total de "eluidopositivos" y "eluidonegativos"

**CUADRO 3. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de la inmunofluorescencia (IF), la hemaglutinación (HA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) para la detección de anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en eluidos de sangre seca sobre papel de filtro. Se comparan con las mismas pruebas realizadas sobre suero de sangre venosa**

Prueba	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP <sup>a</sup> (%)	VPN <sup>b</sup> (%)
IF	69,2	99,4	94,7	95,5
HA	64,6	99,6	95,5	95,5
ELISA	78,1	99,7	97,4	96,8

<sup>a</sup> VPP = valor predictivo positivo.

<sup>b</sup> VPN = valor predictivo negativo

dad máxima fue la del ELISA (78,1%), la de la IF fue intermedia (69,2%) y la de la HA, mínima (64,6%); las tres pruebas tuvieron una especificidad cercana a 99,5%. Los valores predictivos positivos de la IF, la HA y el ELISA fueron 94,7, 95,5 y 97,4%, respectivamente, mientras que los valores predictivos negativos correspondientes fueron 95,5, 95,5 y 96,8%. Hay que subrayar que estos porcentajes solo representan la correspondencia entre las pruebas con eluidos y con sueros y no sensibilidades, especificidades o valores predictivos absolutos.

El cuadro 4 indica los resultados obtenidos con cada método en las muestras de suero de los sujetos eluidopositivos o eluidonegativos. Puede comprobarse que 16 (2,5%) de los 640 sujetos eluidopositivos dieron negativo en las tres pruebas con sueros, mientras que de los 539 sujetos eluidonegativos, 10 (1,8%) fueron seropositivos por lo menos en una prueba.

En las pruebas séricas la concordancia fue mayor que la observada en las pruebas con eluidos. La IF, la HA y el ELISA dieron resultados positivos en 519 (81,9%) de las 634 muestras de suero que fueron positivas al menos en una de las pruebas. De las seropositividades en una o más pruebas, la IF detectó 602 (95%), la HA, 554 (87,4%), y la ELISA, 621 (97,9%).

De las muestras positivas en la IF o la HA, 83,5% fueron positivas en ambas; de las positivas en la IF o el ELISA, 93,8% fueron positivas en las dos pruebas; entre las muestras positivas en el ELISA o en la HA la proporción correspondiente fue 86,2%. Del total de muestras seropositivas, 0,5% lo fueron solo en la IF, 0,5% solo en la HA y 0,6% solo en el ELISA.

El cuadro 5 indica la sensibilidad y el valor predictivo positivo de las pruebas en los eluidos tomando como positivos verdaderos solo los sueros positivos en las tres pruebas. La sensibilidad aumentó hasta 72,4% en la IF, 67,0% en la HA y 83,2% en el ELISA, mientras que el valor predictivo positivo disminuyó a 81,4% en la IF, 90,8% en la HA y 84,6% en el ELISA. Se produjo un aumento muy pequeño de la especificidad y una disminución del valor predictivo negativo cuando se tomaron como negativos verdaderos solo los sueros negativos en las tres pruebas.

**CUADRO 4. Comparación de la inmunofluorescencia (IF), el ensayo inmunoenzimático (ELISA) y la hemaglutinación (HA) para detectar anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi* en suero de sujetos "eluidopositivos" o "eluidonegativos"**

	IF positiva		IF negativa		Total
	HA positiva	HA negativa	HA positiva	HA negativa	
<i>"Eluidopositivos"</i> (n = 640)					
ELISA positivo	515 (80,5) <sup>a</sup>	70 (10,9)	25 (3,9)	4 (0,6)	614 (95,9)
ELISA negativo	6 (0,9)	2 (0,3)	2 (0,3)	16 (2,5)	26 (4,1)
Total	521 (81,4)	72 (11,2)	27 (4,2)	20 (3,1)	640 (100,0)
<i>"Eluidonegativos"</i> (n = 539)					
ELISA positivo	4 (0,7)	3 (0,6)	0 (0,0)	0 (0,0)	7 (1,3)
ELISA negativo	1 (0,2)	1 (0,2)	1 (0,2)	529 (98,1)	532 (98,7)
Total	5 (0,9)	4 (0,7)	1 (0,2)	529 (98,1)	539 (100,0)

<sup>a</sup> Los números entre paréntesis son porcentajes

**CUADRO 5. Sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de la inmunofluorescencia (IF), la hemaglutinación (HA) y el ensayo inmunoenzimático (ELISA) realizados sobre eluidos hemáticos para detectar anticuerpos anti-*Trypanosoma cruzi*. Se compara con la seropositividad y la seronegatividad definidas respectivamente por un resultado positivo o negativo en las tres pruebas con suero procedente de sangre venosa**

Prueba	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP <sup>a</sup> (%)	VPN <sup>b</sup> (%)
IF	72,4	99,7	81,4	95,0
HA	67,0	99,9	90,8	93,5
ELISA	83,2	99,8	84,6	96,5

<sup>a</sup> VPP = valor predictivo positivo

<sup>b</sup> VPN = valor predictivo negativo.

## DISCUSIÓN

Las pruebas serológicas son los procedimientos más prácticos y confiables para detectar la infección por *T. cruzi*. Los métodos parasitológicos como el xenodiagnóstico pueden ser útiles durante la fase aguda de la infección, pero en la fase crónica solo se obtienen resultados positivos más o menos en la mitad de los pacientes. En las zonas endémicas se ha usado mucho el diagnóstico serológico para el control de los donantes de sangre, en la práctica clínica y, menos a menudo, en estudios epidemiológicos (13).

Los métodos serológicos varían considerablemente en cuanto a idoneidad para discriminar entre sujetos infectados e individuos no infectados. Hay discrepancias tanto cuando se usan diferentes pruebas en un mismo laboratorio como cuando se emplea la misma prueba en laboratorios distintos (1, 6). Para evaluar la concordancia entre los resultados con diferentes métodos y en distintos laboratorios se han comparado los resultados de las pruebas séricas en individuos con manifestaciones clínicas de enfermedad de Chagas con personas de países no endémicos (14, 15); sin embargo, las pruebas pueden dar distintos resultados en una zona donde es endémica la enfermedad y en un conjunto de muestras de suero. Además, la sensibilidad y la especificidad de una determinada prueba se estiman respecto a otros métodos diagnósticos y pueden diferir de los valores reales.

La aparición del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) ha generado en el Brasil una revisión de todos los procedimientos de tamizaje de los donantes de sangre. La HA y la prueba de fijación del complemento son las técnicas más usadas —por su bajo costo— para el diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en los bancos de sangre del sector público; en general, la prueba de IF se reserva para situaciones en que los resultados obtenidos no son concluyentes. No obstante, solo se pueden efectuar pruebas de IF cuando se dispone de un microscopio de fluorescencia y de un técnico capacitado (16). Anteriormente no se había evaluado ninguno de esos métodos aplicados a eluidos hemáticos en estudios de población general. En este estudio se usó una definición restringida de seropositividad y solo se analizó el primer resultado de cada prueba con cada muestra. Se valoró el rendimiento de cada prueba equiparando la fracción de muestreo de sujetos seropositivos y seronegativos en la muestra a la proporción que mostró un rendimiento adecuado de la prueba en un estudio de campo. Medido de esta forma, el rendimiento de las pruebas no fue satisfactorio. La sensibilidad de las pruebas con eluidos respecto a las pruebas séricas no fue elevada, excepto en el ELISA (78,1%); solo llegó a 69,2% en la IF y a 64,6% en la HA. La sensibilidad mayor del ELISA respecto a otras

pruebas ya ha sido señalada (2, 3, 6). La concordancia de los resultados de las pruebas con eluidos fue escasa; la copositividad máxima correspondió a IF y ELISA (62,6%). Las tres pruebas tuvieron un valor predictivo positivo o negativo de alrededor de 96% (cuadro 3).

Cuando se consideraron "positivas" las muestras de suero positivas en las tres pruebas, la sensibilidad de la IF, la HA y la ELISA en los eluidos aumentó a 72,4, 67,0 y 83,2%, respectivamente. Esto era previsible, ya que era probable que los sueros positivos en todas las pruebas incluyeran mayor proporción de positivos verdaderos. No obstante, al hacer más estricto el criterio de seropositividad se produjo una disminución del valor predictivo positivo de las tres pruebas porque una mayor proporción de sueros de sujetos con eluido positivo no fueron positivos en las tres pruebas. El rendimiento general de las pruebas séricas y el grado de concordancia entre los resultados fueron mucho mayores que los de las pruebas con eluidos.

Las pruebas se llevaron a cabo en paralelo (las tres a la vez en los eluidos o en los sueros) y todas las muestras que fueron positivas en alguna prueba se consideraron globalmente positivas. Esto dio como resultado un procedimiento de detección selectiva de sensibilidad relativamente alta y escasa especificidad. Otra posibilidad sería probar las muestras usando un método y luego, con un método diferente, someter de nuevo a prueba a las muestras que fueron negativas. La sensibilidad lograda con este método "en serie" es menor que la obtenida con las pruebas paralelas, pero la especificidad es mayor (7). La elección de una estrategia apropiada para los exámenes y la selección de las pruebas deben basarse en la simplicidad, el costo, la sensibilidad y la especificidad de las pruebas y la experiencia de los técnicos.

Las implicaciones de nuestros resultados para la elección de procedimientos de diagnóstico serológico de infección por *T. cruzi* no son categóricas; situaciones diferentes exigen métodos diferentes.

La transmisión de la tripanosomiasis mediante transfusiones ha atraído mucha atención en el Brasil, ya que es pro-

bable que por esta vía se produzcan muchas más infecciones que a través de la transmisión por vectores. En los bancos de sangre el principal objetivo de las pruebas de control es excluir la sangre potencialmente infectada y, con este fin, se requiere un procedimiento de gran sensibilidad cuya especificidad tiene menor interés. Se debe definir un límite de positividad bajo para excluir todos los resultados dudosos y quizá podrían emplearse dos o más pruebas de detección en paralelo para aumentar la sensibilidad.

Para los propósitos ordinarios, la sensibilidad de una prueba es menos importante que su especificidad. Un resultado positivo falso puede causar preocupación innecesaria y es poca la asistencia médica que se puede ofrecer a los individuos verdaderamente seropositivos cuando no presentan pruebas clínicas de la enfermedad. En esas situaciones, una sola prueba para la tripanosomiasis (IF o HA) podría ser suficiente. Cuando se detecta algún trastorno clínico que se sospecha causado por *T. cruzi*, el diagnóstico ha de definirse combinando varios métodos.

Para el seguimiento de los sujetos a quienes se incluye en ensayos terapéuticos es preciso emplear todas las técnicas de detección disponibles, en particular cuando el criterio de curación se basa en la conversión a la seronegatividad. El aislamiento de parásitos de sangre periférica mediante xenodiagnóstico no es una técnica sensible durante la fase crónica de la infección.

El ELISA parece ser la mejor elección para los estudios seroepidemiológicos porque es relativamente económico y solo requiere pequeñas cantidades de eluido. Además se puede procesar diariamente un gran número de muestras y es posible leer los resultados mediante espectrofotometría. La toma de sangre y su conservación sobre pa-

pel de filtro siguen siendo el mejor procedimiento disponible para las investigaciones epidemiológicas. El procedimiento parece apropiado para el ELISA, si bien se ha señalado que produce un deterioro rápido de la IgG y la IgM (17).

En este estudio se clasificaron varios miles de muestras hemáticas de acuerdo con la presencia de anticuerpos contra *T. cruzi* y se comprobó una concordancia razonable de los resultados de IF, ELISA y HA. Se obtuvieron resultados más constantes con los sueros que con los eluidos. La elección del método, el número de pruebas y la estrategia para los exámenes serológicos dependen del objetivo que se pretenda. No obstante, el ELISA parece ser un buen método para los estudios sobre el terreno.

## AGRADECIMIENTO

Esta investigación contó con el respaldo económico del Programa Especial PNUD/Banco Mundial/OMS de Investigación y Enseñanza sobre Enfermedades Tropicales y del Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Los autores agradecen al Dr. R. M. de Oliveira su asistencia en el trabajo sobre el terreno, al Sr. M. A. Chaves su ayuda en el análisis de los datos y a la Srta. D. H. de Rezende su colaboración en el trabajo administrativo.

## REFERENCIAS

- 1 Camargo, M. E., Segura, E. L., Kagan, I. G. *et al.* Normalización del diagnóstico serológico de la enfermedad de Chagas en las Américas: evaluación de tres años de colaboración. *Bol Of Sanit Panam* 102(5):449-463, 1987.
- 2 Brenière, S. F. *et al.* Comparisons of immunological tests for serodiagnosis of Chagas disease in Bolivian patients. *Trop Geogr Med* 37:231-238, 1985.
- 3 González, J., Araya, J., Olivares, H. y Sagua, H. Reacción de ELISA para el diagnóstico de la tripa-

nosomiasis americana. Absorbancias límites para sueros reactivos y no reactivos. *Bol Chil Parasitol* 41(1-2):21-26, 1986.

- 4 Völler, A. *et al.* Microplate enzyme-linked immunosorbent assay for Chagas disease. *Lancet* 1:426-427, 1975.
- 5 Cuna, W. R. *et al.* Evaluation of a competitive antibody enzyme immunoassay for specific diagnosis of Chagas disease. *J Parasitol* 75:357-359, 1989.
- 6 Fuchs, A. P. Diagnóstico sorológico na doença de Chagas. Estudo comparativo de diferentes técnicas. *Rev Inst Med Trop São Paulo*, 22(5):242-245, 1980.
- 7 Galen, R. S. y Gambino, S. R. *Beyond Normality: The Predictive Value and Efficiency of Medical Diagnoses.* Londres, John Wiley, 1975.
- 8 Zicker, F. *et al.* Seroprevalence of *T. cruzi* among unskilled urban workers in central Brasil. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 83:511-513, 1989.
- 9 Zicker, F. *et al.* *Trypanosoma cruzi* infection and electrocardiographic findings among active manual workers: a population-based study in central Brazil. *Int J Epidemiol* 19:182-186, 1990.
- 10 Souza, S. L. y Camargo, M. E. The use of filter-paper blood smears in a practical fluorescent test for American trypanosomiasis serodiagnosis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 8:255-258, 1966.
- 11 Camargo, M. E. Fluorescent antibody test for serodiagnosis. Technical modification employing preserved culture forms of *T. cruzi* in slide test. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 8:227-234, 1966.
- 12 Camargo, M. E. *et al.* Haemagglutination with preserved, sensitized cells — a practical test for routine serologic diagnosis of American trypanosomiasis. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 15:81-85, 1983.
- 13 Camargo, M. E. *et al.* Inquérito sorológico da prevalência de infecção chagásica no Brasil, 1975/1980. *Rev Inst Med Trop São Paulo* 26(4):192-204, 1984.
- 14 Anthony, R. L. *et al.* Use of micro-ELISA for quantitating antibody to *Trypanosoma cruzi* and *Trypanosoma rangeli*. *Am J Trop Med Hyg* 28:969-973, 1979.

15 Spencer, H. C. *et al.* Evaluation of the micro-enzyme-linked immunosorbent assay for antibodies to *Trypanosoma cruzi*. *Am J Trop Med Hyg* 29:179-182, 1980.

16 Andrade, A. L. S. S., Martelli, C. M. T., Pinheiro, E. D., Santana, C. L., Borges, F. P. y Zicker, F. Rastreamento sorológico para doenças infecciosas em banco de sangue como indicador de morbididade populacional. *Rev Saude Publica* [São Paulo] 23(1):20-25, 1989.

17 Guimarães, M. C. S., Castilho, E. A., Celeste, B. J., Nakahara, O. S. y Netto, V. A. Almacenamiento a largo plazo de IgG e IgM en papel filtro para su uso en encuestas seroepidemiológicas de enfermedades parasitarias. *Bol Of Sanit Panam* 100(2):129-143, 1986.

**ANEXO. Procedimiento usado para estimar la sensibilidad, especificidad y valor predictivo positivo y negativo de las pruebas de detección de anticuerpos en eluidos de sangre seca sobre papel de filtro. Se compara con los resultados de pruebas realizadas en muestras de sangre venosa**

		"Eluidopositivos" ( $N_1 = 782$ ) <sup>a</sup>		"Eluidonegativos" ( $N_2 = 5\ 440$ ) <sup>b</sup>	
No. de muestras de sangre venosa analizadas		$n_1 = 640$		$n_2 = 539$	
Pruebas específicas (inmunofluorescencia, hemaglutinación o ELISA):					
		Sero:		Sero:	
		positivo	negativo	positivo	negativo
Eluido: {	positivo	$a$	$b$	$-$	$-$
	negativo	$c$	$d$	$g$	$h$
		$(a + b + c + d = 640)$		$(g + h = 539)$	

<sup>a</sup> Número de muestras de eluido clasificadas como positivas en cuanto a anticuerpo en una o más de las pruebas

<sup>b</sup> Número de muestras de eluido clasificadas como negativas en cuanto a anticuerpo en las tres pruebas

- $nESP$  = número de sujetos de la muestra que serían eluidopositivos y seropositivos para una prueba concreta =  $N_1 a/n_1$
- $nSP$  = número de sujetos de la muestra que serían seropositivos para una prueba concreta =  $N_1(a + c)/n_1 + N_2 g/n_2$
- $nESN$  = número de sujetos de la muestra que serían eluidonegativos y seronegativos para una prueba concreta =  $N_1 d/n_1 + N_2 h/n_2$
- $nSN$  = número de sujetos de la muestra que serían seronegativos para una prueba concreta =  $N_1(b + d)/n_1 + N_2 h/n_2$

Sensibilidad estimada de una prueba =  $nESP/nSP$

Especificidad estimada de una prueba =  $nESN/nSN$

Valor predictivo positivo estimado de una prueba =  $a/(a + b)$

Valor predictivo negativo estimado de una prueba =  $nESN/[N_2 + N_1(c + d)/n_1]$

# SUMMARY

## MASS SCREENING FOR *TRYPANOSOMA CRUZI* INFECTIONS USING THE IMMUNOFLUORESCENCE, ELISA AND HAEMAGGLUTINATION TESTS ON SERUM SAMPLES AND ON BLOOD ELUATES FROM FILTER-PAPER

Methods used to diagnose *Trypanosoma cruzi* infection differ in their ability to discriminate between sera from infected and uninfected individuals. We compared the results of an immunofluorescence (IF) test, a haemagglutination (HA) test, and an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the diagnosis of *T. cruzi* infections in a large

population-based survey in central Brazil using blood eluates from filter-paper and venous blood samples. The sensitivities of the tests on eluates, compared with results on serum samples, were low: ELISA (78.1%), IF (69.2%) and HA (64.6%). The level of agreement between the tests on eluates was very poor, with the best co-positivity for IF and ELISA. Both the positive and negative predictive values of the three tests on eluates were similar (around 96%) to those for sera. Higher co-positivity values were obtained for the three tests on sera. The implications of these results are discussed in relation to blood screening, routine medical practice, sero-epidemiological surveys, and the follow-up of patients admitted to therapeutic trials.

## Acuerdo entre Estados Unidos y México en materia de educación

El 17 de agosto de 1990, Lauro Cavazos, Secretario de Educación de los Estados Unidos, y Manuel Bartlett Díaz, Secretario de Educación Pública de México, firmaron un acuerdo para establecer relaciones más estrechas entre sus dos países en materia de educación. El acuerdo es vigente hasta el 31 de diciembre de 1991, fecha en que se podrá renovar por dos años. En el acuerdo se propone el intercambio de docentes, el acceso de maestros mexicanos a programas de posgrado en universidades estadounidenses y cooperación en educación tecnológica para graduados de escuelas secundarias. También se decidió que en 1991 se realizaría una conferencia de educadores y administradores provenientes de los estados fronterizos de ambos países para idear formas de mejorar las relaciones culturales entre las dos naciones vecinas y promover la enseñanza del inglés en México y del español en los Estados Unidos.