

COMUNICACIÓN

CONCORDANCIA DE LAS PRUEBAS DE ELISA Y HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA EN EL DIAGNÓSTICO DE LA TOXOPLASMOSIS PORCINA

Francisco Suárez A.¹, Heitor Andrade Jr.², Andrés Galisteo² y Omar Miguel³

Abstract

The study aimed to estimate the level of agreement between two serological diagnosis tests for toxoplasmosis in swine. The ELISA and the Indirect Hemagglutination Test were evaluated using blood sera collected in slaughterhouses from 303 pigs in Sao Paulo, Brazil and 93 pigs in Lima, Peru. The Kappa coefficient of agreement on the Brazilian sera was 26.0% and the confidence interval at 95% were 7.7 - 44.3% ($P < 0.05$), whereas on the Peruvian sera was 36.6% and the confidence interval at 95% were 18.0 - 55.3% ($P < 0.01$). Besides this, when considering the ELISA test as the reference test, the Indirect Hemagglutination Test had a co-positive reaction of 48.3% and a co-negative reaction of 86.5% in the Brazilian sera, and a co-positive reaction of 80.6% and a co-negative reaction of 61.3% in the Peruvian sera.

Key words: toxoplasmosis, ELISA, hemagglutination, serology

Entre las pruebas serológicas disponibles para el diagnóstico de toxoplasmosis se tienen las pruebas de fijación de complemento (Nicolaus y Ravelo, 1937), Sabin-Feldman (Sabin y Feldman, 1948), Hemagglutinación (Jacobs y Lunde, 1957), Inmunofluorescencia (Goldman, 1957) y ELISA (Venkatesan y Wakelin, 1993).

La prueba de fijación de complemento detecta anticuerpos tardíamente y durante poco tiempo (Walton, 1971). La prueba de Sabin-Feldman que sigue considerándose la prueba de referencia, según Amato Neto (1971), es poco práctica para investigaciones epidemiológicas, peligrosa porque usa toxoplasma vivo, sufre influencia del tamaño

del ratón inoculado para el mantenimiento de la cepa y necesita del factor accesorio, representado por el suero negativo; mientras que la prueba de inmunofluorescencia tiene la desventaja de requerir equipo sofisticado (microscopio) para trabajo de campo.

La prueba de hemagglutinación se viene utilizando para el diagnóstico de rutina en clínicas y hospitales veterinarios (Behymer et al., 1973). El antígeno es de fácil obtención en el comercio y ofrece resultados rápidos (cerca de dos horas). Además tiene otras ventajas como requerir pequeña cantidad de sangre o suero (puede colectarse gotas en papel filtro), y una mayor facilidad de ejecución e interpretación de resultados.

¹ Laboratorio de Medicina Preventiva, FMV-UNMSM. E-mail: francisco_suarez2001@hotmail.com

² Instituto de Medicina Tropical, USP-Sao Paulo-Brasil

³ Facultad de Salud Pública, USP-Sao Paulo-Brasil

La prueba inmunoenzimática ELISA, ha mostrado claras ventajas sobre otras pruebas. Se pueden analizar muchas muestras en forma simultánea con poco equipo sofisticado, comparado con la prueba de inmunofluorescencia, y los resultados obtenidos ofrecen mayor consistencia y son más confiables que las obtenidas con la hemaglutinación (Waltman et al., 1984). Además, la prueba de ELISA tiene alta sensibilidad y especificidad y puede detectar tanto infecciones recientes como latentes de toxoplasmosis, detectando simultáneamente anticuerpos IgM e IgG (Romero et al., 1995).

Con base a estas consideraciones y con la finalidad de estudiar comparativamente las pruebas de hemaglutinación indirecta y ELISA en el diagnóstico de toxoplasmosis porcina se realizó el presente estudio.

Se utilizaron sueros de porcinos sacrificados en frigoríficos comerciales de Sao Paulo-Brasil (n=303) y de Lima-Perú (n=93).

Se usó el kit comercial Salk HAP-Toxoplasmosis, que es una prueba de hemaglutinación indirecta que detecta anticuerpos anti-Toxoplasma gondii en muestras de sangre. Esta prueba se estandarizó siguiendo el procedimiento recomendado por Venkatesan y Wakelin (1993). Los sueros patrones positivo y negativo fueron gentilmente donados por el Departamento de Medicina Veterinaria Preventiva de la Universidad Estatal de Londrina-Paraná, Brasil.

Se aplicó el coeficiente de Kappa a los resultados para medir la concordancia entre las pruebas serológicas empleadas (Cohen, 1960); igualmente se calculó la copositividad y la conegatividad.

Los resultados obtenidos con los sueros brasileños se muestran en el Cuadro 1. Un total de 251 muestras (82.8%) resultaron concordantes y 52 (17.2%) discordantes. Sin embargo, al calcular el coeficiente de concordancia Kappa, se encontró una concordancia de 26.0% con intervalo de confianza

(95%) de 7.7 a 44.3% mostrando significancia estadística ($P < 0.05$). Esta concordancia es menor a la citada por Ishizuka et al. (1986) de 69.2% cuando utilizaron las pruebas de hemaglutinación e inmunofluorescencia para el diagnóstico de toxoplasmosis porcina. Por otro lado, utilizando la prueba de ELISA como prueba de referencia, se calculó que la copositividad y conegatividad de la prueba de hemaglutinación indirecta fue de 48.3 y 86.5% respectivamente; lo que corrobora el hallazgo de Carlier et al. (1980), mostrando que la hemaglutinación indirecta fue más específica que sensible en estos animales.

Cuadro 1. Comparación de los resultados de las pruebas de hemaglutinación indirecta y ELISA en sueros de Brasil

HI	ELISA		Total
	Positivos	Negativos	
Positivos	14	37	51
Negativos	15	237	252
Total	29	274	303

$IC_{0.95}: [7.66 \leq K \leq 44.28]$

$K = 25.97$

$Z = 2.48$

$K_{\text{significante}} (P < 0.05)$

El Cuadro 2 muestra los resultados obtenidos con los sueros del Perú. Se puede observar que 63 sueros mostraron concordancia total; sin embargo, al eliminar la concordancia debida al azar el coeficiente de concordancia Kappa mostró un valor de 36.6% con intervalo de confianza (95%) de 18.0 a 55.3%, mostrando alta significancia estadística ($P < 0.01$). Considerando el ELISA como prueba de referencia, la hemaglutinación indirecta mostró una copositividad de 80.6% y conegatividad de 61.3%.

Por otro lado, al adoptarse la prueba de ELISA como referencia, la prueba de hemaglutinación indirecta presentó una copositividad de 48.3% y conegatividad de 86.5%, que es debida a la presencia de mayor cantidad de falsos negativos.

Cuadro 2. Comparación de los resultados de las pruebas de hemaglutinación indirecta y ELISA en sueros del Perú

HI	ELISA		Total
	Positivos	Negativos	
Positivos	25	24	49
Negativos	6	38	44
Total	31	62	93

$IC_{0.95}$: $[17.97 \leq K \leq 55.29]$

$K = 36.62$

$Z = 3.60$

$K_{\text{significante}} (P < 0.01)$

LITERATURA CITADA

- Amato Neto, V. 1971. Toxoplasmosis: aspectos clínicos, diagnósticos, terapéuticos e profiláticos. *Rev. Paul. Med.* 77: 151-156.
- Behymer, R.D.; D.R. Harlow; D.E. Behymer; C. Franti. 1973. Serologic diagnosis of toxoplasmosis and prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in selected feline, canine and human population. *JAVMA* 162: 959-963.
- Carlier, Bout D.; J.P. Dessaint; A. Capron; F. Van Knapen; E.J. Ruitenberg 1980. Evaluation of the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) an other serological tests for the diagnosis of toxoplasmosis. *Bull. World Health Organization* 58: 99-105.
- Cohen, J. 1960. A coefficient of agreement for nominal scales. *Educ. Psychol. Measur.* 20: 37-46.
- Goldman, M. 1957. Staining *Toxoplasma gondii* with fluorescein labeled antibody. *J. Exp. Med.* 105: 557-573
- Ishizuka, M.M.; J.L. D'Angelino; J.M.P. Souza. 1986. Toxoplasmosis suína. 2. Estudio comparativo das provas de imunofluorescência indireta e hemaglutinação, para a avaliação de anticorpos anti-toxoplasma em soros suínos. *Bol. Oficina Sanit. Panam.* 100: 524-530.
- Jacobs, L.; M.N. Lunde. 1957. A hemagglutination test for toxoplasmosis. *J. Parasitol.* 43: 308-314.
- Nicolaus, S.; A. Ravelo. 1937. Réactions de fixation du complement dans le serum et les extracts d'organes d'animaux atteints de toxoplasmosis expérimentale. *Bull. Soc. Path. Exot.* 30: 885-889.
- Romero, T.; M. Bermudez; P.G. Dosil; M. Mantiel; A. Ruiz. 1995. Estudio comparativo entre los métodos de hemaglutinación indirecta e inmunoanálisis enzimática en el diagnóstico de la toxoplasmosis. *Kasmera* 23: 69-88.
- Sabin, A.B.; H.A. Feldman. 1948. Dyes as microchemical indicators of a new immunity phenomenon affecting a protozoon parasited (*Toxoplasma*). *Science* 108: 660-663.
- Venkatesan, P.; D. Wakelin. 1993. ELISA for parasitologists: or Lies, Damned Lies and ELISAs. *Parasitol. Today* 9: 228-232.
- Waltman, W.D.; D.W. Dreesen; M.D. Prickett; J.L. Blue; D.C. Oliver. 1984. Enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of toxoplasmosis in swine: Interpreting assay results and comparing with other serologic tests. *Am. J. Vet. Res.* 45: 1719-1725.
- Walton, B.C. 1971. Seroepidemiology of toxoplasmosis. En: *International Congress of Parasitology. 2. Washington*: 115-20.