

TEMA DE ACTUALIDAD

Transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en el Paraguay**Congenital transmission of Chagas disease in Paraguay*****Russomando G**

Departamento de Biología Molecular y Genética, Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Universidad Nacional de Asunción. Asunción-Paraguay

RESUMEN

Las estrategias actuales recomendadas para el diagnóstico de la infección congénita chagásica requieren del diagnóstico serológico convencional en mujeres embarazadas para detectar su infección y la confirmación parasitológica en recién nacidos infectados verticalmente. La detección de parásitos en sangre no resulta un método fácil de aplicar a gran escala y a nivel de salud pública por lo que se recomienda finalmente la serología convencional, es decir la detección de IgG anti-*T. cruzi* en infantes mayores a 8 meses de edad. Teniendo en cuenta estas recomendaciones nuestro grupo ha diseñado estrategias operativas en áreas rurales endémicas que permiten la rápida detección y tratamiento de infantes infectados congénitamente. Demostramos que la descentralización de los estudios serológicos de los grandes Hospitales Regionales ayuda a la rápida identificación de las mujeres infectadas, como también el registro de su estado de infección en las fichas familiares, prenatal y pediátrica. Los resultados de más de 15 años de estudio de nuestro grupo, indican que a pesar de la alta sensibilidad de la técnica reacción en cadena de la polimerasa (PCR), resulta muy complejo su empleo con fines de diagnóstico a nivel rural y en gran escala, siendo muy útil para evaluar el tratamiento realizado en los niños infectados. La serología convencional permite la detección inequívoca de anticuerpos del tipo IgG en infantes infectados congénitamente después de los 8 meses de edad (tiempo máximo observado para el *clearance* de anticuerpos maternos). Sin embargo esta estrategia hace que el tiempo requerido en el seguimiento para descartar transmisión congénita disminuya la adherencia durante el periodo de seguimiento con una importante pérdida de niños que no son traídos al control. La detección de casos de transmisión congénita aumenta notablemente cuando se utiliza una combinación de las técnicas serológicas convencionales y un ELISA que hemos diseñado con el antígeno recombinante de fase aguda, "shed acute phase antigen" (SAPA) que permite la detección inequívoca de infantes infectados congénitamente a los 3 meses de edad.

Palabras claves: Enfermedad de Chagas, transmisión congénita, SAPA, Paraguay.

ABSTRACT

The current strategies recommended for the diagnosis of congenital Chagas disease require the conventional serological diagnosis in pregnant women to detect their infection and the parasitological confirmation in the congenitally infected newborns. The detection of parasites in blood is not a method easy to apply at large scale and at public health level. Therefore, the conventional serology is recommended, i.e. detection of anti-*T. cruzi* IgG in infants older than eight months of age. Considering these recommendations, our group has designed operative strategies in endemic rural areas that allow the rapid detection and treatment of congenitally infected infants. We have demonstrated that the decentralization of the serological studies from the Regional Hospitals contributes to the fast identification of the infected women together with the registration of their infection

*Autor Correspondiente: **Dra. Graciela Russomando**, Departamento de Biología Molecular y Genética
Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud. Río de la Plata y Lagerenza. Asunción-Paraguay
Email: biomol@iics.una.py

Fecha de recepción: septiembre del 2009, fecha de aceptación noviembre del 2009

status in the family, prenatal and pediatric files. The results of over fifteen years of study of our group indicate that, in spite of the high sensitivity of PCR, its use with diagnosis purposes is very complex at large scale and in rural areas. However, the polymerase chain reaction (PCR) technique is very useful to evaluate the treatment of infected children. The conventional IgG serology allows the unequivocal detection of congenitally infected infants after eight months of age (maximum time observed for the clearance of maternal antibodies). However, this strategy makes that the time required to rule out a congenital transmission in the follow-up diminishes adherence with an important loss of children that are not brought to control. The detection of congenital transmission cases increases remarkably when a combination of the conventional serological techniques and an ELISA that we designed with the recombinant protein "shed acute phase antigen" (SAPA) is used, allowing the unequivocal detection of congenitally infected children at three months of age.

Keywords: Chagas diseases, congenital transmission, SAPA, Paraguay.

INTRODUCCIÓN

La transmisión congénita ocurre en todas las regiones endémicas de América Latina y depende directamente de la infección en las mujeres en edad fértil, quienes han adquirido la infección con el *Trypanosoma cruzi* mayormente por transmisión vectorial (1). Se estima que aproximadamente 15.000 infantes nacen infectados anualmente por transmisión vertical en América Latina, y que el número de mujeres seropositivas de 15 a 44 años es de alrededor de 1.809.507 (2,3). Los grandes avances logrados por los países endémicos en el control de las otras vías de transmisión, vectorial y transfusional, han permitido una notable reducción en el número de casos agudos por año, mientras que las infecciones por transmisión vertical seguirán siendo una fuente importante de transmisión en los futuros 20 a 30 años. La prevención de la transmisión vertical de *T. cruzi* no es posible hasta la fecha, pero el infante infectado puede ser detectado a tiempo y el tratamiento es muy efectivo, los niños se curan en un 100% cuando son detectados a edades inferiores al año (1,4).

En Paraguay, en los años 1996 a 1998 a través de un proyecto financiado por el TDR/OMS (5), logramos implementar un sistema de diagnóstico prenatal de infección por *T. cruzi* en dos departamentos endémicos para la enfermedad de Chagas, Cordillera y Paraguari. Este proyecto tenía como objetivo desarrollar un sistema sostenible en el tiempo, que permitiera detectar y aconsejar a mujeres embarazadas seropositivas para *T. cruzi* y al mismo tiempo diagnosticar y tratar en forma oportuna a niños infectados congénitamente en áreas rurales endémicas.

La metodología desarrollada estratégicamente, gracias a evaluaciones periódicas de control y seguimiento, logró incorporarse al sistema de salud en 37 municipios de ambos departamentos, y el sistema funciona sin interrupciones hasta la fecha. En los últimos 15 años, las Regiones Sanitarias de Paraguari y Cordillera incorporaron un sistema de diagnóstico universal para la enfermedad de Chagas durante el control prenatal, y han detectado y aconsejado a 9.998 mujeres seropositivas para *T. cruzi* en edad fértil de un total de 90.946 mujeres embarazadas analizadas (48.080 en Cordillera y 42.866 en Paraguari). En los primeros 5 años, las prevalencias para la enfermedad de Chagas en el grupo etáreo (15 años a 45 años) eran de 15% y 12% en Cordillera y Paraguari, respectivamente. Sin embargo, en los últimos 5 años se ha notado un descenso muy importante, valores de 8% a 6% (ver tabla 1A y B), atribuyéndose este descenso a las acciones de control vectorial iniciadas en el año 1999 en forma continua en el tiempo y contigua geográficamente en toda la región oriental del Paraguay y al tamizaje serológico en bancos de sangre que alcanzó el 100% de cobertura para en el año 1995 en lo referente a Chagas. Cabe destacar que toda mujer seropositiva detectada durante el prenatal no ingresa al tamizaje serológico en embarazos posteriores debido a que ambos

departamentos están libres de transmisión domiciliar por *Triatoma infestans*. Se estima que hasta la fecha el sistema ha evaluado serológicamente al 70% de las mujeres en edad fértil de ambos departamentos. Además, se ha diseñado al mismo tiempo una estrategia para áreas rurales endémicas de diagnóstico, tratamiento, y seguimiento control pos tratamiento de niños infectados congénitamente con *T. cruzi*. Este sistema ha permitido analizar pasivamente 6.937 infantes de madres seropositivas desde 1998 hasta la fecha y 354 niños infectados congénitamente han sido tratados con la droga benznidazole. En el año 1998, luego de una evaluación interna de proceso, buscamos una alternativa diagnóstica. Esto último se debió a que la serología convencional para el diagnóstico precoz no era oportuna y además la técnica molecular PCR (reacción en cadena de la polimerasa) (6) no era aplicable para diagnóstico a nivel de salud pública en países endémicos (7). Por lo anteriormente expuesto, desarrollamos un test de ELISA con la proteína recombinante shed acute phase antigen (SAPA) (8-11) que permite detectar a niños entre 3 y 8 meses de edad infectados congénitamente, y desde el año 2001 hasta la fecha se emplea dentro del tamizaje de rutina a todos los infantes de madres seropositivas.

Concluimos que la combinación de la serología convencional (ELISA) y la técnica ELISA-SAPA son técnicas suficientes para efectuar un diagnóstico precoz y de certeza, a partir de los 3 meses de edad, en un programa de control de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en zonas endémicas para la infección con *T. cruzi*.

En el presente trabajo describimos la metodología utilizada para implementar el sistema y los resultados obtenidos hasta la fecha.

Tablas 1A y 1B. Enfermedad de Chagas control prenatal y Chagas congénito. Número de mujeres embarazadas analizadas durante el control prenatal y prevalencia de infección con *Tripanosoma cruzi* en Cordillera y Paraguari

A)

AÑO DEPARTAMENTO	julio.1995 a Dic. 2000		AÑO 2001		AÑO 2002		AÑO 2003		AÑO 2004	
	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS
CORDILLERA	23.750	3.485 (15%)	2.770	347 (13%)	3.574	397 (11%)	2.027	213 (11%)	848	53 (6%)
PARAGUARI	21.307	2.551 (12%)	2.388	264 (11%)	2.898	344 (12%)	1.694	166 (10%)	345	17 (5%)
TOTAL	45.057	6.036	5.158	611	6.472	741	3.721	379	1.193	70

B)

AÑO 2005		AÑO 2006		AÑO 2007		AÑO 2008		AÑO 2009	
TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS
2.752	217 (7.8%)	1.694	144 (8,5%)	3.287	240 (7%)	3.338	224 (7%)	4.040	237(6%)
1.939	165 (8.5%)	3.062	253 (8%)	3.059	253 (8%)	2.954	248 (8%)	3.220	180 (6%)
4.691	382	4.756	397	6.346	493	6.292	472	7.260	417

Fecha de inicio del Programa Control Prenatal: julio de 1995

Número de mujeres analizadas hasta la fecha: **90,946** mujeres embarazadas (48,080 en Cordillera y 42,866 en Paraguari)

Número de mujeres infectadas con *T. cruzi*: **9,998** mujeres en edad fértil infectadas (5,557 en Cordillera y 4,441 en Paraguari)

Prevalencia de infección con *T. cruzi* en mujeres embarazadas a nivel departamental año 2009: 6% en Cordillera y 6% en Paraguari.

Número de servicios de salud involucrados en el programa de Control Prenatal y Chagas Congénito: 25 en Cordillera y 18 en Paraguari

Tipo de muestreo: Universal

Obs.: Toda mujer seropositiva detectada durante el prenatal no ingresa al screening serológico en embarazos posteriores.

Se estima que hasta la fecha el Sistema ha evaluado serológicamente aprox. al 70% de las mujeres en edad fértil de ambos departamentos.

ESTRATEGIAS IMPLEMENTADAS

Incorporación a los servicios de Puestos, Centros de Salud y Hospitales Regionales el diagnóstico de la enfermedad de Chagas dentro del control prenatal en forma universal

Los dos departamentos seleccionados, por ser endémicos para la enfermedad de Chagas en la región Oriental del Paraguay, fueron Cordillera y Paraguari. Estos departamentos están divididos en 20 y 17 distritos respectivamente. La población según el Censo Nacional del año 2002 en estos departamentos era de 233.854 y 221.932 habitantes, con 44.864 y 50.538 mujeres de 15 a 49 años de edad en Cordillera y Paraguari, respectivamente (censo nacional 2002), ver tabla 2. Se descentralizó para este estudio a los dos grandes Hospitales Regionales de los dos departamentos endémicos creando 9 puntos estratégicos de análisis laboratorial equidistantes a los 37 municipios existentes. En la evaluación de proceso de los primeros 3 años, los laboratorios implementados en este programa habían logrado que 40 servicios sanitarios, Puestos y Centros de Salud rurales, de difícil acceso y distantes, remitieran para el control serológico 27.626 muestras de mujeres embarazadas desde julio de 1995 a julio de 1998, en forma sistemática, ininterrumpida y localmente sustentable, logrando un 80% de cobertura a nivel prenatal y detectándose 3.824 mujeres infectadas. Habíamos incorporado un sistema de control de calidad en cada laboratorio con monitoreos mensuales, detectando valores falsos negativos del orden 0,29% y 0,6%, y falsos positivos de 0,9% y 0,69%, en Cordillera y Paraguari respectivamente, además cada tres meses participábamos en las reuniones de gestión de cada Región Sanitaria. Estas actividades permitieron una activa retroalimentación con el 100% de los servicios de salud involucrados durante los tres primeros años. Se adiestraron funcionarios entre bioquímicos y auxiliares de enfermería como laboratoristas de los Centros de Salud y de los 3 Hospitales Regionales; estos encargados eran responsables de los estudios serológicos e interpretación de resultados para la detección de anticuerpos anti-*T. cruzi* por la técnica de ELISA, empleando un reactivo de producción local (Chagas Kit, IICS) (12). Además, incorporamos en simultáneo estudios de sífilis (VDRL (aglutinación de partículas de látex para la detección de anticuerpos anti- *Treponema pallidum*) en los mismos sueros de embarazadas. Mensualmente nuestro equipo realizaba visitas de supervisión, todas las muestras debían de estar congeladas en microtubos, y en Asunción (IICS-UNA-Laboratorio de Biología Molecular) se llevaba a cabo el control de calidad.

Control de calidad a los laboratorios rurales

Fue fundamental para el empoderamiento y la sostenibilidad del programa el control de calidad realizado en forma cruzada durante los dos primeros años. Este control consistió en evaluar el 100% de los sueros que arrojaban resultados positivos en los 8 laboratorios, el 100% de los dudosos y un promedio del 15% al 20% de los negativos. De acuerdo a nuestra evaluación inicial el número de resultados discordantes, falsos positivos y negativos, no se debieron a problemas de interpretación de la técnica del Kit IICS-ELISA-Chagas (12), los errores eran mayormente al transcribir los resultados. Este problema fue disminuyendo mediante la constante comunicación entre el personal del IICS y los laboratorios rurales. Con respecto a las muestras dudosas, podemos decir que fueron muy pocas y se presentaron en los tres primeros meses, producto de la inexperiencia de los técnicos a pesar de que se emplea un kit de ELISA que no requiere de equipos para su lectura (la interpretación es colorimétrica y se realiza a simple vista). Cabe destacar que en zonas endémicas, entre el 1% y 2% de las muestras serológicas, especialmente en adultos, son "borderline" y requieren de una segunda muestra de sangre.

Apoyo al Programa de sífilis congénita

Desde el inicio se incorporó al sistema, el diagnóstico de sífilis por la técnica de VDRL, técnica que estaba centralizada en los dos Hospitales Regionales ubicados en las

cabeceras departamentales hasta el año 1996 y no lograba la cobertura departamental. En los años 1997 y 1998 ya se observó una cobertura de más del 90% en el control serológico prenatal según datos registrados en los informes anuales de Servicios Prestados del Ministerio de Salud Pública y Bienestar Social, en donde se destacaban estas dos Regiones Sanitarias con respecto a las demás. El control serológico para Chagas, practicado a nivel de Puestos y Centros de Salud durante el control prenatal, ha influido indirectamente en el aumento de la cobertura de sífilis a nivel departamental. La adherencia al sistema se debió en gran parte a que los servicios de salud distantes podían acceder a los resultados serológicos semanalmente.

Resultados epidemiológicos: aplicación de un cuestionario durante el primer año de implementación del programa, 1996 a 1997

El análisis de los cuestionarios empleados en el programa, permitieron demostrar que, entre el 80% y 85% de las embarazadas estudiadas nunca salieron de sus respectivos departamentos, y que el 68% y el 74% de las mismas, en Cordillera y Paraguarí respectivamente, siempre vivieron en el mismo distrito; en estos grupos se detectó el mayor porcentaje de seropositividad para la enfermedad de Chagas. Entre las embarazadas que asistieron al control pre-natal, el rango de edad mayoritario fue de 20 a 30 años. Se observó que la seroprevalencia de anticuerpos anti-*T. cruzi* aumentaba con la edad (entre 24% y 28% de infección en mujeres con edad igual o mayor a 41 años). Esto último indicaba que la infestación de las casas con *Triatoma infestans* era bastante antigua en ambas poblaciones, pero los riesgos de infección continuaban hasta el año 1996 teniendo en cuenta que entre las jóvenes de 12 a 19 años de edad se detectó una infección del 11%. El 39% de las mujeres analizadas habían tenido más de tres embarazos, entre ellas el 45% eran mujeres seropositivas con más de tres hijos, lo cual situaba a ambos departamentos en un alto riesgo de transmisión congénita. No observamos una relación directa entre el número de abortos y la seropositividad para la enfermedad de Chagas, aunque las mujeres seropositivas con más de dos hijos, a diferencia de las seronegativas, declaraban haber tenido al menos un aborto. Los 2 distritos cabecera departamentales (con mayor población) presentaban las seroprevalencias para Chagas más bajas del 8% al 11%, en el 50% de los distritos restantes las prevalencias eran elevadas, alrededor del 20%, y en distritos como Emboscada y Nueva Colombia del Dpto. Cordillera las prevalencias eran las más altas alcanzando el 38% a nivel distrital.

Desarrollo de una estrategia de diagnóstico temprano de la infección por *T. cruzi* en infantes de madres seropositivas para Chagas detectadas durante el control prenatal

En el año 2005 hemos publicado un artículo donde describimos las técnicas de diagnóstico para detectar transmisión congénita de la enfermedad de Chagas basada en un estudio a gran escala que permite demostrar las deficiencias de las técnicas de diagnóstico serológico y parasitológico(6). En forma breve, se examinaron 1.865 infantes de madres seropositivas por técnicas parasitológicas como, observación directa al microscopio y reacción en cadena de la polimerasa; y por técnicas serológicas como ELISA, ELISA-SAPA e IFI. Se detectaron 104 niños infectados y todos ellos fueron tratados con benznidazole. La estrategia de solicitar una sola muestra de cada niño de madre seropositiva en vez de dos muestras una al nacer y otra a los 6 meses de edad, resultó más eficiente y con menor pérdida de niños. La técnica PCR ha resultado ser la más sensible para la detección temprana de recién nacidos infectados, pero no recomendamos su empleo como técnica de diagnóstico a nivel de salud pública de áreas rurales endémicas. Esto último se debe a que fue necesario realizar alrededor de 2000 reacciones de PCR para analizar 815 infantes, entre duplicados, controles y repeticiones, permitiendo detectar 60 infantes infectados. Entre los 815 infantes analizados por PCR se encontró que 7 infectados, con serología positiva posterior a los 8 meses, no pudieron ser

detectados por esta técnica.

La detección de bebés infectados por transmisión congénita a la edad de 6 meses, ha sido muy recomendada por diversos autores, sin embargo hemos detectado algunas desventajas al querer hacer el diagnóstico a los 6 meses de edad: i) en zonas endémicas el 41% de los recién nacidos de madres seropositivas para *T. cruzi* poseen títulos altos de anticuerpos maternos circulantes, (35%, 1/320 y 6 %, 1/640) lo que conlleva a un diagnóstico falso positivo de transmisión congénita porque el 8% de los niños de 6 meses de edad aún presentan anticuerpos maternos, ii) sólo el 23% presentan anticuerpos detectables del tipo IgM tanto por ELISA, como por IFI, y iii) existe un 2% de infantes infectados que no desarrollan anticuerpos detectables por técnicas convencionales (serían falsos negativos).

En enero de 1998 se iniciaron los trabajos con el antígeno recombinante SAPA. El Dr. Carlos Frasch, del Instituto de Investigaciones Biotecnológicas de la Universidad de San Martín, Argentina, cedió a nuestro equipo para fines de investigación y de salud pública el plásmido pGex con el inserto que codifica para el antígeno recombinante SAPA. Hasta la fecha producimos este antígeno recombinante empleando en la purificación columnas de glutatión (no observamos interferencias con proteínas de *E. coli*). El protocolo para el ELISA-SAPA fue estandarizado en el departamento de Bioquímica y Producción del IICS, empleando todos los reactivos del kit convencional ELISA-Chagas-IICS.

En las tablas 2 y 3, se describe el número de infantes evaluados para descartar transmisión congénita, por edad, desde el año 1998 hasta el 2009, en Paraguarí y Cordillera.

Considerando los resultados obtenidos con las técnicas convencionales (serológicas-parasitológicas) y los resultados parciales obtenidos hasta la fecha con el ELISA-SAPA, observamos que la combinación de estas dos técnicas serológicas aplicadas en papel de filtro, ELISA- IgG y ELISA-SAPA-IgG sería suficiente para efectuar un diagnóstico precoz y de certeza en niños menores de seis meses que residen en áreas rurales. Nuestro grupo ha publicado recientemente algunos datos parciales sobre el ELISA-SAPA como parte de una tesis de maestría en Argentina. En el mes de septiembre de 2010 la revista Expert Review of Molecular Diagnostics publicará los resultados de nuestro grupo de la estandarización de la técnica ELISA-SAPA aplicado a 4.500 muestras de infantes menores de 1 año, hijos de madres seropositivas. Esta técnica está siendo empleada de rutina desde el año 2001 en nuestro país para la detección temprana e inequívoca de niños infectados congénitamente desde los 3 meses a 8 meses de edad.

Tabla 2. Cobertura del estudio serológico (anticuerpos IgG anti-*T. cruzi*) durante el tamizaje prenatal y estimación de población de mujeres entre 12 y 49 años de edad infectadas con *T. cruzi* en los departamentos de Cordillera y Paraguarí

Departamentos	Población total	Población mujeres 12 a 49 años	Nº de Mujeres examinadas durante el control Prenatal (serología anti- <i>T. cruzi</i>)	Nº de Mujeres de serología •positiva examinada por el sistema	% de Mujeres entre 12 y 49 años examinadas durante el control Prenatal	Nº estimado de Mujeres infectadas con <i>T. cruzi</i> (*)
Cordillera	233.854	44.864	32.459	4.460 (14%)	72%	6.281
Paraguarí	221.932	50.538	28.632	3.342 (12%)	57%	6.065
Total	455.786	95.402	61.091	7.802 (13%)	64%	12.346

Nota. Datos basados en el censo de 2002 y cobertura serológica prenatal de julio de 1995 a diciembre de 2004.

(*) Este dato se obtuvo al multiplicar el % de seropositividad para *T. cruzi* por la población total de mujeres con edad comprendida entre 12 y 49 años, en cada departamento.

Tabla 3. Control prenatal y Chagas congénito. Muestras analizadas de infantes de madres seropositivas desde 1998 hasta 2009

Dpto. Biología Molecular y Genética – IICS-UNA

IX REGION SANITARIA - PARAGUARI																									
AÑO	1998		1999		2000		2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007		2008		2009		
EDAD	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	
0-6 m	0	0	3	0	11	0	9	0	0	0	4	1	0	0	11	1	1	0	3	0	11	0	1	0	
6m	6	1	22	1	16	2	20	0	8	0	10	0	3	2	2	0	2	0	1	0	7	1	0	0	
7m	0	0	23	1	20	3	18	0	4	0	8	0	2	2	0	1	0	4	0	4	0	7	0	1	0
8m	5	0	7	1	18	1	9	0	2	0	4	0	1	1	0	2	0	4	0	3	0	0	0	0	0
9m	2	0	10	0	14	2	7	1	3	0	3	0	1	4	0	1	0	3	0	4	0	4	0	0	0
10m	0	0	5	0	10	0	9	1	1	0	4	1	0	2	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
11m	0	0	11	1	10	2	3	0	1	0	4	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0
12m a 18m	2	0	39	1	103	9	32	1	8	0	16	0	3	18	1	1	0	9	1	16	0	2	0	2	0
19m a 24m	3	0	34	3	67	6	39	2	4	1	15	2	1	3	0	0	0	2	0	4	0	0	0	0	0
2 años	4	0	47	2	127	8	70	6	7	0	35	1	2	29	0	2	0	12	1	15	0	0	0	0	0
3 años	0	0	54	1	124	4	64	6	3	0	28	0	1	29	0	3	1	3	0	16	0	1	0	1	0
4 años	1	1	14	0	131	12	42	1	5	0	29	0	2	24	0	2	0	4	0	10	0	1	0	1	0
5 años	0	0	4	1	34	3	15	1	4	0	20	1	0	19	0	1	0	6	0	11	2	0	0	0	0
6 años	0	0	2	0	17	3	6	1	3	0	19	2	0	24	1	9	0	4	1	4	1	0	0	0	0
>6 años																		11		27	0	7	1		
Rescate																	813	31							
TOTAL	23	2	275	12	688	50	340	20	53	1	199	8	17	1	168	3	838	32	66	3	137	4	13	1	
FREC.		9%		4%		7%		6%		2%		4%		6%		2%		4%		4,5%		3%		8%	

Tratamiento de niños infectados con *T. cruzi* por transmisión congénita y evaluación pos tratamiento

Las embarazadas seropositivas reciben información en el momento de la entrega de resultados. Se le explica sobre los estudios que ella debe solicitar en el futuro, y la importancia del control del bebé a los tres meses de vida. También recibe información sobre el tratamiento que recibirá su hijo en forma gratuita en el caso de que se detecte la infección con *T. cruzi*, y la importancia del control del tratamiento. El tratamiento de los niños con Chagas congénito lo realiza un pediatra del Hospital Regional, o un médico responsable del puesto o centro de salud del distrito de donde procede la mujer infectada. Se suministra la droga Benznidazole a una dosis de 5 a 10mg/kg peso/día, durante 60 días según la edad del niño.

Se han analizado desde 1998 hasta la fecha 6.937 niños de madres seropositivas y se trataron a 354 niños infectados congénitamente con la droga benznidazole (ver tablas 3 y 4). En el año 2009 se trataron 32 niños infectados y se confirmó cura parasitológica por negativización de la serología en 56 niños que habían sido tratados cuando tenían entre 3 meses a 8 años de edad y que contaban con un seguimiento de control pos tratamiento de 2 años a 10 años. La técnica PCR se emplea de rutina en la evaluación pos tratamiento.

Tabla 4. Muestras analizadas de infantes de madres seropositivas desde 1998 hasta 2009

Dpto. Biología Molecular y Genética – IICS-UNA

III REGION SANITARIA - CORDILLERA																								
AÑO	1998		1999		2000		2001		2002		2003		2004		2005		2006		2007		2008		2009	
EDAD	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS	TOTAL	POS
0-6 m	10	0	2	0	3	0	66	8	85	4	72	6	18	13	1	32	4	22	0	16	0	19	0	
6m	73	5	68	6	61	5	52	3	22	1	18	1	7	3	0	7	0	6	0	6	0	2	0	
7m	73	5	43	2	36	4	29	3	25	2	16	0	4	4	0	5	0	2	2	2	0	6	0	
8m	42	2	28	1	25	1	20	1	10	0	10	0	2	1	0	4	0	1	0	4	0	2	0	
9m	45	3	22	1	20	0	29	0	8	1	6	0	3	1	0	7	0	6	0	1	0	1	0	
10m	22	0	15	0	14	0	16	0	9	0	9	0	2	1	0	1	0	3	0	2	1	0	0	
11m	27	4	15	0	16	3	8	0	5	0	5	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	
12m a 18m	147	5	47	3	96	2	64	7	29	3	44	1	7	10	0	11	0	15	0	9	1	9	0	
19m a 24m	92	8	17	0	25	0	46	5	15	0	14	1	3	3	0	1	0	6	0	2	0	4	0	
2 años	177	9	30	3	54	0	16	1	15	0	47	4	5	5	0	14	0	5	1	2	0	1	0	
3 años	35	2	12	0	26	0	26	0	17	0	44	3	2	4	0	7	0	4	0	7	1	1	0	
4 años	10	2	6	1	15	1	20	2	7	0	32	3	5	5	0	7	0	6	0	5	0	3	0	
5 años	5	1	6	0	12	1	10	0	4	0	24	2	2	2	0	3	1	5	0	5	0	4	0	
6 años	3	0	6	2	3	0	2	0	8	0	16	0	0	3	0	18	1	6	0	4	0	2	0	
>6 años																		4		11	1	6	1	
Rescate																	1137	57						
TOTAL	761	46	317	19	406	17	404	30	259	11	357	21	60	1	55	1	1255	63	91	3	76	4	61	1
FREC.		6%		6%		4%		7%		4%		6%		2%		2%		5%		3%		5%		2%

Observación: 4.987 niños de madres seropositivas detectados en forma pasiva desde 1998 hasta el 2009. No incluye el rescate masivo del año 2006.

CHAGAS CONGÉNITO EN REGIONES NO ENDÉMICAS

En el año 1999 iniciamos un trabajo similar en el departamento de Alto Paraná, con el apoyo de la Itaipú Binacional. Los resultados obtenidos fueron:

1) Un total de 2.314 mujeres embarazadas fueron analizadas. En este grupo se detectaron 80 mujeres seropositivas para *T. cruzi*. La seroprevalencia para la enfermedad de Chagas, resultó ser del 3,5%. Se destaca que tan solo el 31,5% (728 de 2314 mujeres embarazadas) analizadas, nacieron en el departamento de Alto Paraná, constatándose una seroprevalencia para *T. cruzi* muy baja (1,9%) en ese departamento (14 mujeres seropositivas de 728 mujeres nacidas en Alto Paraná). El 57% de las mujeres analizadas no tenían más de 5 años residiendo en el distrito donde vivían en el momento de la encuesta.

2) Los distritos en los que se detectaron mayor número de mujeres embarazadas infectadas con *T. cruzi* fueron: Los Cedrales (8,3%), Itakyry (4,7%), Minga Guazú (5,2%), Minga Porá (4,9%) y JL Mallorquín (4,8%).

3) En cuanto a sífilis, se observaron infecciones alarmantes en mujeres embarazadas residentes en Hernandarias (8,5%), Los Cedrales (8,3%), Pdte. Franco (6,3%), Itakyry (4,7%) y Ciudad del Este (3,7%). Lo cual fue alertado al sistema de salud. Los casos de infección con sífilis alarmantes se detectan en todas las edades, resaltando un 6 % de infección sífilítica entre las mujeres de 40 a 49 años de edad.

4) Entre las embarazadas que asistieron al control pre-natal, el rango de edad 20 a 29 años fue el más elevado. El 73% de las mujeres eran menores de 30 años, y la seroprevalencia en este grupo era del 2,3%. El mayor número de mujeres seropositivas para *T. cruzi* se encontraba en el grupo de mujeres mayores, de 30 a 49 años de edad. Teniendo en cuenta que tan solo el 31% de las 2314 mujeres analizadas nacieron en Alto Paraná y que 59 mujeres de las 80 mujeres positivas (74%) provienen de personas que nacieron en otros departamentos, resulta difícil determinar la antigüedad de la transmisión vectorial en el departamento de Alto Paraná.

5) Al relacionar los rangos de edad y el origen (lugar de nacimiento y procedencia) de las mujeres encuestadas durante el control prenatal, se observó que el mayor número de migrantes se encontraba en los grupos etáreos de 30 a 39 años, (72%) y de 40 a 49 años, (81%). Los resultados sugieren que la mayor seroprevalencia para Chagas detectada en estos grupos etáreos se debería a una infección contraída en los lugares de nacimiento, y no en el lugar donde viven actualmente, que es en el departamento de Alto Paraná considerado históricamente no endémico.

6) Actualmente el diagnóstico prenatal de Chagas no es Universal en Alto Paraná, lo realizan en los servicios de salud preguntando como factor de riesgo el lugar de nacimiento de las mujeres embarazadas.

CONCLUSIONES

Se propone la realización de controles serológicos de Chagas y sífilis, rutinarios y sistemáticos, en embarazadas dentro del examen prenatal en departamentos históricamente endémicos para Chagas, ejecutados en forma descentralizada de los grandes hospitales para que los mismos sean accesibles a toda la población de embarazadas.

La descentralización de los estudios serológicos de los grandes Hospitales Regionales, permitiría la rápida identificación de las mujeres infectadas, como también el registro de su estado de infección en las fichas familiares, prenatal y pediátrica. Estas acciones deben ser ejecutadas en los puestos y centros de salud de los distritos de donde provienen, y donde realizan sus controles prenatales, partos, inscripciones y vacunación de los bebés, permitiendo además detectar la infección chagásica en forma precoz en recién nacidos de mujeres embarazadas seropositivas.

La descentralización del diagnóstico en las áreas de alta endemicidad, además de contribuir al control de la enfermedad de Chagas congénita, establecería sistemas regionales de diagnóstico y tratamiento para Chagas dentro de los ya establecidos en la estructura de servicios de salud del país.

Los resultados de más de 15 años de estudio de nuestro grupo, indican que a pesar de la alta sensibilidad de la técnica PCR, resulta muy complejo su empleo con fines de diagnóstico a nivel rural y en gran escala, siendo muy útil para evaluar el tratamiento realizado en los niños infectados (que es lo que realizamos de rutina hasta la fecha) (13,14). Los tests convencionales para la detección de parásitos en sangre son muy difíciles de implementarlos rutinariamente a gran escala (a nivel de salud pública), la serología IgG convencional permite la detección inequívoca de infantes infectados congénitamente después de los 8 meses de edad (tiempo máximo observado para el *clearance* de anticuerpos maternos). Sin embargo, el tiempo requerido en el seguimiento para descartar transmisión congénita disminuye la adherencia durante el periodo de seguimiento con una importante pérdida de niños que no son traídos al control. La detección de casos de transmisión congénita aumenta notablemente cuando se utiliza una combinación de las técnicas serológicas convencionales y el antígeno recombinante de fase aguda SAPA en una sola muestra del infante entre 3 a 8 meses de edad. Demostramos, que al nacer la IgG anti-SAPA debe ser tomada con mucho cuidado, debido a que a pesar de ser un marcador de fase aguda, el 40% de las madres poseen niveles detectables de IgG anti-SAPA en las zonas estudiadas. Esto resulta un inconveniente para el diagnóstico en recién nacidos, y no ha sido publicado anteriormente por otros grupos.

Hemos establecido un modelo sustentable localmente de diagnóstico prenatal para la enfermedad de Chagas, para la interrupción de la transmisión congénita en zonas de alta endemicidad, como también se ha logrado:

a) Determinar las regiones de mayor seroprevalencia a la infección por *T. cruzi* con el fin de tomar decisiones políticas dirigidas hacia el control vectorial y bancos de sangre. Este trabajo influyó en la decisión política de los años 1999 y 2000 para fumigar, acciones de control vectorial, en ambos departamentos en forma integral con el apoyo de las Gobernaciones y los municipios.

b) El sistema permite educar a la familia sobre esta enfermedad a través de los conocimientos adquiridos por la madre.

c) Las mujeres seropositivas son excluidas como posibles donantes de sangre.

d) Alertamos a aquellas mujeres seropositivas sobre las posibles consecuencias clínicas de esta enfermedad, haciéndoles saber sobre la importancia de un chequeo cardiológico anual, que le permitiría detectar en forma temprana los efectos secundarios de la cardiopatía chagásica y que eventualmente prolongaría y mejoraría su calidad de vida.

Desde el año 1997 el programa prenatal está siendo localmente sustentable técnica y económicamente. El Ministro de Salud Pública y las Regiones Sanitarias han decretado de importancia en Salud Pública al programa prenatal y el programa de Chagas del SENEPA (Servicio Nacional de Control de Vectores) se encarga de la compra y suministro de los kits de ELISA para las Regiones Sanitarias, Paraguarí y Cordillera. El laboratorio de Biología Molecular del IICS-UNA, realiza los monitoreos mensuales, evaluaciones de proceso y seguimiento como un componente de Extensión Universitaria.

AGRADECIMIENTO

Este trabajo ha sido posible gracias al apoyo técnico logístico de los docentes investigadores del IICS y de las Regiones Sanitarias del MSPyBS:

Zunilda Sánchez¹, Graciela Meza¹, María Almirón¹, Norma Candia¹, Leticia Franco¹, Ivalena de Guillén², María Mercedes Carpinelli de Tomassone³.

¹Dpto. de Biología Molecular y Genética, ²Dpto. Bioquímica y Producción, ³Dpto. de Inmunología. Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud (IICS), UNA.

Ministerio de Salud Pública: III Región Sanitaria- Cordillera, IX Región Sanitaria-Paraguari. Hospitales, Centros y Puestos de Salud.

BIBLIOGRAFÍA

1. Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *Trypanosoma cruzi*: from mechanisms of transmission to strategies for diagnosis and control. Conclusions of round tables and synopsis of an international colloquium. Cochabamba, Bolivia, 6-8 November 2002. Rev Soc Bras Med Trop (accessed 12/3/2007). 2003; (6):767-71. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v36n6/a24v36n6.pdf>.
2. Pan-American Health Organization. PAHO/HDM/CD/476/07. Report of the technical consultation on information, education and communication (IEC) on congenital Chagas' disease 2007. (online) (Accessed 12/3/2007). Available from: <http://www.paho.org/English/AD/DPC/CD/dch-congenita-iec-07.doc>.
3. Organización Panamericana de la Salud. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. Montevideo, Uruguay: OMS; 2006.
4. Freilij H, Altcheh J. Congenital Chagas' disease: diagnostic and clinical aspects. Clin Infectious Disease 1995;21:551-5.
5. Russomando G. Assessment of a locally sustainable system for Chagas' disease diagnosis in two endemic regions of Paraguay. (online) 1999. (Accessed 29/6/2009). Available from: <http://www.who.int/tdroid/research/finalreps/pdf/fr16.pdf>.
6. Russomando G, Almiron M, Candia N, Franco L, Sánchez Z, de Guillen I. Implementación y evaluación de un sistema localmente sustentable de diagnóstico prenatal que permite detectar casos de transmisión congénita de la enfermedad de Chagas en zonas endémicas del Paraguay. Rev Soc Bras Med Trop 2005; 38(2):49-54.
7. Russomando G, Figueredo A, Almirón M, Sakamoto M, Morita K. Polymerase Chain Reaction-Based Detection of *Trypanosoma cruzi* DNA in serum. J Clin Microbiol 1992;30:2864-8.
8. Affranchino JL, Ibáñez CF, Luquetti AO, Rassi A, Reyes MB, Macina RA, et al. Identification of a *Trypanosoma cruzi* antigen that is shed during the acute phase of Chagas' disease. Mol Biochem Parasitol 1989;34:221-8.
9. Frasch AC, Reyes MB. Diagnosis of Chagas' disease using recombinant DNA technology. Parasitol Today 1990;6:137-9.
10. Reyes MB, Lorca M, Munoz P, Frasch AC. Fetal IgG specificities against *Trypanosoma cruzi* antigens in infected newborns. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:2846-50.
11. Lorca M, Veloso C, Munoz P, Bahamonde MI, Garcia A. Diagnostic value of detecting specific IgA and IgM with recombinant trypanosoma cruzi antigens in congenital Chagas' disease. Am J Trop Med Hyg 1995;52:512-5.
12. Otani MM, Vinelli E, Kirchhoff LV, del Pozo A, Sands A, Vercauteren G, et al. WHO comparative evaluation of serologic assays for Chagas disease. Transfusion 2009;49(6):1076-82.
13. Russomando G, de Tomassone MMC, de Guillen I, Acosta N, Vera N, Almirón M, et al. Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. Am J Trop Med Hyg 1998; 59:487-91.
14. Schijman AG, Altcheh J, Burgos JM, Biancardi M, Bisio M, Levin MJ, et al. Etiological treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and monitored by the polymerase chain reaction. J Antimicrob Chemother 2003; 52:441-9.