

# Diagnóstico de infección por *Trypanosoma cruzi* en Centros de Atención Primaria de Salta, Argentina

## *Diagnosis of Trypanosoma cruzi infection in Primary Public Health Centers of Salta, Argentina*

## *Diagnóstico de infecção por Trypanosoma cruzi nos Postos de Saúde de Salta, Argentina*

► Olga Sánchez Negrette<sup>1a</sup>, María Concepción Monteros<sup>2b</sup>, Carolina Davies<sup>3c</sup>, Mario Oscar Zaidenberg<sup>4d</sup>

<sup>1</sup> Doctora en Bioquímica (PhD).

<sup>2</sup> Bioquímica.

<sup>3</sup> Dra. en Cs Biológicas.

<sup>4</sup> Médico. Máster en Epidemiología. Especialista en Pediatría.

<sup>a</sup> Primer Nivel de Atención. Ministerio de Salud Pública de Salta. Centro de Salud N° 63. "De la madre, el niño y el adolescente". Avenida Sarmiento 655. 4400. Salta. Argentina.

<sup>b</sup> Hospital San Bernardo, Ministerio de Salud Pública de Salta.

<sup>c</sup> Instituto de Patología Experimental, Universidad Nacional de Salta.

<sup>d</sup> Coordinación Nacional de Control de Vectores. Ministerio de Salud de la Nación.

### Resumen

La Enfermedad de Chagas causada por el parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi*, constituye un grave problema de Salud Pública. En Argentina, se controla sistemáticamente la sangre a transfundir, la donación de órganos y se ha disminuido notablemente la transmisión vectorial. El objetivo de este proyecto fue implementar el uso del equipo para recolección de sangre capilar y conservación en glicerina (Serokit) en los servicios de enfermería de los Centros de Atención Primaria de la Salud en la ciudad de Salta a fin de conocer la seroprevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes que concurren a los mismos. Para ello se realizó el par serológico HAI y ELISA en las muestras conservadas en Serokit y luego en muestras de sangre tomadas por punción venosa para confirmación. Durante dos años de trabajo se analizaron 1647 pacientes que concurrieron a 28 Centros de Salud, resultando 1,7% (29/1647) seropositivos. El Valor Predictivo Positivo fue 93,50% y el Valor Predictivo Negativo fue 99,8%. Todos los niños seropositivos fueron tratados con Benznidazol. Se concluye que el uso de Serokit para la toma y conservación de muestras para posterior diagnóstico de infección por *Trypanosoma cruzi* es recomendable en Centros de Atención Primaria de la Salud que no cuentan con laboratorio.

**Palabras clave:** atención primaria de salud \* enfermedad de Chagas \* serología \* niños \* *Trypanosoma cruzi* \* prevención y control

### Summary

*Chagas disease is caused by the hemoflagellate parasite Trypanosoma cruzi, and represents a main concern in public health. In Argentina, blood transfusion and organ donation are systematically controlled for T. cruzi infection, and vectorial transmission has dropped significantly. The aim of this project was to implement the use of the equipment for collecting capillary blood*

Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana

Incorporada al Chemical Abstract Service.

Código bibliográfico: ABCLDL.

ISSN 0325-2957

ISSN 1851-6114 en línea

ISSN 1852-396X (CD-ROM)

and conservation in glycerine (Serokit) in the nursery service of Primary Health Care Centers (PHCC) in the city of Salta, and to know the seroprevalence of *T. cruzi* infection in PHCC patients. To that aim, the serological pair HAI and ELISA was carried out in samples preserved in Serokit, followed by analysis of blood samples taken by venous puncture to confirm the results. During a two-year period, 1647 patients that were assisted at 28 PCHC were analyzed, resulting in 1.7% (29/1647) seropositive samples. Positive Predictive Value was 93.5% and Negative Predictive Value was 99.8%. Every seropositive child was given Benznidazole treatment. It can be concluded that use of Serokit for taking and preserving samples to diagnose serologically *T. cruzi* infection is recommended in PHCC that lack their own biochemistry laboratory.

**Keywords:** primary health care \* Chagas disease \* serology \* children \* *Trypanosoma cruzi* \* prevention and control

## Resumo

A doença de Chagas produzida pelo protozoário flagelado *Trypanosoma cruzi* constitui um grave problema para a Saúde Pública. Na Argentina, o controle sistemático do sangue para transfusão e o do órgão para transplantar, fez com que diminuísse notavelmente a transmissão vetorial. O objetivo deste projeto foi implementar o uso do equipamento para coleta de sangue capilar e conservação em glicerina (Serokit) nos serviços de enfermagem dos Postos de Atenção Primária da Saúde da cidade de Salta a fim de conhecer a soroprevalência de infecção com *Trypanosoma cruzi* em pacientes que são atendidos nos mesmos. Foi realizado o par sorológico HAI e ELISA nas amostras conservadas em Serokit e depois nas amostras de sangue retiradas através de uma punção venosa para a confirmação. Durante dois anos de trabalho, foram analisados 1647 pacientes que foram atendidos nos 28 Postos de Saúde, resultando 1.7% (29/1647) soropositivos. O Valor Preditivo Positivo foi Tripae 93.50% e o Valor Preditivo Negativo foi de 99.8%. Todas as crianças soropositivas foram medicadas com Benznidazol. A conclusão é que o uso de Serokit para a tomada e conservação de amostras para posterior diagnóstico de infecção por *Trypanosoma cruzi* é recomendável nos Postos de Atenção Primária da Saúde onde não existe a disponibilidade de laboratórios.

**Palavras-Chave:** atenção primária de saúde \* doença de Chagas \* sorologia \* crianças \* *Trypanosoma cruzi* \* prevenção e controle

## Introducción

La Enfermedad de Chagas o Tripanosomiasis Americana es una zoonosis causada por el protozoo parásito hemoflagelado *Trypanosoma cruzi* que afecta al menos entre 9 y 10 millones de personas en América Latina, constituyendo un importante problema de Salud Pública (1)(2). En Argentina, el área de transmisión vectorial de *T. cruzi* representa el 70% del territorio continental, extendiéndose desde el norte del país hasta la Patagonia. Desde 1970, Argentina y más específicamente la provincia de Salta aplicaron programas de control en el 100% de los bancos de sangre estatales y mediante la estrategia convencional de Atención Primaria de la Salud mantienen indicadores de infestación de bajo riesgo para la transmisión vectorial. El área urbana de las principales ciudades de la provincia de Salta no registra infestación vectorial (3). El control de la sangre a transfundir, del trasplante de órganos y de la transmisión vectorial se mantiene a través de todo el territorio endémico del país, sin embargo aún necesita mayor atención la transmisión congénita (4).

La seroprevalencia de la Enfermedad de Chagas en mujeres embarazadas en la provincia de Salta es de 8%. Estudios previos reportaron 4 y 9,6% de transmisión materno-fetal en la provincia (5)(6).

Aún cuando la ciudad de Salta se encuentra en etapa de vigilancia, es importante actualizar los datos de prevalencia en la población. Estos pueden cambiar por la afluencia de inmigrantes y principalmente por transmisión congénita. Los nuevos pobladores de la ciudad provienen de zonas rurales altamente endémicas de Argentina y de países limítrofes. Esta población se establece en barrios periféricos de la ciudad y concurre a los Centros de Atención Primaria (CAPS) para su atención médica. El objetivo de este trabajo fue implementar el uso del equipo para recolección de sangre capilar y conservación en glicerina (Serokit) en los servicios de enfermería de los Centros de Atención Primaria de la Salud en la ciudad de Salta a fin de conocer la seroprevalencia de infección por *Trypanosoma cruzi* en pacientes que concurren a los mismos.

## Materiales y Métodos

### ÁREA DE ESTUDIO E INSTITUCIONES

La ciudad de Salta se encuentra ubicada en el noroeste de Argentina y ha sido considerada libre de infestación vectorial por al menos tres décadas.

**CENTROS DE ATENCIÓN PRIMARIA DE LA SALUD**

En la ciudad de Salta, el Sistema de Primer Nivel de Atención está organizado en Centros de Atención Primaria de la Salud (CAPS). Todos ellos realizan tareas de prevención tales como educación para la salud y aplicación de inmunizaciones según el calendario argentino. Al momento de desarrollarse este estudio, julio de 2005 a julio 2007, la ciudad contaba con 58 CAPS, ocho de ellos con laboratorio clínico y unidades de emergencia. Del total de 58 CAPS, 28 fueron seleccionados debido a que no tenían laboratorio y estaban homogéneamente distribuidos a través de la ciudad de Salta. Los CAPS equipados con laboratorio realizan el diagnóstico de la enfermedad de Chagas según pedidos médicos de rutina y el objetivo de este trabajo fue implementar el diagnóstico en CAPS que no contaban con laboratorio.

**SERVICIOS DE ENFERMERÍA**

Cuentan siempre con al menos un enfermero por turno (mañana, tarde y noche), y eventualmente puede haber dos. Sus actividades consisten en aplicar medicamentos y vacunas, toma de peso, talla, presión arterial, control de temperatura corporal y realización de curaciones.

**POBLACIÓN DEL ESTUDIO**

Pacientes que asisten a los Centros de Atención Primaria de la Salud.

**PRESENTACIÓN DEL PROYECTO**

A fin de poner en conocimiento la tarea a desarrollar, se realizó durante dos días un taller con el personal médico y de enfermería de los Centros de Salud participantes. El taller consistió en informar los objetivos y la metodología del proyecto, como así también brindar actualización de los conocimientos acerca del diagnóstico y tratamiento de la Enfermedad de Chagas.

Durante todo el proyecto los investigadores visitaron los servicios de enfermería de todos los Centros de Salud, colaboraron en la toma de muestras con los enfermeros e informaron a los pacientes. Todos los CAPS fueron visitados dos veces por mes, durante la mañana o la tarde.

En el segundo año del proyecto, se observó la necesidad de realizar folletos explicativos acerca de las diferentes formas de transmisión de la Enfermedad de Chagas (Fig. 1). Los folletos ilustraban la historia de un joven deportista quien dudaba si estaba infectado o no por *Trypanosoma cruzi*, motivando al diagnóstico y tratamiento temprano. Los folletos fueron distribuidos y explicados a las

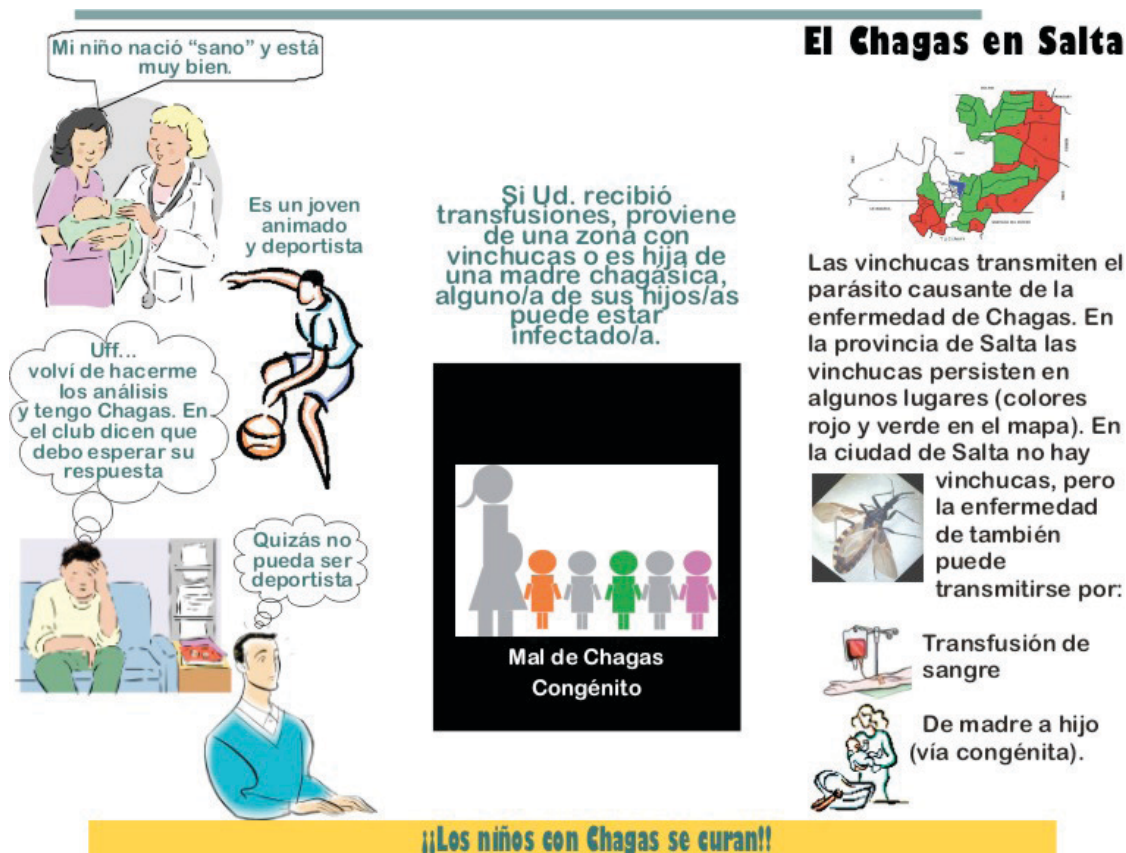


Figura 1.

personas que se encontraban en las salas de espera para incentivar la toma de muestra en los servicios de enfermería. Además, se dejaron folletos en la administración de los CAPS para ser distribuidos a los pacientes.

#### TOMA DE MUESTRA PARA SCREENING

Se distribuyeron en las enfermerías de los Centros de Salud equipos Serokit (Serokit Polichaco, Biotica, Laboratorio Lemos S.R.L, Argentina) y se explicó el uso de los mismos con demostración personalizada a los enfermeros de los distintos turnos. El equipo Serokit es utilizado para la toma de muestras, almacenamiento y conservación de los anticuerpos en sangre entera. Por punción del pulpejo del dedo con una lanceta se obtienen 300 µL de sangre, recolectados en dos capilares calibrados a 150 µL cada uno. La sangre de ambos capilares se vuelca en un recipiente con 500 µL de solución conservadora, lo que permite almacenar la muestra hasta un año.

Los Serokit de cada centro de salud se recolectaron cada quince días, y a cada muestra se le realizó hemaglutinación indirecta (HAI) y enzimoimmunoanálisis (ELISA).

#### TOMA DE MUESTRA PARA CONFIRMACIÓN

Todos los pacientes que resultaron seropositivos con las muestras tomadas con Serokit fueron re-analizados serológicamente mediante HAI y ELISA a partir de muestras tomadas por punción venosa y obtención del suero de la manera usual. Brevemente, la muestra de sangre sin anticoagulante fue incubada a 37 °C durante 30 min. y luego centrifugada a 3500 rpm durante 10 min. El suero obtenido fue guardado a 4 °C hasta el momento de uso.

## Reacciones serológicas

#### SCREENING: EN MUESTRAS ALMACENADAS EN SEROKIT

El suero resultó diluido 1:4 o 1:5 de acuerdo al hematocrito del paciente, debido a que la sangre se mezcló con la solución preservadora. Por lo tanto, las pruebas realizadas con Serokit no son cuantitativas.

#### HEMAGLUTINACIÓN INDIRECTA (HAI)

Teniendo en cuenta las diluciones citadas anteriormente, y para evitar la aglutinación inespecífica se modificaron las cantidades de muestra especificadas por el equipo comercial (Wiener Chagatest-HAI). Se tomaron 50 µL de muestra y mezclaron en 50 µL de solución diluyente de HAI, se tomaron 50 µL de esta dilución y se agregaron a otro pocillo que contenía 50 µL de diluyente. En el primer pocillo se agregaron 50 µL de solución de glóbulos rojos de carnero sin sensibilizar a fin de realizar el control de heterofilia acorde a las especificaciones

del equipo. A este segundo pocillo se agregaron 50 µL de solución de glóbulos rojos de carnero sensibilizadas con antígenos citoplasmáticos y de membrana de *T. cruzi* (7-9). Los anticuerpos anti-*T. cruzi* presentes en el suero producen una aglutinación específica. Esta prueba fue considerada cualitativa y solamente para *screening*.

#### ELISA

El *test* de ELISA está basado en la formación de inmunocomplejos entre antígenos fijados a una microplaca y los anticuerpos existentes en la muestra del paciente (10). En el presente trabajo se utilizó el equipo Wiener Chagatest-ELISA. En las muestras provenientes de Serokit se realizó una dilución 1:4 en lugar de 1:20 como se recomienda en el equipo.

#### ANÁLISIS CONFIRMATORIOS

Para la confirmación de la infección por *T. cruzi* se tomaron muestras de suero por punción venosa a todos los pacientes que dieron positivo en las muestras conservadas en Serokit y a un 10% de pacientes que dieron negativos. Esta selección fue al azar o bien cuando los pacientes las solicitaban porque tenían dudas.

Se realizó HAI siguiendo las especificaciones del equipo comercial (Wiener Chagatest-HAI). Se realizaron diluciones seriadas considerando indicativo de infección títulos mayores o iguales a 1/16.

Se realizó también *test* de ELISA de acuerdo a las especificaciones del equipo (Wiener Chagatest-ELISA).

#### ENCUESTA EPIDEMIOLÓGICA

Se realizó una encuesta epidemiológica a los pacientes adultos que resultaron seropositivos y a los padres o responsables de los niños seropositivos. Las preguntas eran referidas a determinar: lugar de nacimiento, características de la vivienda, viajes a áreas endémicas, recepción de transfusiones como también antecedentes de infección en todos los miembros de la familia.

#### CONSIDERACIONES ÉTICAS

El protocolo de investigación, incluyendo el Consentimiento Informado, fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Nacional de Salta. El consentimiento informado fue brindado a los padres y/o tutores por los enfermeros.

## Resultados

Fueron tomadas 1647 muestras con el equipo Serokit, resultando de éstas 31 muestras positivas. Luego de los análisis confirmatorios el número de pacientes positivos fue de 29. Se calculó el Valor Predictivo Positivo

(VPP) y el Valor Predictivo Negativo (VPN), como también la seroprevalencia (Tabla I).

En los dos pacientes que dieron falsos negativos con muestra conservada en Serokit, en realidad se habían colocado 150 uL (1 capilar) y no los dos (300 µL). Luego se tomó nueva muestra con Serokit y con suero y dieron positivas ambas muestras. Se consideran los datos con las muestras tomadas correctamente el VPN sería 100%.

#### CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN ESTUDIADA

De los 29 pacientes seropositivos, 15 eran menores de 14 años, con una distribución etaria como muestra la Tabla II. De los 14 pacientes adultos sólo dos eran varones.

Se prestó especial atención a la epidemiología de los niños seropositivos. Se analizó a la madre y si ésta resultaba seropositiva, se analizaron los hermanos (11).

## Discusión y Conclusiones

Como se observa en los resultados, los niños diagnosticados en este trabajo tienen altas probabilidades de haber sido infectados por vía congénita, ya que sus madres eran seropositivas y los niños no recibieron transfusiones ni viajaron a zonas de transmisión vectorial. Todos los partos se realizaron en la maternidad pública en la ciudad de Salta, pero estos niños no fueron diagnosticados por el sistema de salud al momento del parto. Los estudios realizados en Argentina, Brasil, Chile, Bolivia y Paraguay reportan que el 60-90% de los recién nacidos infectados son asintomáticos (12-17). Sánchez Negrette *et al.* (11) asoció infección congénita con prematuridad y bajo peso al nacer independientemente de la prematuridad como únicas alarmas de infección, pues eran recién nacidos saludables. Esto también fue observado por Jackson *et al.* (18). Sin embargo, Torrico (19), sugiere que en Bolivia la transmisión congénita

en áreas de alta densidad vectorial se asocia con mayor parasitemia materna lo que conlleva a una enfermedad más severa y a mayor riesgo de mortalidad. No obstante, varios trabajos demuestran que la parasitemia materna como factor de riesgo en la transmisión vertical sigue siendo controversial (20-22).

Debido a que la enfermedad de Chagas tanto en el nacimiento como en la niñez es principalmente asintomática, la familia del niño no concurre a la consulta por esta patología, por lo que hace necesaria una búsqueda activa de los niños. Más aún, el diagnóstico y tratamiento temprano en los niños asegura el 100% de éxito terapéutico con muy pocos efectos adversos por la medicación (23-30), evitando además complicaciones con otras patologías (31).

Todos los niños infectados fueron tratados con Benznidazol según la normativa (32). Solamente una niña de 14 años no pudo terminar el tratamiento debido a reacciones adversas dermatológicas.

Como se mencionó anteriormente, en la ciudad de Salta no se registra infestación vectorial, por lo cual es muy importante continuar con la vigilancia sobre todo en la población pediátrica. El uso de Serokit es más frecuente en las poblaciones rurales donde los agentes sanitarios y/o enfermeros pueden estar más familiarizados con el equipo y aun con la enfermedad de Chagas, en contraste con lo que ocurre en la ciudad de Salta. En trabajos preliminares se realizaron análisis serológicos pareados en muestras de Serokit y en suero obtenido por punción venosa, obteniéndose 96% de concordancia (33)(34). En el presente trabajo, el VPP sería de 93,5% y el VPN sería 99,8% es decir que cuando la prevalencia de la enfermedad es baja, un resultado negativo permite descartar la enfermedad con mayor seguridad (VPN alto). Por el contrario un resultado positivo no permitirá confirmar el diagnóstico (VPP bajo).

Sobre la base de esta experiencia se puede recomendar el uso de equipos Serokit en aquellos CAPS que no cuentan con laboratorio propio, a fin de que los servi-

Tabla I. Valoración de las pruebas serológicas con muestras tomadas en Serokit.

	Seropositivo	Seronegativo	
Prueba Positiva	VP: 29	FP: 2	VPP: 93,5%
Prueba Negativa	FN: 2	VN: 1616	VPN: 99,8%
	Sensibilidad	Especificidad	Prevalencia
	93,5%	99,8%	1,7%

VP: verdaderos positivos; FP: falsos positivos; FN: falsos negativos; VN: verdaderos negativos.

Tabla II. Distribución etaria de los pacientes.

	0-1 año	2-5 años	6-14 años	>14 años
Pacientes	918	359	288	82
Seropositivos	7	1	7	14
% positivos	0,76	0,27	2,43	17

cios de enfermería tomen las muestras de sangre para el diagnóstico de la enfermedad de Chagas. Esta tarea permitirá el diagnóstico precoz en los niños y el inicio del tratamiento.

#### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen especialmente al médico Diego Lacunza por su valiosa participación en el último año del proyecto. Todos los enfermeros y agentes sanitarios de los CAPS participantes, números: 3,7, 8, 9,10, 11, 14, 17, 18, 28,29, 31, 36, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 48, 51, 52, 54, 55, 56, 57, 58, 59.

Esta investigación fue parcialmente solventada por subsidio de la Organización Mundial de la Salud (OMS), Special Programme PNUD/World Bank/WHO of Research and Teaching on Tropical Diseases (TDR).

#### CORRESPONDENCIA

DRA. OLGA SÁNCHEZ NEGRETTE

Primer Nivel de Atención. Ministerio de Salud Pública de Salta Centro de Salud N° 63. "De la madre, el niño y el adolescente" Avenida Sarmiento 655, (4400) SALTA, Argentina.

*E-mail:* olgasanette@yahoo.com.ar

## Referencias bibliográficas

- Schofield CJ, Jannin J, Salvatella R. The future of Chagas disease control. *Trends Parasitol* 2006; 22: 583-8.
- Organización Panamericana de la Salud. Estimación cuantitativa de la enfermedad de Chagas en las Américas. OMS 2006. Montevideo, Uruguay. OPS/HAM/CD 425-06.
- Zaidenberg M, Spillmann C, Carrizo-Paz R. Control de Chagas en la Argentina. Su evolución. *Rev Argent Cardiol* 2004; 72: 375-80.
- Schmunis G. Epidemiology of Chagas disease in non endemic countries: the role of international migration. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2007; 102 (2): 75-85.
- Mora MC, Sánchez Negrette O, Marco D, Barrio A, Ciaccio M, Segura MA, *et al.* Early diagnosis of congenital *Trypanosoma cruzi* infection using PCR, hemoculture and capillary concentration, as compared to delayed serology. *J Parasitol* 2005; 91 (6): 1468-73.
- Zaidenberg M. La enfermedad de Chagas congénita en la Provincia de Salta, Argentina, años 1980-1997. *Rev Soc Bras Med Trop* 1999; 32 (6): 689-95.
- Boyden SV. The adsorption of proteins on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J Exp Med* 1951; 93: 107-20.
- Konishi E. Naturally occurring antibodies that react with protozoan parasites. *Parasitol Today* 1993; 9 (10): 361-4.
- Sánchez Negrette O, Sánchez Valdez FJ, Lacunza CD, García Bustos MF, Uncos AD, Basombrío MA. Serological evaluation of specif-antibody levels in patients treated for chronic Chagas' disease. *Clin Vaccine Immunol (CVI)* 2008; 2: 297-302.
- Gariglio R, Felcaro MV, Toplikar EM, Capriotti GA. Método de diagnóstico de la Enfermedad de Chagas mediante enzoinmunoensayo con proteínas recombinantes. *Boletín del Servicio Bibliográfico de Wiener Laboratorios SAIC* 2000; 111: 1-2
- Sánchez Negrette O, Mora MC, Basombrío MA. High prevalence of congenital *Trypanosoma cruzi* infections and family clustering in Salta, Argentina. *Pediatrics* 2005; 115 (6): 668-72.
- Carlier Y, Torrico F. Congenital infection with *T. cruzi* from mechanisms of transmissions to strategies for diagnosis and control. *Rev Soc Bras Med Trop* 2003; 36 (6): 767-71.
- Freilij H, Altchech J. Congenital Chagas' Disease: diagnostic and clinical aspects. *Clin Infect Dis* 1995; 21: 551-5.
- Valperga SM, Castagnaro AE, Ovejero de Valperga GO, Mirabella de Miotti MG, Arnau Enrico SC, Alonso BE, *et al.* Prevalencia de Chagas congénito. Segundo estudio en Tucumán, Argentina. *Ciencia Médica* 1992; 7 (3): 137-55.
- Salas NA, Cot M, Schneider D, Mendoza B, Santalla JA, Postigo J, *et al.* Risk factors and consequences of congenital Chagas' disease in Yacuiba, South Bolivia. *Trop Med Int Health* 2007; 12(12): 1498-505.
- Blanco SB, Segura EL, Cura EN, Chuit R, Tulián L, Flores I, *et al.* Congenital transmission of *Trypanosoma cruzi*: an operational outline for detecting and Trading infected infants in north-western Argentina. *Trop Med Int Health* 2000; 5 (4): 293-301.
- Russomando G, Almirón 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.
- Jackson Y, Catherine M, Alessandro D, Hans-Peter M, Hanswolff F, Chappuis LL. Congenital transmission of Chagas disease in Latin American Inmigrants in Switzerland. *Emerging Infect Dis* 2009 (4): 601-3.
- Torrico F, Alonso Vega C, Suárez E, Tellez T, Brutus L, Rodríguez P. Are maternal re-infections with *Trypanosoma cruzi* associated with higher morbidity and mortality of congenital Chagas' disease? *Trop Med Int Health* 2006; 11 (5): 628-35.
- Cañete P, Araneda G, Astudillo G, Alegría F, Rodríguez J, Zulantay I. Parasitemia materna en el estudio de la transmisión vertical de la Enfermedad de Chagas. En: Simposio Internacional Centenario de la Enfermedad de Chagas (1909-2009) XII Jornadas Anuales 27-28 Noviembre 2009. Sochipa. Sociedad Chilena de Parasitología. Fac. de Medicina. Universidad Católica del Norte.
- Duaso J, Yanez E, Castillo C, Galanti N, Cabrera G, Corral G. Reorganization of extracellular matrix in placentas from women with asymptomatic Chagas' Disease: Mechanism of Parasite Invasion or Local Placenta-

- tal Defense? J Trop Med 2012. (disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3189612/pdf/JTM2012-758357.pdf>). (Fecha de acceso: 05 de enero de 2013).
22. Moretti E, Basso B, Castro I, Carrizo Paez M, Chaul M, Barbieri G, *et al.* Chagas' disease: study of congenital transmission in cases of acute maternal infection. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38 (1): 53-5.
  23. Russomando G, Tomassone MMC de, de Guillen I, Acosta N, Almiron M, Candia N. Treatment of congenital Chagas' disease diagnosed and followed up by the polymerase chain reaction. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59 (3): 487-91.
  24. Moya P, Basso B, Moretti E. Enfermedad de Chagas congénita. Aspectos epidemiológicos, clínicos, diagnósticos y terapéuticos. Experiencia de 30 años de seguimiento. *Rev Soc Bras Med Trop* 2005; 38 (Suppl 11): 33-40.
  25. Solari A, Ortiz S, Soto A, Arancibia C, Campillay R, Contreras M, *et al.* Treatment of *Trypanosoma cruzi* infected children with nifurtimox: a 3 years follow-up by PCR. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48: 515-19.
  26. Sosa Estani S, Colantonio L, Segura EL. Therapy of Chagas' Disease implications for levels of Prevention. *J Trop Med* 2012 (Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3317183/pdf/JTM2012-292138.pdf>). (Fecha de acceso: 08 de enero de 2013).
  27. Britto C, Silveira C, Cardozo MA, Marques P, Luquetti A, Macedo V. Parasite persistent in treated chagasic patient revealed by xenodiagnosis and polymerase chain reaction. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2001; 96 (6): 823-6.
  28. Silveira JF, Umezawa ES, Luquetti AO. Chagas disease: recombinant *Trypanosoma cruzi* antigens for serological diagnosis. *Trends in Parasitology* 2001; 17 (6): 286-91.
  29. Sosa Estani S, Segura E. Tratamiento de la infección por *T. cruzi* en fase indeterminada. Experiencia y normatización actual en Argentina. *Medicina (Buenos Aires)* 1999; 59 (1): 166-70.
  30. Streiger ML, del Barco ML, Fabbro DL, Arias ED, Amicone NA. Estudio longitudinal e quimioterapia específica em crianças, com doença de Chagas crônica, residente em área de baixa endemicidade da República Argentina. *Rev Soc Bras Med Trop* 2004; 37 (5): 365-75.
  31. Cohen V, Ceballos V, Rodríguez N, González C, Marciano B, Dackiewicz N, *et al.* Enfermedad de Chagas como causa de masa cerebral ocupante en paciente con leucemia linfoblástica en remisión. *Arch Argent Pediatr* 2010; 108 (6): e 134-e137/e134
  32. MS y AN Ministerio de Salud y Ambiente de la Nación. República Argentina. Manual para la atención del paciente infectado con *T. cruzi*. 2005.
  33. Pérez AC, Cura E, Subías E, Lansetti JC, Segura EL. Long-term preservation of blood samples for diagnosis of *Trypanosoma cruzi* infection. *Trop Med Parasit* 1990; 41: 75-6.
  34. Biancardi MA, Conca Moreno M, Torres N, Pepe C, Altchek J, Freilij H. Seroprevalencia de la Enfermedad de Chagas en 17 parajes del "Monte Impenetrable" de la Provincia del Chaco. *Medicina (Buenos Aires)* 2003; 63: 125-9.

**Aceptado para su publicación el 16 de agosto de 2013**